

**PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS
EM DOADORES DE DIFERENTES BANCOS DE SANGUE DE GOIÂNIA E
ANÁPOLIS**

Poliana Peres GHAZALE¹; Karina Pereira GOMES²; Paula Rodrigues VITORINO²; Arthur
Mendes BATAUS³; Robério PONDE⁴; Ellen Synthia FERNANDES-OLIVEIRA³.

Universidade Federal de Goiás – Instituto de Ciências Biológicas

¹poliana_pghazale@hotmail.com

Palavras-chave: hemoglobinopatias, prevalência, doadores de sangue.

1. INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias são um conjunto de doenças ocasionadas por defeitos em uma proteína chamada hemoglobina. A hemoglobina é uma proteína composta por quatro cadeias polipeptídicas. Em cada uma dessas cadeias possui um grupo prostético, o que a torna uma proteína conjugada. No organismo humano, encontram-se três principais tipos de hemoglobinas: Hb A, que é formada por duas cadeias alfa e duas beta; Hb A2 é formada por duas cadeias alfa e duas delta e Hb F, presente durante a vida intra-uterina é composta por duas cadeias alfa e duas gama. A Hb S é devido a uma mutação na posição 6 no gene da globina beta, onde o ácido glutâmico é substituído por uma valina(NAOUM,1997).

Dentro da população humana são conhecidas cerca de 500 variantes genéticas da hemoglobina. As doenças falciformes são causadas por defeitos não só nos genes responsáveis pela sequência e estrutura da cadeia polipeptídica da globina, como também nos responsáveis pela regulação quantitativa da síntese equilibrada entre as globinas alfa e beta. A modificação da sequência de aminoácidos dentro da cadeia peptídica é responsável pela Anemia Falciforme. Nesse caso há a falcização da hemácia (aparência em forma de foice), causada pelas fibras insolúveis da hemoglobina S desoxigenada, o que torna as células mais frágeis, fazendo com que se rompam facilmente. Já a ausência de cadeia alfa ou beta na estrutura da hemoglobina causa as Talassemias alfa e beta, respectivamente. (NELSON, 2002).

¹ Estudante PIVIC. Relatório revisado pela orientadora Profa. Dra. Ellen Synthia Fernandes de Oliveira. Projeto de pesquisa cadastrado no SAAP Nº 34783.

² Acadêmicos de Biomedicina, Instituto de Ciências Biológicas; ³Docentes do Instituto de Ciências Biológicas; ⁴Central Goiana de Sorologia.

Devido ao alto índice de miscigenação no Brasil, a dispersão dos genes para as hemoglobinas variantes e para talassemias também é alta. Isso significa que o fato de vários povos de diferentes etnias terem imigrado para o país resulta numa maior prevalência dessas doenças genéticas. (NAOUM, 1982b; VIANA-BARACIOLI *et al.*, 2001). A análise de prevalência está relacionada com os processos históricos de formação étnica da população. A formação do povo goiano começou em 1726. A princípio vieram os portugueses e os escravos africanos, favorecendo a mestiçagem entre eles. Posteriormente pessoas de Minas Gerais, Pará, Maranhão, Bahia, São Paulo e também da Itália, Alemanha, Espanha, Líbano, Síria entre outros também migraram para o Estado (CHAUL, 2002; PALACIN, 2001). Mostra-se, portanto, que a formação étnica de Goiás é bastante variada, fazendo com que haja uma grande dispersão gênica, incluindo as alterações nas hemoglobinas.

Desde 1976, recomenda-se a inclusão da testagem de hemoglobinas no protocolo de exames para a doação de sangue no Brasil. Nessa época, foi sugerido que a investigação de hemoglobinas anômalas começasse a ser realizada nos serviços brasileiros de hemoterapia, sendo um procedimento duplamente útil, beneficiando simultaneamente o doador e o receptor de sangue. Enquanto que o receptor estaria sendo protegido do recebimento de hemácias anômalas, o doador, se identificado como portador do traço ou anemia falciforme, poderia ser devidamente orientado sobre a sua condição (RAMALHO, 1976).

A importância de se estudar a prevalência de hemoglobinopatias em doadores de sangue em Goiás se deve ao fato de além de ser um assunto de grande relevância para a Saúde Pública, um melhor entendimento da atual situação desses doadores de sangue, torna-se essencial; visto que há uma necessidade em garantir que o hemocomponente a ser transfundido seja da melhor qualidade possível; evitando assim riscos para o doador e para o receptor. O diagnóstico tardio da doença pode levar a problemas econômicos e sociais, como falta de oportunidades profissionais para o portador. Além disso, quando se tem o diagnóstico precoce, é possível que se faça um aconselhamento genético, possibilitando casais saberem se há ou não o risco de gerar uma criança com a doença (SILVA *et al.*, 1993). O aconselhamento genético pode ajudar a reduzir a incidência das hemoglobinopatias (ZAGO, 2002). Destaca-se, também, a relevância da triagem neonatal de heterozigotos assintomáticos, já que esses indivíduos, diagnosticados em grande quantidade, correm risco de serem rotulados erroneamente como doentes (RAMALHO *et al.*, 2003).

2. OBJETIVOS

Fazer um levantamento de hemoglobinopatias em doadores de sangue no Estado

de Goiás em amostras de diferentes Bancos de Sangue vinculados a Central Goiana de Sorologia.

3. METODOLOGIA

3.1. Período do Estudo

Obteve-se amostras de indivíduos que doaram sangue no período entre janeiro de 2010 e novembro de 2010. Todos os dados dos doadores como data da coleta, nº de protocolo do Banco de Sangue, sexo, idade e naturalidade foram registrados para posterior análise. Neste período as amostras foram submetidas a técnicas clássicas e de Isoeletrofocalização (IEF) para confirmação do perfil hemoglobínico.

3.2. Coleta de dados

Foram analisadas 367 amostras de sangue de doadores de sangue no período de janeiro a agosto de 2010, provenientes de 4 bancos de sangue de Goiânia e Anápolis vinculados à Central Goiana de Sorologia. Essas foram encaminhadas ao Laboratório de Estudos Morfológicos (LABEM) e Laboratório de Engenharia Genética (LEG) do ICB/UFG para registros de dados: banco de sangue, idade, sexo e naturalidade.

3.3. Metodologia

Os procedimentos de identificação e testes de triagem, como: resistência globular osmótica em NaCl a 0,36% (SILVESTRONI, 1975), morfologia eritrocitária (BONINI-DOMINGOS, 1993), eletroforese em acetato de celulose pH alcalino (MARENCO-ROWE, 1965), os quais permitem a identificação de hemoglobinas normais e anormais, foram realizados pela central Goiana de Sorologia. Para confirmação da presença do perfil Hb S dos doadores foi realizado novamente no LABEM a técnica de eletroforese em acetato de celulose com pH alcalino (NAOUN, 1997,1982) e posteriormente a IEF, técnica que ainda vem sendo testada pela equipe do LABEM para estabelecimento de protocolo para outras variantes de hemoglobinas além da Hb S. Utilizou-se uma amostra denominada padrão, de um indivíduo com perfil hemoglobínico normal, como marcador nas corridas eletroforéticas das duas técnicas realizadas nesse trabalho.

3.4. Análise dos Dados

Os dados dos doadores de sangue com perfil Hb S, como idade, sexo e naturalidade foram transferidos para o Microsoft Office Excel 2010 e posteriormente, analisados.

3.5. Aspectos Éticos

O presente estudo faz parte de uma linha de pesquisa vinculada a rede de Hemoglobinopatias da FAPEG e está de acordo com as normas da Resolução no 196/98 do Conselho Nacional de Saúde e tiveram a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa na UFG/Nº 065/2005.

4. RESULTADOS

4.1 Confirmação do perfil HbS

Foram confirmadas o perfil HbS pela técnica de eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino em 367 amostras.

As Figuras abaixo representam os resultados obtidos no processo de confirmação do perfil hemoglobínico.

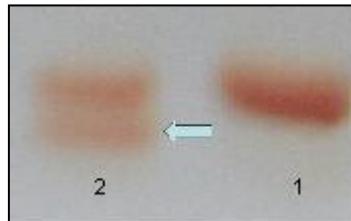


Figura 01 –Eletroforese em acetato de celulose pH alcalino.

Na Figura 01 há as linhas 1 e 2 são referentes a duas amostras de sangue. A linha 1 é representa o marcador, ou seja, não há presença de traço hemoglobínico, observa-se separou-se apenas uma banda. A linha 2 é de um indivíduo com perfil Hb S. A seta indica a banda em que há a variação da hemoglobina. Sendo assim, a técnica de eletroforese em acetato de celulose pH alcalino permite a visualização de variações que ocorrem na hemoglobina, separando o hemolisado em bandas. A partir dessa técnica é observa-se o perfil hemoglobínico do indivíduo.

A técnica de Isoeletrofocalização (IEF) vem sendo testada para, posteriormente, ser protocolada. Na Figura 02 observa-se os resultados obtidos até então por meio dessa técnica.

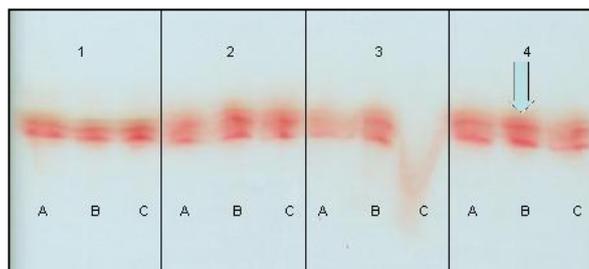


Figura 02 - Isoeletrofocalização (IEF)

Observa-se na Figura 02 o perfil hemoglobínico de quatro amostras de sangue (linhas 1, 2, 3 e 4). A linha 1 é o padrão (marcador). As linhas 2, 3 e 4 são de amostras de sangue de doadores com perfil Hb S. Nota-se novamente a diferença em relação à posição e número de bandas em relação as amostras com e sem variação hemoglobínica. Na linha 4 a seta representa um dos hemolisados que indica a posição de uma hemoglobina variante, quando avaliada com a técnica de IEF.

4.2 Naturalidade dos doadores com perfil HbS

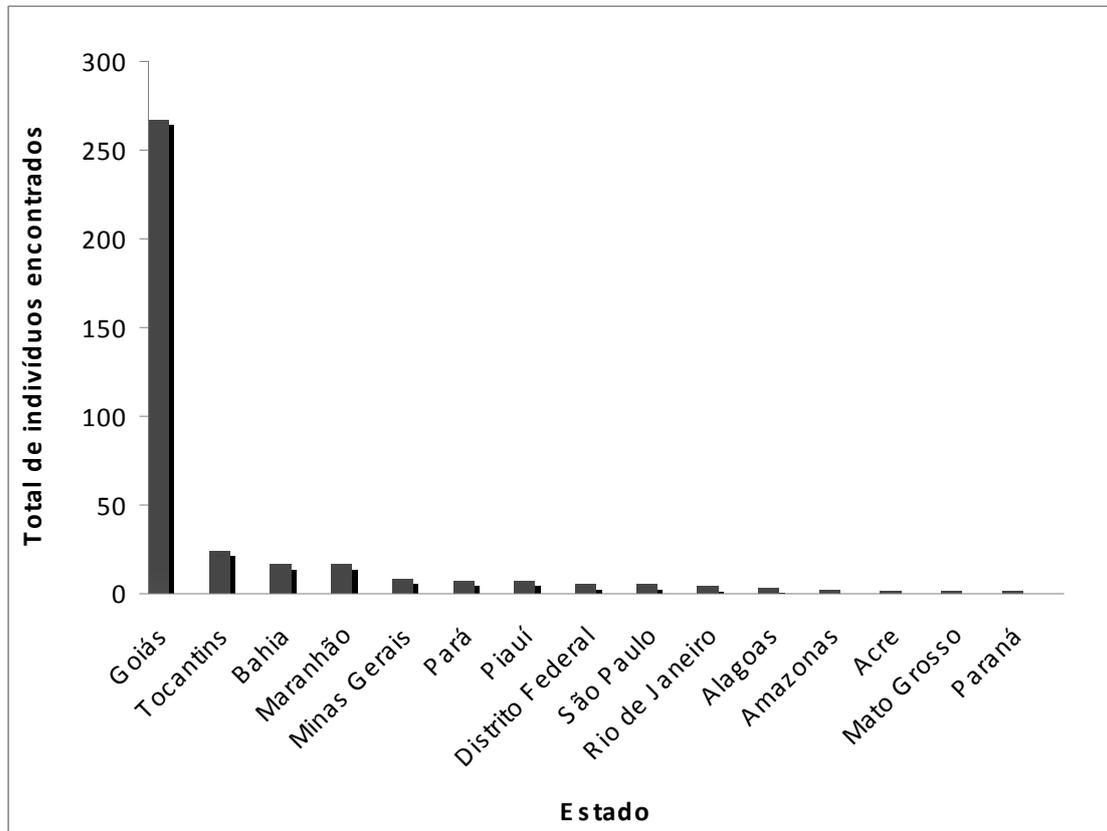
Os resultados de acordo com a naturalidade dos doadores com perfil Hb S podem ser observados na Tabela 01.

Tabela 01 – Naturalidade dos doadores de sangue com perfil HbS de diferentes bancos de sangue de Goiânia e Anápolis.

Estado	Total de Indivíduos
Goiás	267
Tocantins	24
Bahia	16
Maranhão	16
Minas Gerais	8
Pará	7
Piauí	7
Distrito Federal	5
São Paulo	5
Rio de Janeiro	4
Alagoas	3
Amazonas	2
Acre	1
Mato Grosso	1
Paraná	1
TOTAL	367

Nota-se que 72,75% dos indivíduos analisados são naturais do Estado de Goiás. Os 26,98% restantes se dividem entre 13 estados brasileiros e o Distrito Federal. Apenas 3 doadores (0,81%) são naturais do Acre, Mato Grosso e Paraná (um doador de cada Estado). Os esses resultados são observados no Gráfico 01.

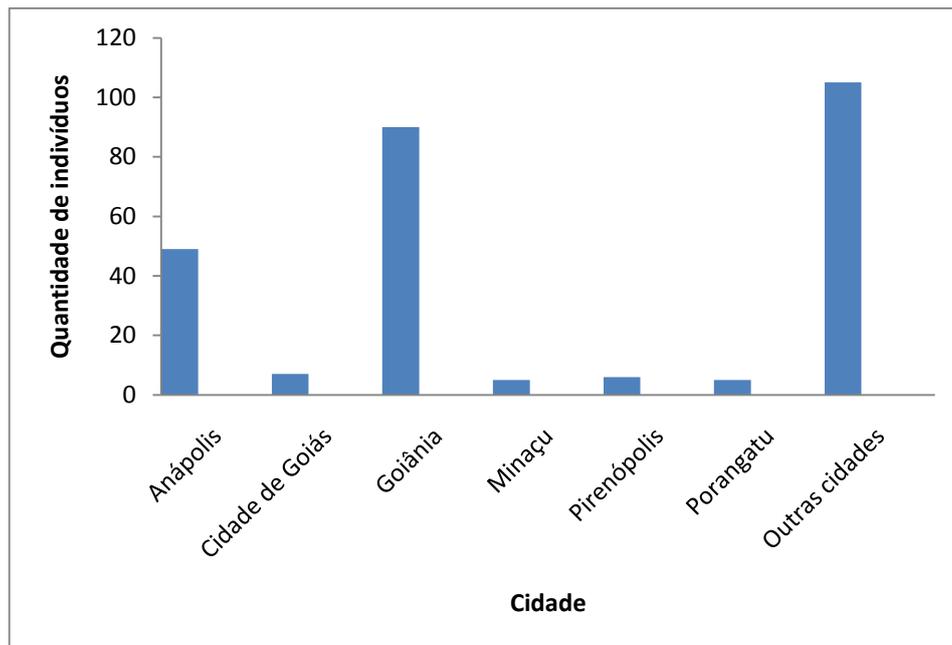
Gráfico 01 - Naturalidade dos doadores de sangue com perfil Hb S de diferentes bancos de sangue de Goiânia e Anápolis.



Foi analisado o município de origem dos doadores de Goiás. Dos indivíduos naturais de Goiás, 90 (33,7%) nasceram na cidade de Goiânia, 49 (18,35%) em Anápolis, 7 (2,62%) na Cidade de Goiás, 6 (2,24%) em Pirenópolis, 5 (1,87%) em Minaçu e 5 (1,87%) em Porangatu. Os 105 (23,97%) restantes se dividiram em 64 outras cidades.

Os resultados encontram-se no Gráfico 02.

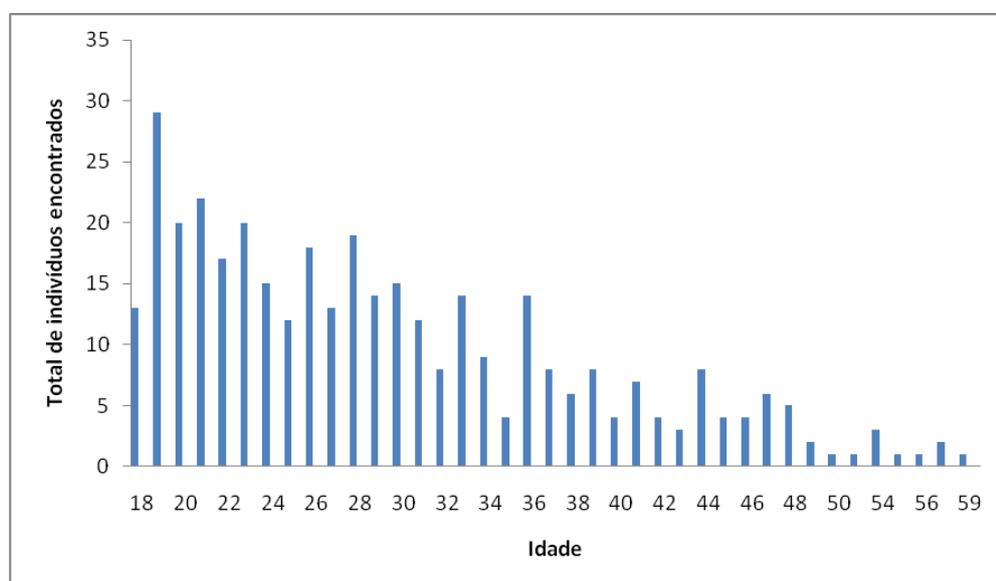
Gráfico 02 – Distribuição dos doadores por Municípios Goiás.



4. 3. Media etária dos doadores com perfil Hb S

A análise do perfil Hb S dos doadores de sangue de acordo faixa etária são observados no Gráfico 03. A média etária dos doadores foi de 19 anos representando 10,86%.

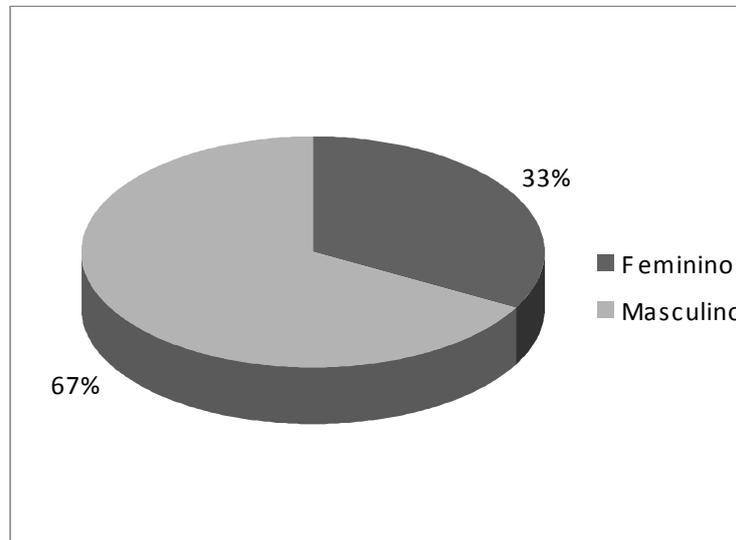
Gráfico 03 - Prevalência de indivíduos com perfil Hb S no estado de Goiás, analisados de acordo a faixa etária.



4.4. Perfil Hb S dos doadores de sangue de acordo com o sexo.

Nessa análise observa-se que a grande maioria pertence ao sexo masculino como observado no Gráfico 04.

Gráfico 04 - Prevalência de indivíduos com perfil Hb S no estado de Goiás, analisados de acordo com o sexo.



Dos 367 casos, apenas 121 (33%) são do sexo feminino, ao passo que os 246 (67%) restantes são do sexo masculino.

5. DISCUSSÃO

O estudo do perfil hemoglobínico dos doadores de 4 bancos de sangue de Goiânia e Anápolis fez um levantamento desses doadores utilizando uma técnica clássica, como a eletroforese alcalina em acetato de celulose, associada com a IEF, uma técnica simples, com poder de resolução próximo das melhores técnicas cromatográficas, que necessita de uma mínima quantidade de glóbulos vermelhos ou de hemolisado, sendo que, no caso do estudo das hemoglobinas, a coloração é desnecessária, sendo substituída por fixação com ácido tricloroacético (BASSET *et al*, 1978; MOREIRA *et al*, 1999). Informações de acordo com os registros dos Bancos de sangue como sexo, a idade e a naturalidade também foram mostrados.

A eletroforese alcalina em acetato de celulose é uma metodologia importante na triagem das hemoglobinopatias, já que permite diferenciar entre anemias carenciais e hereditárias. MELO-REIS *et al*, (2004) realizou o estudo de prevalência de

hemoglobinopatias e talassemias em alunos da Universidade Católica de Goiás, encontrando 8,2% de talassemia alfa naquela população. Em Goiás, estudos sobre a prevalência de talassemias têm sido realizados por meio de metodologias diagnósticas não moleculares e também por meio de técnicas refinadas moleculares (PENNA, 2009).

Nesse estudo, de acordo com a naturalidade, foi encontrado maior número de indivíduos oriundos do estado de Goiás do que dos demais estados brasileiros, sendo que esse número constitui mais da metade de todos os indivíduos analisados (73%). Isso decorre do fato de que as amostras analisadas vieram de diferentes bancos de sangue localizados em Goiás. Estados como Mato Grosso, Acre e Paraná são os encontrados com menos frequência (somente um doador, cada um). Os estados de São Paulo, Maranhão, Minas Gerais e Pará foram encontrados com uma frequência relativamente alta, o que condiz com o processo histórico de ocupação de Goiás. De acordo com relatos de VIANA- BARACIOLI *et al* (2001); NAOUM *et al* (1986) e BEIGUELMAN (1995) a prevalência das hemoglobinopatias na população varia de uma região brasileira para outra, pois está intimamente ligada ao processo de formação étnica. Devido às necessidades de povoamento, vários povos de diferentes etnias migraram para o Brasil, o que ocasionou uma grande miscigenação da população, fato que certamente influenciou a prevalência de hemoglobinas variantes nas diversas regiões do país. Da mesma forma, a formação do povo goiano também teve a contribuição de diferentes etnias, discutido anteriormente, onde diz que houve uma maior migração de pessoas desses Estados.

A Portaria nº 1.353, estabelece o novo Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos, com novos critérios para a doação de sangue no Brasil. A nova legislação estabelece diretrizes voltadas ao aumento da segurança para quem doa e recebe sangue no país e inova ao ampliar a faixa etária para candidatos à doação. Com as medidas, a previsão do Ministério da Saúde é que aproximadamente 14 milhões de brasileiros sejam incentivados a serem doadores em potencial. Faixa atinge jovens entre 16 e 17 anos (mediante autorização dos pais ou responsáveis) e ampliação para idosos com até 68 anos. Foram analisados no presente estudo doadores entre 18 e 60 anos de idade, portando indivíduos com menos de 18 anos e mais de 60 não estão inclusos por critério estabelecido. Indivíduos com 19, 20, 21 e 23 anos de idade foram os que mais apresentaram o perfil Hb S. Estes, juntos, somaram 24,79% de todos os indivíduos analisados. Doadores com mais de 50 anos de idade foram encontrados com uma frequência muito baixa. Há um maior número de doadores com faixa etária jovem, assim dessa forma, o incentivo estabelecido pela nova legislação ampliará esse número de doadores. O fato é que provavelmente pacientes na faixa etária dos 50 a 60 anos já tinham

conhecimento da existência do perfil hemoglobínico, enquanto que pacientes na média etária jovem ainda não tenham o mesmo conhecimento, por esse motivo, são doadores. A portaria 822/01 do Ministério da Saúde incluindo, as hemoglobinopatias, no Programa Nacional de Triagem Neonatal foi estabelecida no ano de 2001 (RAMALHO *ET AL*, 2003). Isso significa que o exame para detecção de hemoglobinas anômalas logo na triagem neonatal pode ter sido um fato importante nesse aspecto da faixa etária.

No estudo relacionado aos municípios de origem dos doadores do Estado de Goiás observou-se que a maioria são nascidos em Goiânia e em Anápolis, isso em decorrência da localização dos bancos de sangue. Além disso, essas são as principais cidades alvos de imigrantes do Líbano, Síria, Itália e Alemanha, países nos quais há uma grande prevalência do traço para doença falciforme, como já discutido anteriormente.

Indivíduos do sexo masculino é a maioria entre os doadores analisados nesse estudo, perfazendo um total de 67%. Além do fato de constatar que os homens são maioria como doadores nos bancos de sangue, existe a questão que as mulheres costumam se preocupar mais com a saúde, e procuram o serviço médico com mais frequência o que provavelmente tenham o conhecimento mais precoce da existência de variações hemoglobínicas (GIACOMINI & FILHO, 2010).

6. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesse trabalho indicam que homens, naturais de Goiás e entre 20 e 30 anos foram os mais encontrados com perfil HbAS num estudo de prevalência de hemoglobinopatias em doadores de sangue do estado de Goiás, Brasil.

O fortalecimento dessa rede de pesquisa será muito importante para estabelecer um conhecimento científico da prevalência de hemoglobinopatias no Estado de Goiás. A população goiana apresenta uma base genética bastante larga, visto que é formada por imigrantes de vários estados, por tribos indígenas encontradas apenas nessa região do território nacional, bem como de comunidades descendentes de quilombos. Outra importante contribuição será a formação de pessoal técnico capacitado a trabalhar com hemoglobinopatias. Atualmente, fazendo parte da rede Goiana de Hemoglobinopatias, temos 03 estudantes de iniciação científica (PIBIC), um aluno de mestrado e uma tese de doutorado defendida, todos trabalhando no desenvolvimento desse projeto. Além de otimizar técnicas clássicas de detecção, pretende-se introduzir novas metodologias que permitirão estudar e caracterizar de forma mais eficiente as hemoglobinopatias. O levantamento de

hemoglobinopatias em amostras de doadores será um grande passo para registros no nosso estado dessa importante patologia. Além da otimização da técnica de separação eletroforética das hemoglobinas, desenvolvendo novos tampões que permitam identificar as hemoglobinas que não são, até o momento, separadas por esta técnica, contribuindo para uma melhor triagem das amostras em laboratórios de pequeno porte que não possuem equipamentos e/ou técnicas sofisticadas de diagnóstico.

7. AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração dos bancos de sangue, bem como ao Diretor da Central Goiana de Sorologia, que disponibilizaram as amostras de sangue para a pesquisa. Também, nossos agradecimentos aos doadores de sangue envolvidos no estudo.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

BASSET, P.; BRACONNIE R. F.; ROSA, J. An update on electrophoretic and chromatographic methods in the diagnosis of hemoglobinopathies. **J Chromatogr**, v 227, p 267-304, 1982.

BEIGUELMAN, B. Dinâmica dos Genes nas Famílias e nas Populações. 2^a Ed. **Sociedade Brasileira de Genética**. São Paulo, p 460, 1995.

BONINI-DOMINGOS, C. R. *et al.* Interação entre HbC [beta6(A3) Glu>Lys] e IVS II-654 (C>T) beta-talassemia no Brasil. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** v.25, n.2, p.115-121, 2003.

CHAUL, N.F. Da construção da decadência aos limites da modernidade. 2. ed. Goiânia: **Editora da Universidade Federal de Goiás**, p 253, 2002.

GIACOMINI, L., FILHO, W. D. L. Estratégias para fidelização de doadores de sangue voluntários e habituais. **Acta Paul Enferm**, p 2365-72, 2010.

MARENGO-ROWE, A. J. Rapid electrophoresis and quantification of haemoglobin on cellulose acetate. **J. Clin. Path**, v.18, p.790-792, 1965.

MELO-REIS, P.R. *et al.* Prevalência de hemoglobinopatias e talassemias em alunos de Biomedicina da UCG. **Estudos**, Goiânia, v. 31, p. 125-133, 2004.

NAOUM, P.C. Eletroforese, Técnicas e Diagnósticos. **Editora Santos**. São Paulo, SP. 1999.

NAOUM, P.C. Hemoglobinopatias e Talassemias. **Sarvier Ed. Livros Médicos**. São Paulo, SP. 1997.

NAOUM, P. C. Hemoglobinopatias no estado de São Paulo. Métodos de estudos, prevalência, distribuição geográfica e relações históricas e antropológicas. 1982. Tese de livre-docência – Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto. 1982.

NELSON D. L., COX M. M. Traduzido por SIMÕES A. A., LODI W. R. N. Lehninger Princípios de Bioquímica. 3ª Ed. **Editora Sarvier**. São Paulo – SP. 2002.

PALACIN, L.; MORAES, M. A. S. História de Goiás. 6. ed. Goiânia: **Editora da Universidade Federal de Goiás**, p. 124 2001.

PENNA, K. G. B. D. Detecção e caracterização molecular de Talassemia alfa. 2009. 147 f. Tese (doutorado). Universidade Federal de Goiás, Goiás. 2009.

RAMALHO, A. S.; MAGNA, L. A.; PAIVA e SILVA, R. B. A Portaria no 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. **Cad. Saúde Pública**. v.19, n.4, p.1195-1199, 2003.

SILVA, R. B. P., RAMALHO A. S., CASSORIA R.M.S. A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil. *Revista Saúde Pública*, v. 27, n. 1, p. 54-58, 1993.

SILVESTRONI, E.; BIANCO, I. Screening for Microcytemia in Italy: analysis of collected in the past 30 years. **Am. J. Hum. Genet**, v.27, p.198-212, 1975.

VIANA-BARACIOLI, L. M. S., BONINI-DOMINGUES C. R., PAGLIUSI R. A., NAOUM, P. C. Prevenção de hemoglobinopatias a partir do estudo em gestantes. **Rev. bras. hematol. hemoter.**, v 23, n 1, p 31-39, 2001.

ZAGO, M. A. Considerações gerais sobre as doenças falciformes. **Manual de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Falciformes (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, org.)**, p. 9-11, Brasília: Ministério da Saúde. 2002.

FONTE FINANCIADORA: FAPEG
