

«Prevalência das Hemoglobinopatias em
Amostras de Bancos de Sangue e
Escolares do Triângulo Mineiro.»

Silma Maria Alves de Melo

São José do Rio Preto

1993



ruce



1910000629

A standard 1D barcode with vertical black bars of varying widths on a white background.

"PREVALÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS EM AMOSTRAS DE BANCOS
DE SANGUE E ESCOLARES DO TRIÂNGULO MINEIRO"

Silma Maria Alves de Melo

*Dissertação apresentada para a
obtenção do grau de Mestre em
Ciências no Curso de Pós-Gradua
ção em Ciências Biológicas, Área
de Concentração em Genética,
do Instituto de Biociências,
Letras e Ciências Exatas da
Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho"-UNESP*



629/94

São José do Rio Preto

1993

*Este trabalho foi realizado no Laboratório
de Centro de Referência de Hematologia - Departamento
de Biologia do Instituto de Biologia, Letras e
Ciências Exatas de São José do Rio Preto, Universidade
Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" e nos
Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Escola
da Universidade Federal de São Carlos, com auxílio
do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e
Tecnológico (CNPq).*

ORIENTADOR: Prof. Dr. Paulo César Naoum
Professor Titular do Departamento
de Biologia da Universidade
Estadual Paulista, Campus
de São José do Rio Preto-SP.

Este trabalho foi realizado no Laboratório do Centro de Referência de Hemoglobinas - Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" e nos Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Escola da Universidade Federal de Uberlândia-MG., com auxílio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Dedico este trabalho

Ao meu pai, Durval, à Neuza, à minha irmã, Sueli, ao meu cunhado, Fernando, exemplos de dedicação, amor e carinho.

À minha mãe, Diolina, que mesmo distante manteve-se sempre ao meu lado, lutando comigo.

Aos meus queridos sobrinhos, Felipe e Vinícius, mais do que a esperança, a certeza.

Ao Roberto pelo carinho e incentivo.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo César Naoum pela amiza
de e apoio, sempre presentes, na orientação deste trabalho de
grande importância social.

"O importante não é o que fizeram de mim, mas o que
eu fiz do que fizeram de mim".

Jean-Paul Sartre

AGRADECIMENTOS

Aos Profs. Drs. Firmino Alvares Filho e Mário Antônio Spanó, pelas valiosas sugestões durante a avaliação da Proforma.

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Regina Bonini Domingos, grande amiga e incentivadora.

Aos Professores do Departamento de Biologia do IBILCE-UNESP, pelos ensinamentos.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação e funcionários do IBILCE, pela convivência e amizade.

À Prof^a. Adriana Barbosa dos Santos pela assessoria estatística.

Ao meu amigo e cunhado, Fernando de Souza Landim, pela confecção dos mapas.

À Prof^a. Maria da Glória Guimarães Rodrigues pela redação do Summary and Conclusions.

À Neuza, secretária do Centro de Referência de Hemoglobinas, pelo auxílio nas correspondências.

Aos meus amigos André, Flávio, Gislaine, Juliana, Lígia e Silvia, estagiários do Centro de Referência de Hemoglobinas e aos ex-estagiários, pela amizade, auxílio na coleta de material e análises laboratoriais.



Aos Profs. Drs. Sílvio César Freitas Arantes e Sílvio Marques Pessoa e aos funcionários do Banco de Sangue e do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia-MG., pela amizade e colaboração na coleta e análise das amostras de sangue.

Ao Prof. Dr. Hélio Moraes de Souza e aos funcionários dos Bancos de Sangue da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro e do Serviço de Hematologia e Hemoterapia Prof. Marcelo Pio, em Uberaba-MG., pelo auxílio na obtenção das amostras.

Ao Dr. Mário Caetano da Silva e funcionários do Hemocentro de Ituiutaba-MG., pela coleta de material.

Ao Dr. Luiz Augusto França Filho e funcionários do Laboratório Carlos Chagas, em Araxá-MG, pelo empenho na coleta de material.

Às Diretoras e funcionários das Escolas Estaduais Maestro Josino de Oliveira e Lauriston de Souza, do Instituto Educacional Frutalense e da Escola Presidente Vargas, em Frutal-MG., pela orientação dos alunos para a coleta de material.

Às Diretoras e funcionários das Escolas Estaduais Antônio Ferreira Barbosa e João Ribeiro, em Iturama-MG., pela orientação dos alunos para a coleta de material.

Ao Dr. Willian Osvaldo Pinheiro Costa, Diretor Executivo e ao Fernando Lasmar, Diretor Administrativo e Financeiro da Fundação de Assistência, Estudo e Pesquisa de Uberlândia, pelo empenho na obtenção de recursos para a impressão desta Dissertação.

Ao Cláudio Humberto dos Santos e Sônia Maria Soares
Mendonça, pelo auxílio na encadernação deste trabalho.

Aos Profs. Drs. Evandro Guimarães de Souza, Diretor
Geral e Paulo Vitor Portella Silveira, Diretor Clínico do
Hospital da Universidade Federal de Uberlândia, pela colabora
ção e incentivo na montagem do Centro de Referência Regional
de Hemoglobinas nesta Instituição.

Aos doadores de sangue, que fazem parte desta
amostragem, sem os quais seria impossível a realização deste
trabalho.

ÍNDICE

I - INTRODUÇÃO

1 - A Colonização do Triângulo Mineiro	1
2 - O Triângulo Mineiro	7
3 - A Base Genética das Hemoglobinopatias	9
3.1 - A Molécula de Hemoglobina	9
3.2 - Ontogenia	11
3.3 - Genética das Hemoglobinas Humanas	12
3.4 - Síntese	18
3.5 - Hemoglobinopatias	19
3.6 - Talassemias	24
3.6.1 - Tipos Básicos de Talassemias	25
3.6.1.1 - Talassemia Alfa	30
A - Classificação	31
3.6.1.2 - Talassemia Beta	39
A - Classificação	40
B - A Hemoglobina A ₂	44
C - A Hemoglobina Fetal ...	46
D - Outras Formas de Talas	
semia Beta	47
3.7 - Interação das Talassemias Alfa e Beta	
com as Hemoglobinas Variantes	55
4 - Hemoglobinopatias no Brasil	58

II - OBJETIVOS

68

III - MATERIAL E MÉTODOS

1 - Material	69
2 - Métodos	74
2.1 - Testes Seletivos	74
2.1.1 - Eletroforese em Ágar-Amido-pH 8,6	74
2.1.2 - Resistência Globular Osmótica em	
Cloreto de Sódio a 0,36%	77



2.1.3 - <u>Análise da Morfologia Eritrocitária</u>	80
2.2 - <u>Testes Específicos</u>	80
2.2.1 - <u>Eletroforese em Acetato de Celulose - pH 8,6</u>	81
2.2.2 - <u>Eletroforese Quantitativa em Acetato de celulose-pH 8,6 (Dosagem de Hb A₂)</u>	84
2.2.3 - <u>Eletroforese de Diferenciação em Ágar-Fosfato pH 6,2</u>	85
2.2.4 - <u>Dosagem de Hemoglobina Fetal</u>	87
2.2.5 - <u>Coloração Intraeritrocitária de Hemoglobina Fetal</u>	91
2.2.6 - <u>Pesquisa de Agregados de Hemoglobina H</u>	93
2.2.7 - <u>Eletroforese de Cadeias Polipeptídicas</u>	94
2.2.8 - <u>Hemograma</u>	98
2.3 - <u>Análise Estatística</u>	98
2.3.1 - <u>Teste de Associação ou Independência</u>	98
2.3.2 - <u>Regra de Decisão</u>	99

IV - RESULTADOS

1 - <u>Tipos de Hemoglobinas Identificadas</u>	100
2 - <u>Caracterização Laboratorial de Hemoglobinopatias Raras</u>	104
2.1 - <u>Hemoglobina D</u>	104
2.2 - <u>Hemoglobina J</u>	106
2.3 - <u>Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal</u>	106
3 - <u>Estabelecimento Metodológico e Interpretativo das Hemoglobinopatias Detectadas em nosso Meio</u>	108

4 - Distribuição de Tipos de Hemoglobinopatias por Cidades, Idades e Sexos nas Populações Total Analisada, Caucasóide e Negróide	109
5 - Relação entre Prevalência de Hemoglobinas Anormais e Proveniência das Amostras de Sangue (Banco de Sangue e Escolas)	127
6 - Sobrenomes mais Frequentes da População Total Estudada	134
7 - Distribuição Geográfica das Cidades Estudadas, no Triângulo Mineiro, com as Respectivas Prevalências dos Tipos de Hemoglobinopatias	137
V - DISCUSSÃO	145
VI - RESUMO E CONCLUSÕES	157
VII - SUMMARY AND CONCLUSIONS	161
VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	165
ANEXOS	189

I - INTRODUÇÃO

1 - A COLONIZAÇÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO

A 3 de julho de 1722, partia de Piratininga-SP, em direção a Minas Gerais e Goiás, famosa bandeira chefiada por Bartolomeu Bueno da Silva Júnior, o denominado "Anhanguera II", com autorização da Carta Régia de 14 de fevereiro de 1721, assinada pelo Governador da Província de São Paulo. A expedição era composta de 152 pessoas, dentre as quais grande número de índios e escravos. Esta expedição atingiu o ocidente da atual Uberaba-MG, atravessou o vau do Roncador, no rio Uberaba-Legítimo, tomou a direção do rio das Abelhas, hoje Araguari, transpôs o porto do Registro, alcançando a aldeia de Sant'Ana, hoje Indianópolis-MG, costeou a picada de Goiás Paulista, posteriormente denominada "Estrada do Anhanguera", atingiu o rio das Pedras - Cascalho Rico-MG, rumo ao porto velho "Mão-de-Pau", hoje Anhanguera, no rio Paranaíba, onde atravessou, para pisar terras de Goiás (TEIXEIRA, 1970).

Anteriormente à abertura da estrada de São Paulo a Goiás por Bueno Filho, o Padre Caturra, da Companhia de Jesus, perseguido, viera para o noroeste da terra das

minas-gerais, trazendo em sua companhia numeroso contingente de negros, com os quais se estabelecera entre os rios Misericórdia e Quebra Anzol, fundando aí um poderoso Quilombo denominado Tengo-Tengo com uma população orçada em 500 indivíduos (PONTES, 1978).

Era costume destes entrantes, denominados "bandeirantes", de armazenar nas árvores ou troncos destas, parte dos víveres que levavam com duplo fim de lhes aliviar a bagagem e de lhes servir de conforto no regresso. No grande ribeirão então desconhecido, mas hoje atravessado pela via férrea Mogiana nas proximidades da estação Engenheiro Lisboa, Município de Sacramento-MG, deixavam os "entrantes", alguma provisão de víveres em várias caixas de madeira. Encontravam porém, ao voltarem alguns deles estragados, entre os quais a farinha de milho apodrecida. Por esse fato, o ribeirão ficou denominado - Da Farinha Podre, nome que conservou, dando-o também ao vasto território compreendido entre os rios Grande, Paranaíba e das Velhas, até as nascentes daquele ribeirão, cujas águas corre para o primeiro destes rios (SAMPAIO, 1971).

Esta região teve primitivamente os nomes de Novo Sul; Novos Descobertos do Paranaíba, Farinha Podre e, atualmente, Triângulo Mineiro (PONTES, 1978).



A região do Triângulo Mineiro pertencia, no início da colonização brasileira, à capitania de São Paulo, tendo passado posteriormente, em 1748, a pertencer à Capitania de Goiás. Em 1809, o Marquês de São João da Palma, Governador da Capitania de Goiás, nomeou o Sargento-Mor Antônio Eustáquio da Silva e Oliveira, Comandante e Regente dos Sertões da Farinha Podre. Sendo, por ele, os índios retirados da região e, as terras entre os rios Grande e das Velhas ficaram completamente desimpedidas para a prática de sesmarias, cedidas pelo Rei de Portugal aos agricultores, mediante requerimento ao governo da Capitania e, sob determinadas condições, impostas ao direito de posse (TEIXEIRA, 1970).

As bandeiras de Minas Gerais e de São Paulo desembocavam num lugar que, por isto mesmo, se chama Desemboque-MG. Desemboque era não só o portal do Triângulo Mineiro, como do território brasileiro que ficava a oeste do Tratado de Tordesilhas. Esta linha imaginária separava, ao oriente, terras de Portugal, e ao ocidente, da Espanha, na América do Sul, por um tratado que teve como árbitro o Papa Alexandre VI, e que assim determinou em 1493 e 1494. No seu garimpo trabalhavam 1.500 escravos, e dali partiam os bandeirantes desbravadores dos povoados mineiros como: Conquista, Monte Alegre, Uberaba, etc. O julgado do Desemboque abrangia todo o Triângulo Mineiro e a região sul do Estado de Goiás. Este julgado pertencia à Capitania de Goiás, de onde sofria pesada opressão (TEIXEIRA, 1970).



Em 1811, os moradores de São Domingos de Araxá, molestados com o governo goiano, pela criação de julga do daquele nome, no território de sua freguesia, dirigiram a D. João VI um extenso requerimento, pedindo a desanexação dos dois julgados - Araxá e Desemboque - da Capitania de Goiás e sua imediata incorporação à Minas Gerais. Em 1816, os julga dos de Araxá e Desemboque, desagregaram-se da Capitania de Goiás e se incorporaram à Minas Gerais, sob a jurisdição da "Comarca do Rio Paracatu do Príncipe", criada no ano anterior. E o Triângulo Mineiro, mais ligeiro do que se pensava, passou de Goiás para Minas (PONTES, 1978).

O Triângulo Mineiro, primitivamente, era habitado pelos índios caiapós, bororós, cataguás (araxás), etc., entretanto, os bororós dominavam sobre os demais e eram de cor bastante carregada e cabelos pretos (duros e ásperos), mas se viram, desde logo, dominados pelo elemento superior imigrante (PONTES, 1978).

No século XIX a população escrava de Minas Gerais era de 370.459 pessoas, conforme Censo de 1872. Os escravos, inicialmente direcionados à mineração, exerceram importante atividade na agricultura. Entretanto, o desenvolvimento da lavoura cafeeira e a ameaça constante da extinção da escravatura fizeram com que, a partir de 1867, o Governo Imperial, ao lado da política de colonização, adotasse medi



das de fomento à introdução do imigrante de maneira sistemática, para atender diretamente ao mercado de trabalho. A entrada de estrangeiros para o Triângulo Mineiro se acentuou após 1889, com o prolongamento da via férrea Mogiana até Uberaba. A preocupação do governo republicano, em relação ao fluxo de imigrantes estrangeiros, resultou na criação de um decreto que regulamentava a introdução de imigrantes no Estado. Afim de racionalizar a fiscalização do recebimento e da colonização do imigrante, dividiu-se, provisoriamente, o Estado em cinco distritos, tendo um deles sede em Uberaba. O fluxo de estrangeiros para esta região era de tal ordem representativa para os parâmetros da época, que foi no município de Conquista onde o elemento estrangeiro do Triângulo se mostrou mais representado, e sua grande maioria era composta por italianos. Vieram também para este município 25 famílias de imigrantes japoneses, com um total de 94 pessoas, para cuidar da cultura de arroz (MONTEIRO, 1973).

Nos pequenos centros abundaram sírios-libaneses, que erroneamente eram caracterizados por "turcos" e que se entregavam, em geral, ao comércio ambulante e fixo. O elemento inglês estava nas minas diamantinas de Água Suja e nos municípios de Monte Alegre e Platina (Ituiutaba) nas fazendas de criação. As demais nacionalidades se representavam por portugueses, espanhóis, franceses, argentinos, austríacos, alemães, paraquaios, africanos, etc. (CAPRI, 1916).



Os africanos que vieram para Minas, eram na quase totalidade de Angola, Congo e Moçambique. Vieram também, mas em pequena quantidade, da Costa do Ouro, Daomei, Nigéria do Sul, Sudão (Central, Oriental e Sententrional), Senegal e Guiné (JOSE, 1981).

O colono branco aqui introduzido se compunha, em sua maioria, de criminosos corridos das justiças de Minas Gerais e São Paulo, acompanhados de alta porcentagem do elemento negro. Foi no Triângulo Mineiro que se estabeleceu o primeiro núcleo de raça branca de Minas Gerais. Esse núcleo foi a Aldeia de Sant'Ana do Rio Das Velhas (PONTES, 1978).

Visando estimular o casamento entre estrangeiros e nacionais, o governo oferecia lotes, sem ônus para o casal, desde que o cônjuge contasse menos de dois anos de entrada no país (MONTEIRO, 1973).

Com a conseqüente "fusão de sangue", houve uma gradativa miscigenação entre esses colonizadores, originando três sub-formações, assim caracterizadas: do branco e negro - mulato; do branco e índio - cariboca ou caboclo, e do negro e índio - cafuz (PONTES, 1978).



A esse contínuo processo de miscigenação somou-se o enriquecimento cultural, as adaptações nos usos e costumes e, inevitavelmente a transmissão e propagação de doenças, e entre essas as de origem hereditária.

2 - O TRIÂNGULO MINEIRO

O Triângulo Mineiro é uma zona do Estado de Minas Gerais, localizada a oeste do seu território, limitando ao norte, com o Estado de Goiás, a oeste com o Estado de Mato Grosso do Sul e ao sul, com o Estado de São Paulo.

Atualmente o Triângulo Mineiro é constituído por 40 municípios e sua delimitação geográfica abrange 68.133 Km². Segundo o Censo de 1991, o Triângulo Mineiro tem uma população de 1.231.562 habitantes (IBGE, 1992).

Esta região apresenta peculiaridades em relação ao resto do país, por sempre manter uma posição econômica razoável em termos nacional. A evolução econômica teve uma base sólida fundada na agropecuária e no comércio. É uma região dotada de privilegiada base de recursos naturais e posição geográfica estratégica que apresenta condições favoráveis à exploração das culturas de abacaxi, algodão, arroz de sequeiro, café, cana-de-açúcar, milho, soja, sorgo, etc.



Dentre estas culturas, a soja e o milho são as que apresentam maior produtividade. No que se refere à pecuária, a criação de gado de corte e leiteiro é bastante ativa, com uma produção que abastece os mercados nacional e internacional, sendo um dos esteios da economia de Minas (FREITAS & SAMPAIO, 1985).

Os centros urbanos da região do Triângulo Mineiro melhor estruturados, para prestar serviços médicos, são: Uberlândia, Uberaba, Ituiutaba, Araguari, Frutal e Iturama, ou seja, os centros urbanos citados como destino do mais significativo fluxo migratório da região. As doenças infecciosas e parasitárias têm diminuído de importância, exceto em áreas menos urbanizadas e com menor proporção médico/1.000 habitantes. A desnutrição e a anemia mostram um comportamento ascendente como causa de mortalidade, o que não deixa de ser paradoxal numa região produtora de alimentos. Em ordem decrescente, tem prevalecido as causas derivadas das doenças do aparelho circulatório, doenças infecciosas e parasitárias. Contudo, a taxa de mortalidade na região do Triângulo Mineiro é a menor de Minas Gerais (FREITAS & SAMPAIO, 1985).

Com relação ao levantamento bibliográfico realizado, não se tem dados sobre a frequência de anemias hereditárias, notadamente falcemias e talassemias, na região do Triângulo Mineiro.



3 - A BASE GENÉTICA DAS HEMOGLOBINOPATIAS

3.1 - A MOLÉCULA DE HEMOGLOBINA

A hemoglobina é uma proteína globular e oligomérica, quimicamente composta pela conjugação de um pigmento, o heme, e da fração protéica denominada globina. O heme é um complexo formado por um átomo de ferro situado no interior de uma estrutura porfirínica que o mantém no estado ferroso e lhe dá a cor vermelha característica da hemoglobina. É este complexo que se liga ao O_2 e dá à molécula sua capacidade de transporte de gases. A fração protéica da molécula normal de hemoglobina é formada por 4 cadeias polipeptídicas, o tetrâmero, com um total de 574 aminoácidos. Duas das cadeias que participam na formação do tetrâmero possuem 144 aminoácidos cada e são denominadas de tipo alfa (alfa e zeta); as outras duas, têm 146 aminoácidos cada e são denominadas de tipo beta (beta, delta, gama glicina, gama alanina e epsilon) (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974).

Estudos das hemoglobinas por raios X e cristalografia, estabeleceram a presença de duas regiões distintas denominadas de superfície interna e externa. Na superfície interna da molécula situam-se as dobraduras, o pacote



do grupo heme e os contatos inter-atômicos entre os aminoácidos pertencentes a cada uma das quatro cadeias. A superfície externa situa-se nas regiões não dobradas das estruturas polipeptídicas e constitui 25% do total da molécula. Os aminoácidos da superfície externa estabelecem contatos com o meio aquoso circundante (PERUTZ, 1976).

Esses estudos possibilitaram também conhecer a estrutura espacial da hemoglobina e a disposição de suas cadeias, cujos pares de dímeros (α_2) e (β_2) apresentam ligações de diferentes intensidades e funções variáveis. Assim, os contatos $\alpha_1\beta_1$ ou $\alpha_2\beta_2$ envolvem 34 aminoácidos e são mais intensos, permitindo pouco movimento entre as cadeias alfa e beta, e responsabilizando-se pela estabilidade da molécula. Os contatos $\alpha_1\beta_2$ ou $\alpha_2\beta_1$ envolvem apenas 19 resíduos, são ligações fracas e promovem movimentos de deslizamento das cadeias alfa e beta, dando lugar à oxigenação e à interação entre os grupos heme das diferentes cadeias. Os contatos $\alpha_1\alpha_2$ ocorrem somente na forma desoxigenada e têm importância na interação heme-heme, efeito Böhr e transporte de CO_2 . Os contatos $\beta_1\beta_2$ ocorrem nas formas oxi e desoxigenadas; entretanto, somente na forma desoxigenada há fixação das moléculas de 2,3 difosfoglicerato (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974).



3.2 - ONTOGENIA

As combinações entre as cadeias dos tipos alfa e beta resultam em moléculas de hemoglobinas distintas. Essas moléculas são sintetizadas em diferentes fases do desenvolvimento humano: embrionário, fetal e pós-natal. Estudos realizados em vários vertebrados têm demonstrado que, paralelamente ao desenvolvimento morfofisiológico que ocorre nas fases da gestação, verificam-se mudanças nos tipos de hemoglobinas características de cada espécie. Essas transformações têm sido consideradas como atividades adaptativas, relacionadas à disponibilidade do oxigênio durante o desenvolvimento do organismo (STAMATOYANNOPOULOS & PAPAYANNOPOULOS, 1978).

A síntese dos diferentes tipos de hemoglobinas embrionárias, fetais e adultas obedecem a um rígido controle genético, envolvendo os genes ativos do tipo alfa e do tipo beta. As expressões desses genes podem ser avaliadas relacionando-as com o período de desenvolvimento embrionário e fetal. O primeiro tetrâmero hemoglobínico predominante nas 4 semanas iniciais do período embrionário é composto por pares de dímeros de cadeias zeta e epsilon ($\zeta_2\epsilon_2$), que formam a Hb Gower 1. Outras duas hemoglobinas embrionárias, presentes até a décima segunda semana, são compostas por pares de cadeias zeta e gama ($\zeta_2\gamma_2$) e, alfa e epsilon ($\alpha_2\epsilon_2$) que consti

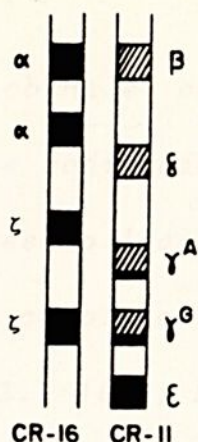


tuem as hemoglobinas Portland e Gower 2, respectivamente. Ao término desse período não ocorre mais síntese das hemoglobinas embrionárias, predominando nessa fase a Hb Fetal ($\alpha_2\gamma_2$), cuja produção começa na 4ª semana de gestação com aumento de seu nível quantitativo progressivo ao desenvolvimento fetal. A Hb A₁ (Hb A), composta por dímeros de cadeias alfa e beta ($\alpha_2\beta_2$) é sintetizada a partir da 10ª semana, e se mantém em concentração próxima de 10% até o nascimento. A Hb A₂ formada por cadeias alfa e delta ($\alpha_2\delta_2$), começa a ser sintetizada na 25ª semana, em concentrações reduzidas que permanecem até o nascimento, aumentando lentamente até estabilizar-se ao 6º mês de vida. Daí por diante a molécula de hemoglobina predominante é a Hb A₁, em concentrações de 96-98% da hemoglobina do adulto. A molécula de Hb A₂ e a Hb Fetal apresentam, no adulto normal, concentrações variáveis de 2,5 a 3,7% e 0-1%, respectivamente (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974; WOOD, 1976; WOOD e col., 1978) (Figura 1).

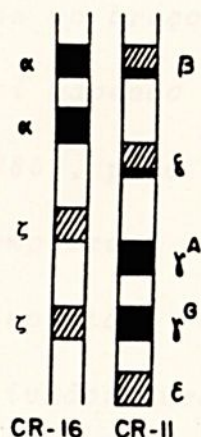
3.3 - GENÉTICA DAS HEMOGLOBINAS HUMANAS

O emprego das técnicas de hibridização celular somática, hibridização molecular, hibridização "in situ" e a utilização de enzimas de restrição têm permitido identificar os genes estruturais da globina humana e conhecer o seu arranjo no genoma.



PERÍODO EMBRIONÁRIO**TIPOS DE Hb****CONCENTRAÇÕES**

$\zeta_2 \epsilon_2$ - Hb Gower-1	20 - 40 %.
$\zeta_2 \gamma_2$ - Hb Portland	5 - 20 %.
$\alpha_2 \epsilon_2$ - Hb Gower-2	10 - 20 %.
$\alpha_2 \delta_2$ - Hb Fetal	5 - 40 %.

PERÍODO FETAL**TIPOS DE Hb****CONCENTRAÇÕES**

$\alpha_2 \gamma_2$ - Hb Fetal	90 - 100 %.
$\alpha_2 \beta_2$ - Hb A	0 - 10 %.
$\alpha_2 \delta_2$ - Hb A ₂	0 - 1 %.

PERÍODO PÓS-NASCIMENTO (acima de 6 meses)**TIPOS DE Hb****CONCENTRAÇÕES**

$\alpha_2 \beta_2$ - Hb A	96 - 98 %.
$\alpha_2 \delta_2$ - Hb A ₂	2,5 - 3,7 %.
$\alpha_2 \gamma_2$ - Hb Fetal	0 - 1 %.

LEGENDA:

CR-16 Cromossomo n° 16

CR-11 Cromossomo n° 11

■ Gene Ativo

▨ Gene Inativo

Figura 1 - Formação das hemoglobinas humanas nos diferentes períodos do desenvolvimento (NAOUM, 1990).

A síntese das diferentes cadeias da globina é controlada por vários genes estruturais. Os genes que codificam as cadeias do tipo alfa são altamente similares e estão localizados no braço curto do cromossomo 16, formando um complexo que foi mapeado em 16p13.3-pter (DEISSEROTH e col., 1977; LAUER e col., 1980; BUCKLE e col., 1988) e os que constituem o complexo tipo beta da hemoglobina estão localizados no braço curto do cromossomo 11, formando um complexo que foi mapeado em 11p15 (MORTON e col., 1984; MAGENIS e col., 1985), pela técnica de hibridização "in situ". Em ambos os complexos, os genes que codificam as diferentes cadeias estão dispostos, no sentido 5' + 3', na mesma ordem em que são ativados durante as fases do desenvolvimento embrionário, fetal e adulto. Cada um desses genes é composto por três exons, interrompidos por dois pequenos introns; regiões codificadoras e não codificadoras do gene, respectivamente (BLAKE, 1980; EATON, 1980) (Figura 2).

O complexo gênico tipo alfa tem uma extensão aproximada de 30 Kb e é formado por dois genes alfa ligados (α_1 e α_2), um gene zeta (ζ_2) e três pseudogenes $\Psi\zeta_2$, $\Psi\alpha_1$ e $\Psi\alpha_2$ (PROUDFOOT & MANIATIS, 1982; HARDISON e col., 1986). Os pseudogenes são sequências homólogas aos genes funcionais, que devido a uma ou mais mutações tornaram-se incapazes de produzir uma cadeia polipeptídica funcional (PROUDFOOT & MANIATIS, 1982). Recentemente, foi identificada a subfamília



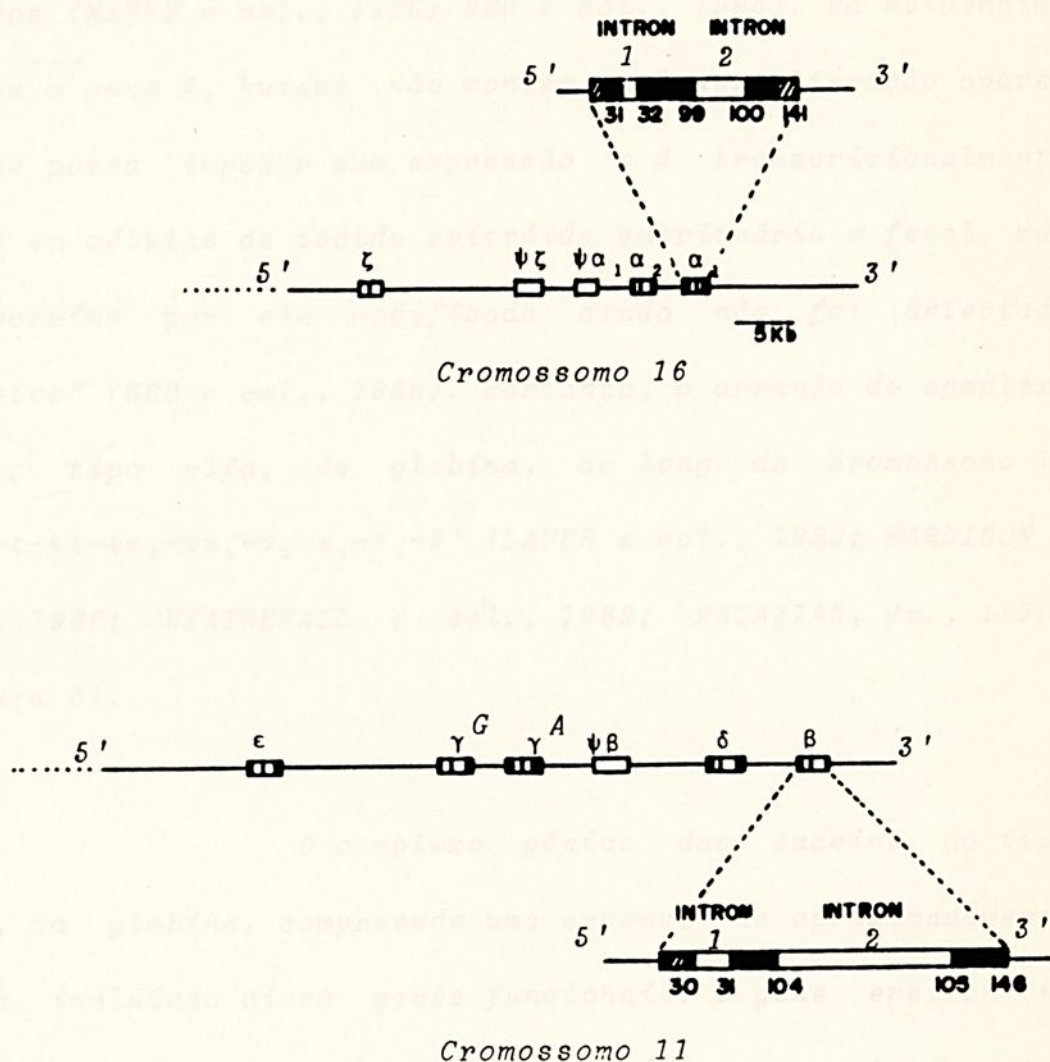


Figura 2: Localização dos genes alfa e beta da globina humana nos cromossomos 16 e 11, respectivamente. As faixas escuras representam os exons, as faixas claras os introns e as regiões achuradas áreas não transcritas. Os números abaixo dos exons representam a quantidade de resíduos dos aminoácidos codificados pela sequência específica (ANTONARAKIS e col, 1985)

do gene teta (θ_1), formada pelo gene θ_1 e alguns outros membros (MARKS e col., 1986; HSU e col., 1988). Há evidências de que o gene θ_1 humano não contém qualquer alteração aparente que possa impedir sua expressão e é transcricionalmente ativo em células de tecido eritróide embrionário e fetal, mas a proteína por ele codificada ainda não foi detectada "in vivo" (HSU e col., 1988). Portanto, o arranjo do complexo gênico tipo alfa, da globina, ao longo do cromossomo 16 é 5'- ζ - $\psi\zeta$ - $\psi\alpha_2$ - $\psi\alpha_1$ - α_2 - α_1 - θ_1 -3' (LAUER e col., 1980; HARDISON e col., 1986; WEATHERALL e col., 1989; KAZAZIAN, Jr., 1990) (Figura 3).

O complexo gênico das cadeias do tipo beta, da globina, compreende uma extensão de aproximadamente 50 Kb, incluindo cinco genes funcionais: o gene epsilon (ϵ) para a cadeia da globina embrionária, os genes gama que diferem por um simples aminoácido, na posição 136 da cadeia: glicina (γ^g) ou alanina (γ^a) para as cadeias da globina fetal (SCHROEDER e col., 1963) e os genes delta (δ) e beta (β) para as cadeias da globina do adulto (PROUDFOOT & BARALE, 1980). Posteriormente, foi identificado o pseudogene $\psi\beta$, e atualmente, admite-se que os genes desse complexo estão arranjados na sequência 5'- ϵ - γ^g - γ^a - $\psi\beta$ - δ - β -3' (FRITSCH e col., 1980; WEATHERALL e col., 1989; KAZAZIAN, Jr., 1990) (Figura 3).



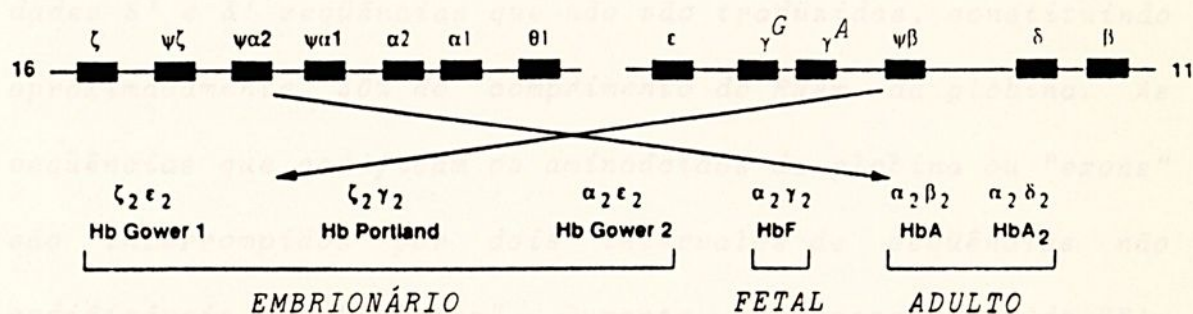


FIGURA 3: Organização dos complexos gênicos das cadeias alfa (cromossomo 16) e beta (cromossomo 11) da globina e os tipos de hemoglobinas formadas nos diferentes períodos do desenvolvimento humano (WEATHERALL e col., 1989).

3.4 - SÍNTESE

O RNAm transcrito possui nas suas extremidades 5' e 3' seqüências que não são traduzidas, constituindo aproximadamente 30% do comprimento do RNAm da globina. As seqüências que codificam os aminoácidos da globina ou "exons" são interrompidos por dois intervalos de seqüências não codificáveis ou "introns". Durante o processamento do RNAm transcrito, no núcleo, ocorre a adição de nucleotídeos nas suas extremidades: na extremidade 5' é adicionado um ácido guanílico metilado, formando o capuz 5', e na extremidade 3' é adicionada uma série de resíduos de ácido adenílico, denominada "cauda de poli-A" (BUSCH e col., 1982).

As funções dessas seqüências não são totalmente conhecidas. Sabe-se que o capuz 5' metilado é importante para a formação do complexo RNAm-ribossomo, o qual controla a iniciação da síntese da cadeia polipeptídica e protege o RNAm contra o ataque de endonucleases na extremidade 5', mantendo sua extremidade. Da mesma forma sabe-se que a cauda de poli-A parece ser importante para o transporte de RNAm do núcleo para o citoplasma e para a estabilidade do mesmo no citoplasma. A remoção dos introns e união dos exons é executada pelas enzimas do processo de "splicing" (SPRITZ & SANTEN, 1984; HONIG & ADAMS III, 1986).



3.5 - HEMOGLOBINOPATIAS

As hemoglobinopatias são as patologias causadas por alterações das hemoglobinas, que podem decorrer de alterações estruturais dos seus genes, originando as hemoglobinas variantes, ou de um desequilíbrio quantitativo das cadeias sintetizadas, originando as talassemias.

A hemoglobina ocupa um lugar de destaque na história da Química e Genética Molecular. Um dos eventos que justificam este destaque é aquele em que se deduziu que uma mutação de ponto, em um gene estrutural, estava associado a uma substituição específica de aminoácido na molécula proteica sintetizada a partir desse gene - fusão da genética médica com genética molecular. Assim, a "primeira doença molecular" a ser observada ocorreu quando o professor Linus Pauling e colaboradores, em 1949, diferenciaram físico-quimicamente a hemoglobina da anemia falciforme (Hb S). Com o uso da técnica do "fingerprinting", identificou-se o aminoácido mutante como sendo o 6º da cadeia beta: o ácido glutâmico (aminoácido de carga negativa) tinha sido substituído pela valina (aminoácido de carga neutra) (INGRAM, 1958)

O aprimoramento das técnicas eletroforéticas, cromatográficas, síntese de cadeias e utilização de DNA



recombinante têm proporcionado a detecção de hemoglobinas variantes em grande escala, bem como o conhecimento de eventos relacionados ao mecanismo de regulação dos genes da globina (EMBURY e col., 1980). Já foram descritos aproximadamente 500 variantes estruturais de hemoglobinas no homem, estando, porém, poucas delas associadas com manifestações clínicas e alterações hematológicas (IHC, 1986).

As alterações estruturais, que influenciam nas atividades físico-químicas da molécula, dependem da extensão do processo mutacional e do local em que ocorrem. Assim as hemoglobinas variantes podem originar-se por mutações ou por pareamento incorreto entre genes, seguido de permuta gênica. As mutações podem ocorrer por substituição, deficiência e inserção de nucleotídeos (LANG & LORKIN, 1976).

As mutações por substituição de nucleotídeos podem determinar a troca de um aminoácido por outro, de características diferentes ou não. Este evento ocorre nos genes do complexo alfa ou beta e produz alterações nas superfícies interna ou externa da molécula de hemoglobina. Quando ocorrem na superfície externa não produzem alterações significativas no comportamento funcional da molécula, com exceção feita às Hb S e Hb C, que são hemoglobinas de agregação e facilmente cristalizáveis (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974). Essas mutações produzem hemoglobinas variantes que apresentam



importância sob o ponto de vista bioquímico, genético e antropológico (HONIG & ADAMS III, 1986).

As mutações que ocorrem na superfície interna da molécula, frequentemente causam a formação de hemoglobinas instáveis. Assim, podem envolver resíduos polares e não polares, especialmente, nos locais estáveis da molécula, tais como os que fazem parte do pacote do grupo heme, cuja principal função é protegê-lo da entrada de água, bem como daqueles que participam dos contatos $\alpha_1\beta_1$ ou $\alpha_2\beta_2$. Tais substituições causam a instabilidade molecular, geralmente iniciando-se pelo afrouxamento da estrutura, permitindo a entrada de água com oxidação do ferro. O tetrâmero se desintegra e os polipeptídeos desagregados precipitam-se no interior dos eritrócitos, formando corpos de inclusão - os corpos de Heinz. As hemoglobinas instáveis produzem anemias hemolíticas agudas ou crônicas em seus portadores. Desde 1964, quando foi descrita a primeira hemoglobina instável, foram caracterizadas estruturalmente cerca de 90 variantes, muitas das quais sem história familiar, ou seja, esporádicas (mutações novas). Todas as formas descritas são heterozigotas e os pais dos portadores são aparentemente normais (HUISMAN, 1986).

Quando as substituições de nucleotídeos afetam resíduos da histidina distal ou proximal ligadas ao grupo heme, ou de outros resíduos que têm importância fundamenn



tal na constituição do pacote de aminoácidos que protege o grupo heme, ocorre a formação das hemoglobinas M, causando excessiva formação de metemoglobina (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974). Na molécula de hemoglobina o grupo heme está suspenso entre dois resíduos histidil. O ferro do grupo heme está ligado diretamente a uma histidina (a proximal), enquanto que o outro resíduo de histidina (a distal) não está ligado quimicamente ao ferro, deixando, portanto, um espaço para o excesso do oxigênio durante a oxigenação do heme. Quatro variantes de Hb M ocorrem por sua existência na forma de metemoglobina e têm a histidina distal ou proximal das cadeias alfa ou beta substituídas por tirosina: Hb M Boston ($\alpha 58\text{His} \rightarrow \text{Tir}$), Hb M Iwate ($\alpha 87\text{His} \rightarrow \text{Tir}$), Hb M Saskatoon ($\beta 63\text{His} \rightarrow \text{Tir}$) e Hb M Hyde ($\beta 92\text{His} \rightarrow \text{Tir}$). As Hb M são transmitidas como caráter codominante, tendo a Hb A em maior concentração. O estado de homozigose é letal, devido a cianose que provoca ao portador (IHC, 1986).

As mutações que envolvem códons de terminalização de cadeias, tornando-os codificáveis, provocam a adição de aminoácidos à região C-terminal de cadeias beta e alfa caracterizando as cadeias polipeptídicas longas. Como exemplo temos a hemoglobina Constant Spring, que é uma variante de cadeia alfa com 30 resíduos a mais que o normal. O portador apresenta genótipo de talassemia alfa heterozigota, em decorrência da instabilidade da molécula do RNAm produzido.

As mutações sem sentido envolvem códon codificáveis tornando-os códon de terminalização. A Hb M Kees-Rock é um exemplo deste evento na cadeia beta, que apresenta apenas 144 aminoácidos e o portador tem fenótipo de talassemia beta (HIGGS e col., 1989; ADAMS III & COLEMAN, 1990).

A deficiência e a inserção de nucleotídeos pode ou não alterar a matriz de leitura, dependendo do número de nucleotídeos envolvidos. Quando há alteração o produto destes genes é modificado, como na Hb Grady, que apresenta a deficiência de três resíduos de aminoácidos e na Hb Freiburg com a deficiência de um resíduo (B23 Val + O) (HONIG & ADAMS III, 1986; IHC, 1986).

O pareamento incorreto entre genes seguido de permuta gênica entre genes não alelos, origina um cromossomo com deficiência parcial desses genes (HONIG & ADAMS III, 1986). Como exemplo desta ocorrência destacam-se a Hb Lepore (fusão de cadeias $\text{NH}_2\delta$ com $\beta\text{-COOH}$), a Hb Myada ($\text{NH}_2\text{-}\beta$ com $\delta\text{-COOH}$) e a Hb Kenya ($\text{NH}_2\text{-}\gamma^a$ com $\beta\text{-COOH}$). O pareamento incorreto entre estes genes do complexo beta ocorre devido a homologia existente entre eles. Sabe-se que os genes δ e β diferem em apenas 10 aminoácidos, e γ e β em 38 aminoácidos (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).



3.6 - TALASSEMIAS

A talassemia foi descrita pela primeira vez, em 1925, num paciente com grave quadro de anemia, esplenomegalia e alterações ósseas (COOLEY & LEE, 1925). Por muito tempo essa forma de talassemia foi denominada de anemia de Cooley em homenagem ao seu principal descobridor. Posteriormente, observou-se que a anemia de Cooley era frequente entre italianos, gregos e árabes, cujos países são banhados pelo mar Mediterrâneo, e assim a anemia de Cooley passou a ser conhecida por anemia do Mediterrâneo. Esta condição foi denominada mais tarde de talassemia, derivada das palavras *thalassa* (mar) e *haïma* (sangue) (WHIPPLE & BRADFORD, 1936). Pensava-se, até 50 anos atrás, que fosse uma doença só da Itália e da Grécia, tamanha era a incidência nesses países. Quando se viu que se estendia a outras partes do mundo - da Península Ibérica ao Sudeste da Ásia - ela já estava batizada com o nome de talassemia. Além disso, devido a um intenso processo de migração, os genes condicionadores desse grupo de patologia foram transferidos para outros locais, principalmente as Américas, o norte da Europa e a Austrália (OHENE-FREMPONG & SCHWARTZ, 1980; WHO, 1982).



Atualmente, é agrupado sob a designação de talassemia um conjunto de doenças hereditárias caracterizadas pela redução na taxa de síntese de uma ou mais cadeias polipeptídicas da hemoglobina. Em consequência, há um desequilíbrio na produção das cadeias normalmente sintetizadas, que se acumulam em agregados instáveis nos glóbulos vermelhos (WEATHERALL e col., 1989).

3.6.1 - TIPOS BÁSICOS DE TALASSEMIAS

Nos últimos anos muito avanço tem sido alcançado para explicar as bases moleculares e genéticas das talassemias. As cadeias alfa, beta, gama e delta diferem entre si pelas composições de aminoácidos e pelas suas concentrações específicas. A diversidade de cada uma das cadeias e de suas respectivas concentrações, estão sob controles genéticos diferentes. Há controle genético para seqüenciar os aminoácidos que constituem cada uma das cadeias alfa, beta, gama e delta, e para regular a quantidade produzida de cada cadeia. Justamente quando este último falha é que surgem alterações quantitativas dos tipos de hemoglobinas, caracterizados por talassemias. Assim, quando ocorre falha no controle que produz a cadeia alfa, tem-se a talassemia alfa, e se a falha ocorre em relação às cadeias beta, tem-se a talassemia

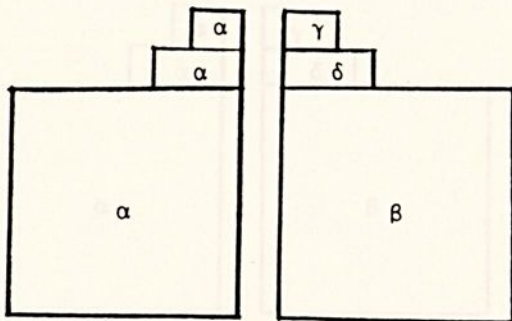


beta; essas falhas se manifestam por bloqueios de produção de cadeias alfa ou beta, que podem reduzi-las parcial ou totalmente (WEATHERALL & CLEGG, 1982; ORKIN, 1987; WEATHERALL e col., 1989; KAZAZIAN, Jr., 1990) (Figuras 4.a e 4.b).

A deficiência da produção de cadeias de globina tem duas conseqüências sobre o metabolismo da hemoglobina. A primeira é a diminuição da síntese deste pigmento, que acarreta hipocromia no glóbulo vermelho e, no heterozigoto, uma eritrocitose compensadora. A segunda conseqüência é um desequilíbrio de produção entre as cadeias alfa e beta, resultando num excesso de cadeias alfa, ou beta, conforme o tipo de talassemia. A cadeia em excesso tende a formar agregados e precipitados no interior do glóbulo vermelho, que causam lesões na membrana e destruição celular. Praticamente todos os componentes da membrana estão alterados: lipídios, proteínas, ácido siálico e glicolipídeos. O excesso do ferro não ligado ao heme e da cadeia precipitada têm ação oxidante, contribuindo ainda mais para a lesão da membrana celular que, além das alterações já mencionadas, sofre também um desequilíbrio nas bombas de cálcio e potássio, fatos que facilitam a destruição dos eritrócitos pelo sistema retículo-endotelial (WEATHERALL & CLEGG, 1982; HUISMAN, 1986).



Figura 4.a - Esquema representativo das alterações quantitativas, dos tipos de hemoglobinas, que ocorrem na talassemia alfa:

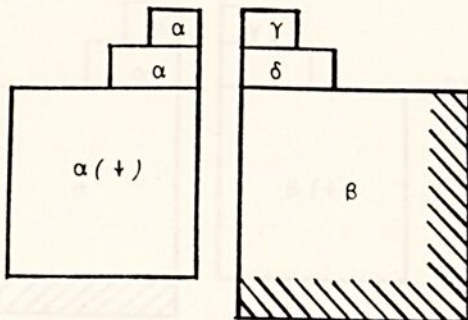


Hb Fetal. 0 - 1,0%

Hb A₂ 2,0 - 3,5%

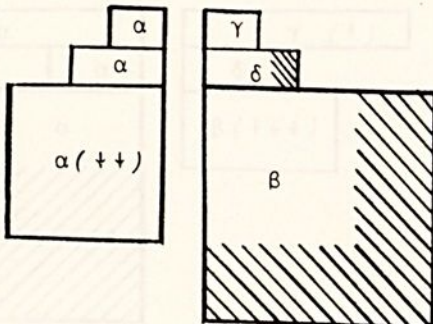
Hb A 96,0 - 98,0%

CONSEQUÊNCIAS DA REDUÇÃO DE
SÍNTESE DE CADEIAS ALFA



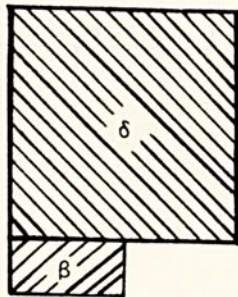
ALFA TALASSEMIA

Traços de Hb H na Eletroforese
Precipitados de Hb H nos Eritrócitos
Discreta Microcitose
Anemia (±)



DOENÇA DE Hb H

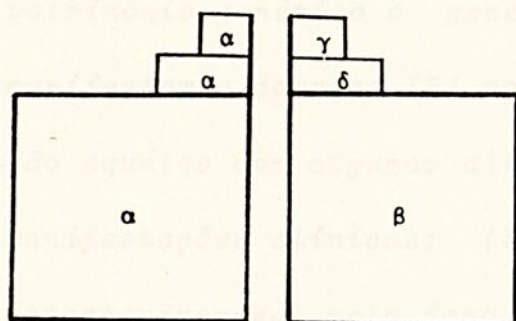
Hb H (10-20%) na Eletroforese
Precipitados de Hb H nos Eritrócitos
Anemia Microcítica-Hipocrômica
(+,+++)
HCM +
Hb A₂ +
Esplenomegalia



SÍNDROME HIDRÓPICA (HIDROPSIA FETAL)

Hb de Bart 80-100%
Hb H ~ 10%
Anemia Eritroblástica (++++)

Figura 4.b - Esquema representativo das alterações quantitativas, dos tipos de hemoglobinas, que ocorrem na talassemia beta:

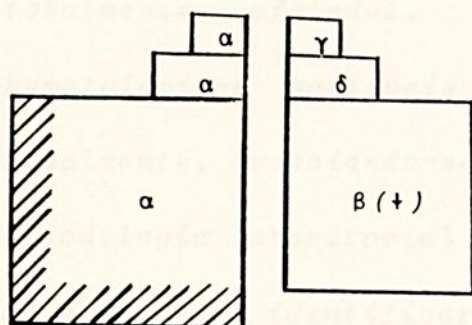


Hb Fetal 0 - 1,0%

Hb A₂ 2,0 - 3,5%

Hb A 96,0 - 98,0%

CONSEQUÊNCIAS DA REDUÇÃO DE
SÍNTESE DE CADEIAS BETA



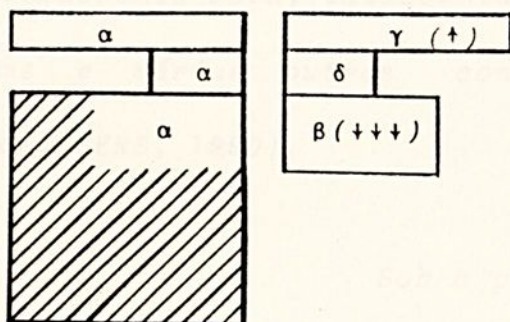
BETA TALASSEMIA HETEROZIGOTA-MENOR

Hb A₂ ↑

HCM ↓

Anemia Microcítica-Hipocrômica(+)

BETA TALASSEMIA MAIOR



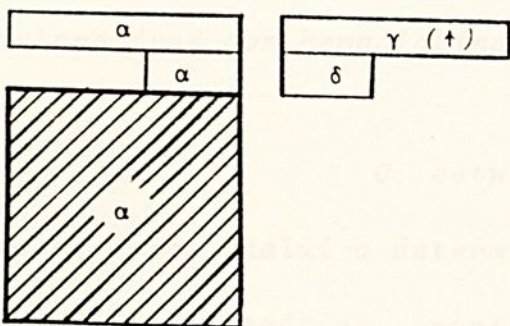
Hb A ↓

Hb Fetal ↑↑

Anemia Microcítica-Hipocrômica
(+++)

Cadeias Alfa Livres em Excesso
Aumento da Bilirrubina Indireta
Esplenomegalia

BETA TALASSEMIA MAIOR



Ausência de Hb A

Hb Fetal ↑↑

Anemia Microcítica-Hipocrômica
(++++)

Cadeias Alfa Livres em Excesso
Aumento da Bilirrubina Indireta
Esplenomegalia

Sob o ponto de vista clínico, os portadores de talassemia podem ser agrupados da seguinte forma: (1) portadores assintomáticos: ou sejam, carregam em seu patrimônio genético o gene que determina a talassemia e não manifestam a doença; (2) portadores sintomáticos não-doentes: são aqueles com algumas alterações hematológicas e discretas manifestações clínicas; (3) portadores sintomáticos doentes: caracterizam-se pelo fato dos genes estarem parcial, ou totalmente, afetados, produzindo alterações clínicas e hematológicas variáveis de moderadas a graves (WHO, 1984). Atualmente, associando-se informações clínicas com avançada metodologia laboratorial é possível distinguir as talassemias alfa e beta, identificar interações entre talassemia alfa e talassemia beta, talassemia alfa ou beta com anemia falciforme e várias outras condições mais raras (KAN, 1989; GOOSSENS, 1990).

Sob o ponto de vista genético as talassemias são classificadas em heterozigotas, homozigotas e interativas com hemoglobinas variantes (KAN, 1989).

O estudo criterioso de pacientes com talassemias inclui a determinação dos índices hematimétricos, fragilidade osmótica, morfologia eritrocitária, demonstração de distribuição intraeritrocitária de hemoglobina Fetal (HbF), determinação de ferro sérico e estudo familiar. Ocasionalmente é necessário medir os graus relativos ou síntese de cadeias alfa (α), beta (β) e gama (γ) (NAOUM, 1990).



3.6.1.1 - TALASSEMIA ALFA

A talassemia alfa é uma anemia hemolítica resultante de uma síntese deficiente das cadeias alfa da globina. Esta deficiência resulta em produção insuficiente de hemoglobina funcional, e a acumulação de tetrâmeros instáveis γ^4 (Hb de Bart) ou β^4 (Hb H), com conseqüente destruição acelerada dos eritrócitos (LIEBHABER, 1989).

Existem dois genes para a produção de cadeias alfa, por genoma haplóide. Assim, ao considerarmos a diploidia natural da espécie humana, existem quatro genes alfa ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) para esse processo de síntese genética. A talassemia alfa pode resultar de defeitos ou deleções de um ou mais dos quatro genes alfa (WEATHERALL & CLEGG, 1982; STEINBERG & EMBURY, 1986).

A existência de dois genes alfa indica que no decurso da evolução ocorreu uma duplicação gênica. Isto permite, durante a evolução, acumular mutações que modificam a sequência e algumas propriedades da cadeia alfa, pois, embora a grande maioria das mutações não ofereça vantagens, a existência de dois genes permite que um deles garanta a existência da cadeia funcional. O outro pode então continuar a acumular mutações e sofrer assim transformações maiores, que



podem, num determinado momento, ser seletivamente vantajosas para a espécie. Provavelmente, foi o que aconteceu com a cadeia ancestral única, onde as duplicações gênicas permitiram o aparecimento dos genes das demais cadeias globínicas da cadeia da mioglobina (RAW & MENNUCCI, 1991).

O gene α_2 codifica de duas a três vezes mais proteínas do que o gene α_1 , mas os mRNAs transcritos dos dois genes são traduzidos com igual eficiência, portanto, parece que o gene α_2 tem um papel dominante sobre o gene α_1 com relação à síntese de proteínas em indivíduos normais (LIEBHABER e col., 1986).

A - CLASSIFICAÇÃO DA TALASSEMIA ALFA

Uma das maiores dificuldades em sumarizar as diferentes formas de talassemia alfa é que tem sido descrito uma vasta quantidade de informações por meio das análises de mapeamento por endonuclease de restrição. Assim, a classificação das talassemias alfa é muito complexa atualmente.

O haplótipo normal da globina alfa é representado por $\alpha\alpha$, sendo os genes α_2 e α_1 , respectivamente.



Um indivíduo normal tem o genótipo $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ (LAUER e col, 1980). Sendo a expressão do gene α_2 maior do que a do gene α_1 ; mutações envolvendo este locus, provavelmente, são bem mais evidentes clinicamente (MOI e col., 1987).

As formas mais comuns de talassemia alfa são as resultantes de deleções. Cerca de 95,0% são causadas por deleção de um ou ambos os genes alfa do cromossomo 16. A alta incidência destas deleções deve ser causada por uma permutação desigual entre cromossomos homólogos, possibilitada pela homologia entre os genes alfa (HIGGS e col., 1989; LIEBHABER, 1989).

Uma deleção envolvendo um ($-\alpha$) ou ambos ($--$) genes alfa pode ser identificada pelo tamanho do segmento envolvido, assim $-\alpha^{3.7}$ indica uma deleção de 3,7 Kb de DNA incluindo o gene alfa. Quando o tamanho da deleção não está bem estabelecido, se utiliza da origem individual ou geográfica do portador. Assim, $--SEA$ define uma deleção que envolve os dois genes alfa, identificada inicialmente em indivíduos do Sudeste da Ásia (WHO, 1987; CHUNG e col, 1984; LUO e col, 1988)

O haplótipo $-\alpha^{3.7}$ é a variedade mais prevalente encontrada nos negros e mediterrâneos e também a maioria dos tipos α -talassemia 2 encontrada na Ásia (EMBURY e col, 1980). No mediterrâneo a prevalência dos heterozigotos é



aproximadamente de 5,0 a 10,0% (KANAVAKIS e col., 1988) e no Sudeste da Ásia sua incidência é entre 10,0 a 20,0% (SERJEANT e col., 1986).

O haplótipo $-a^{4.2}$ é encontrado quase que exclusivamente em populações da Ásia, raramente ocorre entre os negros e os mediterrâneos (EMBURY e col., 1980; EMBURY e col., 1985). Ambos os haplótipos, $-a^{3.7}$ e $-a^{4.2}$ podem coexistir em altas frequências em uma única população, embora o haplótipo $-a^{3.7}$ tem uma distribuição mais ampla (FODDE e col., 1988).

Os mecanismos moleculares para a expressão da cadeia zeta (ζ) da globina em indivíduos adultos com qualquer uma das deleções (--SEA/), (--MED/) e (--SPAN/) não são conhecidos, até o presente. É possível que estas deleções, para talassemia alfa, podem afetar a conformação da cromatina fazendo com que ocorra a expressão do gene zeta em indivíduos adultos (CHUI e col., 1986; TANG e col., 1992).

No Quadro 1 estão sumarizados alguns exemplos de deleções mapeadas nos genes do tipo alfa e suas respectivas referências bibliográficas.



Quadro 1: Principais deleções mapeadas nos genes do tipo alfa localizados no cromossomo 16, e suas referências bibliográficas:

Tipo de Deleção (Haplótipo)	Referências Bibliográficas
3.7 -α	EMBURY e col., 1980; EMBURY, 1988; KULOZIK e col., 1988
4.2 -α	EMBURY e col., 1980; EMBURY, 1988; KULOZIK e col., 1988
3.5 -α	KULOZIK e col., 1988
5.2 -(α)	NICHOLLS e col., 1987
2 0.5 -(α)	ORKIN & MICHELSON, 1980; NICHOLLS e col., 1985
5.3 (α)α	LACERRA e col., 1991
(αα) ^{RA}	NICHOLLS e col., 1987; HATTON e col., 1990
(--MED)	PRESSLEY e col., 1980
(--SEA)	CHUNG e col., 1984; LUO e col., 1988
(--FIL)	NICHOLLS e col., 1987; FISCHEL-GHODSIAN e col., 1988
(--THAI)	NICHOLLS e col., 1987;
(--SPAN)	VILLEGAS e col., 1990

Na categoria de mutações por não-deleções estão incluídas a substituição de uma única base nitrogenada, bem como as pequenas deleções. A mais comum das talassemias alfa por não-deleção é a hemoglobina Constant Spring ($Hb\alpha^{CS}$). Das 12 mutações por não-deleção, detectadas até o presente, 11 foram mapeadas no loco do gene α_2 da globina (LIEBHABER, 1989).

Haplótipos de talassemias alfa com os genes alfa afetados, embora a expressão de um deles esteja severamente reduzida ou abolida, são indicados por $\alpha\alpha^T$ (WHO, 1987; LIEBHABER, 1989).

No Quadro 2 estão representados alguns tipos de mutações, originadas por não-deleção, dos genes alfa da globina e suas respectivas referências bibliográficas.

A nomenclatura para as talassemias alfa são referidas como α^+ -talassemia (ou α -talassemia 2) e α^0 -talassemia (ou α -talassemia 1). As formas α^+ e α^0 talassemias podem resultar de diferentes defeitos moleculares que envolvem o loco genético para cadeias alfa. A α^+ -talassemia resulta da mutação de um dos dois genes para síntese de cadeias alfa, ou de uma redução parcial de ambos os genes. A α^0 -talassemia resulta de uma série de mutações envolvendo os dois genes ativos, em cis, para síntese de cadeias alfa. Indiví

duos com o genótipo $-a/aa$ são assintomáticos e usualmente têm os eritrócitos normais e os que apresentam genótipos $-a/-a$ ou $--/aa$ (homozigoto para α^+ -talassemia ou heterozigoto para α^0 -talassemia) têm eritrócitos microcíticos e uma anemia, quando presente, pouco evidente. Já os portadores de talassemia alfa causada pela deficiência produtiva de três genes alfa ($--/-a$) são sintomáticos com anemia hemolítica crônica associada a esplenomegalia. A deficiência de quatro genes alfa ($--/--$) é o estado de homozigose completa e causa a morte intra-uterina, ou logo após o nascimento por anoxia grave (KAN e col., 1979; WEATHERALL & CLEGG, 1981; HIGGS e col., 1989). (Quadro 3).



Quadro 2: Talassemias alfa originadas por não-deleções dos genes alfa da globina e suas respectivas referências bibliográficas:

TIPO DE MUTAÇÃO	LOCOS	REFERÊNCIAS
<i>Defeito no Processamento do RNA:</i>		
- Deleção de 5 pares de bases no intron 1	α_2	ORKIN & GOFF, 1981
- Substituição de base na cauda Poli A: (AAUAAA+AAUAAG)	α_2	HIGGS e col., 1983
<i>Defeito na Tradução:</i>		
- Deleção de bases na iniciação do códon	$-\alpha^{3.7}$	WHITELAW e col., 1980; MORLE e col., 1985
- Iniciação do códon (AUG+ACG)	α_2	PIRASTU e col., 1984
- Iniciação do códon (AUG+GUG)	α_1	MOI e col., 1987
- Iniciação do códon (AUG+GUG)	$-\alpha^{3.7}$	OLIVIERI e col., 1987
- Enquadramento (α_{31} AGG+--G)	$-\alpha^{3.7}$	SAFAYA & RIEDER, 1988
- Sem Sentido (α_{116} GAG+UAG)	α_2	LIEBHABER e col., 1987
- Término da cadeia:		
*Constant Spring (α_{142} UAA+CAA)	α_2	CLEGG e col., 1971
*Koya Dora (α_{142} UAA+UCA)	α_2	DE JONG e col., 1975
<i>Proteínas Instáveis:</i>		
- Evanston (α_{14} Trp+Arg)	$-\alpha^{3.7}$	MOO-PENN e col., 1983; HONIG e col., 1984
-Quong Sze (α_{125} Leu+Prol)	α_2	KAN e col., 1977; GOOSSENS e col., 1982

Quadro 3: Talassemias Alfa e seus Genótipos mais Frequentes

Talassemias	Nº de Genes Alfa Funcionantes	Genótipos mais Frequentes
Portador Silencioso (-α/αα)	3	$[-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha]; [-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha]; [-\alpha^{3.5}/\alpha\alpha]$
Talassemia Alfa (--/αα ou -α/-α)	2	$[-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}]; [-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}];$ $[-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}]; [-\alpha^{3.5}/-\alpha^{3.5}];$ $[-\alpha^{5.2}/-\alpha^{5.2}]; [-\alpha^{2.0.5}/-\alpha^{2.0.5}];$ $[-\alpha^{5.3}/-\alpha^{5.3}]; [-\alpha/\alpha^{CS}\alpha];$ $[-\alpha/\alpha^T\alpha]$
Doença de Hb H (--/-α)	1	$[-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}]; [-\alpha^{3.7}/\alpha^T\alpha]; [-\alpha^{3.7}/\alpha^T\alpha]$ $[\alpha\alpha^T/\alpha\alpha^T]; [\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha]; [-\alpha/\alpha^T\alpha]$ $[-\alpha/(\alpha\alpha)^T]; [-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}];$ $[-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}]; [-\alpha^{3.7}/\alpha^{CS}\alpha]$
Hidropisia Fetal (--/--)	0	$[-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}]$

Referência: LIEBHABER, 1989



3.6.1.2 - TALASSEMIA BETA

É uma doença caracterizada por alterações nas cadeias beta da globina, cuja conseqüência se resume na diminuição total ou parcial da produção destas cadeias, provocando uma anemia hipocrômica e microcítica grave, devido à hemólise que ocorre na medula óssea e, especialmente, no baço (KAZAZIAN, Jr., 1990).

Nas talassemias beta as variações quantitativas na síntese de Hb A e na quantidade de cadeias alfa não pareadas, são responsáveis por uma grande variabilidade na expressão clínica. A taxa normal de síntese das cadeias alfa resulta no seu acúmulo nos glóbulos vermelhos, durante a eritropoese. Essas cadeias são insolúveis, muito instáveis e não formam tetrâmeros entre si. Por conseguinte, precipitam-se dentro das células vermelhas e danificam a membrana celular, destruindo prematuramente os glóbulos vermelhos e provocando anemia. Numa tentativa de suprir a deficiência dessas células, a eritropoese é aumentada na medula óssea. Contudo, grande parte desse processo é ineficaz, ou seja, as células vermelhas são destruídas ainda na fase de desenvolvimento, sem terem sido liberadas para a circulação periférica (BENZ, Jr. & FORGET, 1980).



A - CLASSIFICAÇÃO DA TALASSEMIA BETA

Recentes progressos na metodologia para analisar as mutações dos genes beta da globina, têm sido realizados, possibilitando compreender os mecanismos que são responsáveis pelas variações fenotípicas da talassemia beta (DIAZ-CHICO e col., 1988).

As técnicas de análise molecular, têm permitido delinear a base molecular das talassemias beta através das enzimas de restrição, clonagem e sequenciamento dos genes afetados, reação de polimerização em cadeia-PCR (ENGELKE e col., 1988; MICKLOS & BLOON, 1989; HUANG e col., 1991). Cerca de 110 mutações diferentes já foram caracterizadas e, em geral, cada população tende a apresentar um grupo diferente delas (HUISMAN, 1990; KAZAZIAN, Jr., 1990; CHIFU e col., 1992).

As formas predominantes de talassemias beta são as resultantes dos defeitos por não-deleção, que afetam um pequeno número de pares de bases e interferem na transcrição, processamento, transporte, estabilidade e tradução do RNAm ou, ocasionalmente, são provocadas por variantes de cadeias beta altamente instáveis (MARZO e col., 1988; CAO e col., 1989; KATTAMIS e col., 1990).



Em extensa revisão da literatura (ORKIN, 1987; WHO, 1987; BANK & DOBKIN, 1988; KAZAZIAN, Jr. & BOEHM, 1988; STEINBERG, 1988; WEATHERALL e col, 1989, KAZAZIAN, Jr., 1990; KAZAZIAN, Jr. e col., 1992) há exemplos de mutações que afetam o RNAm da globina beta de inúmeras maneiras:

1 - Mutações na região promotora 5' - afetam a transcrição, incluindo substituições de nucleotídeos no TATA box e no elemento promotor distal ACACCC;

2 - Mutações que afetam o processamento do RNAm, por substituições:

a) nos dinucleotídeos invariáveis GT e AG nos sítios de junção dos exons e introns, que alteram essas sequências essenciais para o processamento normal, originando RNAm com segmentos extras de introns;

b) ao redor dos sítios de junção que destroem sequências "consensus" importantes, apesar de não essenciais para o processamento;

c) de dinucleotídeos dos introns, que podem criar novos sítios de junção doadores (extremidade 5') ou sítios de junção receptores (extremidade 3');

d) de nucleotídeos em sítios de junção críticos em exons, que podem alterar sequências similares a sítios de junção doadores, mas que nunca são usados para o processamento do RNAm normal;

3 - Mutações que afetam a estabilidade do RNAm, por alterações:



a) no sítio "cap" da extremidade 5' - as mutações que alteram o primeiro resíduo de A para C afetam a função do RNAm, reduzindo a própria transcrição ou, retardando o processo de formação do capuz, que pode reduzir a estabilidade do RNAm;

b) na região de clivagem do RNA e no sítio de poliadenilação AATAAA da extremidade 3' - reduzem acentuadamente a clivagem do RNAm e produzem moléculas de RNAm alongadas, provavelmente instáveis;

4 - Mutações sem sentido - originam códons de terminalização na região codificadora, interrompendo a tradução, originando, desta forma, moléculas de RNAm instáveis suscetíveis à ação de nucleases celulares;

5 - Mutações de sentido errôneo - originam códon para aminoácidos alternativos, resultando em globinas instáveis.

De maneira geral, as talassemias beta, são divididas em β^0 -talassemias, caracterizando a ausência de síntese de globina, e β^+ -talassemias, com reduzida produção de globina. Alguns estudos definiram os sub grupos de talassemias β^0 e β^+ , onde o nível de hemoglobina A_2 é normal nos heterozigotos (KATTAMIS e col., 1981). Existem, também, algumas formas raras de talassemias beta que só podem ser definidas em estudo familiar, ou populacional, devido a sua particularidade regional (WHO, 1982).



Geralmente os homozigotos de talassemias β^0 e β^+ , e aqueles com associações entre talassemias β^0 e β^+ , apresentam anemia acentuada que os tornam dependentes de transfusão de sangue na primeira infância. Alguns pacientes, entretanto, apresentam manifestações moderadas ou leves, sendo classificados clinicamente como portadores de talassemia intermédia (WEATHERALL & CLEGG, 1981; GURGEY e col., 1989).

A clássica talassemia beta maior (as talassemias β^0/β^0 , β^+/β^+ ou β^0/β^+) geralmente apresenta anemia grave nos primeiros anos de vida. As alterações decorrentes de uma talassemia beta maior se caracterizam por anemia com taxa de hemoglobina abaixo de 7,0g/dl, atraso no crescimento, anorexia, urina escura, sonolência, febre e vômito. A hepatoesplenomegalia pode ou não estar presente, mas geralmente aparece progressivamente. A morte em crianças com 1 a 6 anos é geralmente devida a infecções ou insuficiência cardíaca. O padrão de tipos de hemoglobinas no homozigoto β^0 consiste de predomínio de Hb F (92-98%), Hb A₂ em níveis variáveis (reduzidos, normais ou elevados) e ausência de Hb A. Para os homozigotos β^+ e da associação β^0/β^+ a concentração de Hb A varia de 10-25% e a de Hb F entre 70 e 95%; na forma β^{++} (Negro) aparece anemia com valores de hemoglobina entre 7,0 e 11,0 g/dl, com 20-40% de Hb F, Hb A₂ em níveis normais ou discretamente aumentados, e Hb A 60-80% (WEATHERALL & CLEGG, 1981; KINNIBURGH e col., 1982).



Os heterozigotos para talassemia beta são muito heterogêneos e a caracterização por um único método deve ser excluída. Entretanto, com raras exceções todos os heterozigotos apresentam as seguintes características: anemia de grau discreto que varia com o tipo do traço talassêmico, baixos índices hematimétricos, nos quais a HCM é o mais significante; alterações moderadas na morfologia eritrocitária, especialmente devido a eritrócitos microcíticos; aumento da resistência globular osmótica em solução NaCl 0,36%, teste seletivo que é positivo em 97,0% dos casos de talassemia beta heterozigota (SILVESTRONI & BIANCO, 1975).

B - A HEMOGLOBINA A₂

A hemoglobina A₂ (Hb A₂) foi identificada, em 1955, como um componente hemoglobínico normal que se apresentava em quantidades mínimas (KUNKEL & WALLENIUS, 1955). Atualmente, sabe-se que esta hemoglobina é composta por um tetrâmero formado por duas cadeias alfa e duas cadeias delta ($\alpha_2\delta_2$) e começa a ser sintetizada, na espécie humana, no período fetal, atingindo seu ápice próximo ao nascimento (WOOD e col., 1978). Após o sexto mês de vida seus níveis se estabilizam entre 2,5 a 3,7% (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974).



O estudo da Hb A₂ tem fornecido discernimento dentro da evolução e filogenia dos genes da globina e intensificado o entendimento da expressão do gene e síntese da globina. A Hb A₂ tem substancial aplicabilidade clínica. Sua concentração varia nas síndromes talassêmicas e algumas doenças adquiridas, de maneira que, sua dosagem fornece um auxílio útil para o diagnóstico correto (CODRINGTON e col., 1990; STEINBERG & ADAMS III, 1991).

Nos casos de talassemia beta heterozigota os aumentos de Hb A₂ têm sido verificados em 93,0% dos portadores, cujas concentrações variam de 3,5 a 7,0% (WHO, 1982; CODRINGTON e col., 1990).

O aumento na concentração de Hb A₂ tem sido observado nas seguintes patologias: anemia megaloblástica devido à deficiência de folato ou vitamina B₁₂; em alguns casos de: mielofibrose, hepatite viral, esquistossomose, malária por Plasmodium vivax, eritroleucemia, hipertireodismo, em receptores de tecido hematopoiético fetal e Doença de Chagas (ALPERIN e col., 1977; VAN ROSS e col., 1978; KRISHNAMOORTHY e col., 1982; DOMINGOS, 1990).



C - A HEMOGLOBINA FETAL

A hemoglobina Fetal (Hb F) é formada por duas cadeias alfa e duas cadeias gama ($\alpha_2\gamma_2$). No período fetal a proporção dos dois tipos de Hb F (γ^G e γ^A) é 7:3; ao nascimento é de 3:1 e após os seis meses, a proporção está em torno de 2:3. Aproximadamente um terço dos indivíduos mantém a proporção do nascimento na vida adulta (WEATHERALL & CLEGG, 1982). As análises das relações γ^G/γ^A em várias condições adquiridas e herdadas, associadas com aumento de Hb F na vida adulta, têm mostrado variações, sem entretanto, estabelecer um padrão. Estudos moleculares têm revelado alterações na sequência de DNA próximo aos genes da cadeia gama (γ), que podem ser responsáveis pelos níveis elevados de Hb F (COLLINS e col., 1984).

O nível de Hb Fetal pode estar elevado devido a manutenção da expressão dos genes gama pós-nascimento, que produz cadeias gama, as quais combinam com as cadeias alfa em excesso ou, devido a uma seleção e, talvez um aumento, na população das células que contêm maior quantidade de cadeias gama, que sofrem menos lesões provocadas pelas cadeias alfa livres e conseqüentemente, têm maior sobrevida (THOMPSON e col., 1991).



A hemoglobina Fetal apresenta níveis normais de 0 a 1,0%. Aumentos desta concentração até 5,0% têm sido observados em alguns casos de talassemia beta heterozigota, e aparece bastante aumentada nos casos de talassemia beta homozigota. Valores elevados são também verificados na Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF), Hb SS e HbS/Tal.beta (GILMAN & HUISMAN, 1984; KUTLAR e col., 1990).

A produção de Hb Fetal pode ser reativada em algumas doenças adquiridas, como anemia aplástica, mieloma múltiplo, leucemia mielóide crônica juvenil, leucemia linfoblástica aguda, hemoglobinúria paroxística noturna, malária por Plasmodium falciparum e entre outras (SHIMIZU, 1988).

D - OUTRAS FORMAS DE TALASSEMIA BETA

Um número de deleções afetando muito dos genes beta da globina têm sido observado. Muitas destas deleções resultantes de uma deficiência de ambas as cadeias beta e delta, que está associada a hemoglobinizacão deficiente dos eritrócitos, dão origem às síndromes de talassemia beta-delta ($\delta\beta$), talassemia $\gamma\delta\beta$ ou Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (WEATHERALL e col., 1989; LOSEKOOT e col., 1991).



A talassemia beta-delta no estado de homozigose produz semelhante quadro clínico verificado na talassemia intermédia. A Hb Fetal constitui 100,0% da concentração total da hemoglobina, devido à ausência de síntese das Hb A e Hb A₂. A análise citológica dos eritrócitos, corados com solução supra vital, mostra a presença de agregados de cadeias alfa, enquanto a fragilidade osmótica e a HCM estão diminuídas. A forma heterozigota é caracterizada por níveis normais de Hb A₂, a Hb Fetal apresenta-se com valores variáveis entre 5,0 e 20,0%, a anemia é discreta e a HCM está diminuída na maioria dos portadores. A Hb Fetal está heterogeneamente distribuída entre os glóbulos vermelhos (DACIE & LEWIS, 1984).

Baseando-se na análise estrutural da Hb F estas doenças podem ser classificadas em gama glicina (γ^g) e gama glicina-gama alanina ($\gamma^g\gamma^a$) $\delta\beta$ - talassemias. Muitas formas de $\delta\beta$ -talassemias resultam de deleções envolvendo os genes para globina γ e β conjuntamente, com uma quantidade variável de região intergênica entre os genes δ e γ^a . Essa forma de talassemia tem sido encontrada notadamente na Itália e Espanha (ANAGNOU e col., 1988).



Um outro tipo de alteração da hemoglobina classificado como talassemia beta-delta é o fenótipo talassêmico de Hb Lepore. Essa forma de alteração ocorre pela associação entre os locos dos genes beta e delta, permitindo a fusão dessas duas cadeias e tornando-a híbrida, a porção inicial é formada por aminoácidos de cadeias delta e a final com aminoácidos de cadeias beta. Dependendo do local em que ocorre a fusão, há formação de diferentes tipos de Hb Lepore: Hb Lepore Holanda (fusão de cadeia beta no resíduo 22 da cadeia delta); Hb Lepore Baltimore (fusão no resíduo 50 da cadeia delta); Hb Lepore Boston (fusão no resíduo 87 da cadeia delta). Esses três tipos de Hb Lepore ou delta-beta talassemias são também classificados por anemia de Cooley (BAGLIONI, 1962; ADAMS III & COLEMAN, 1990).

As talassemias $\gamma\delta\beta$ têm sido observadas somente em heterozigotos. Caracterizam-se por hemólise neonatal e alterações hematológicas de talassemia beta com nível de Hb A₂ normal (THEIN e col., 1984).

Na Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF), onde a produção de Hb F permanece após o período neonatal, sem causar danos hematológicos e fisiopatológicos para o seu portador (CHARACHE & CONLEY, 1969). Há evidências de que a PHHF seja uma forma muito discreta de talassemia, onde ocorre um desequilíbrio mínimo entre as



cadeias sintetizadas e uma compensação quase completa da cadeia beta deficiente pela produção de cadeias gama, originando o aumento de Hb F (GIAMPAOLO e col., 1984).

Vários especialistas têm sugerido que a PHHF pode ser de dois tipos: um em que o cromossomo mutante não sintetiza cadeias β ou δ devido à deficiência de ambos os genes, e o outro onde não há deficiência do gene da cadeia β . No primeiro tipo, a PHHF é caracterizada por uma distribuição razoavelmente homogênea (pancelular) de Hb F nas células vermelhas, sugerindo que a biossíntese pós-natal continua em todas as células. No estado homozigoto não há produção de Hb A e Hb A₂; no entanto, os portadores geralmente não apresentam anemia, pois há uma compensação pela produção de Hb F. No outro tipo, a PHHF é caracterizada por um aumento geneticamente determinado no número de células que normalmente contém Hb F no adulto, havendo desse modo, uma distribuição heterogênea (heterocelular) de Hb F nos glóbulos vermelhos com produção parcial de Hb A no homozigoto (COLLINS & WEISSMAN, 1984; DONALD e col., 1988).

As talassemias $\delta\beta$ constituem formas de PHHF onde é observada deficiência dos genes $\delta\beta$, as quais diferem nas extremidades 5' e 3' dos segmentos deficientes, sendo ativos os genes γ^g e γ^a . Contudo, existem formas de PHHF onde não tem sido observadas deficiências ou mesmo rearranjos de

segmento do complexo gênico beta. Estas formas são extremamente heterogêneas, podendo ser detectadas três tipos: (a) Tipo Grego, no qual a síntese de cadeias γ^a é predominante e se apresenta homogênea nas células vermelhas; (b) Tipo Negro, no qual é predominante a síntese de cadeias γ^g e se apresenta homogênea nas células vermelhas e (c) Tipo Britânico, no qual há predominância da síntese de cadeias γ^a , embora em menor proporção que no grupo negro, mas com distribuição heterogênea (BUNN & FORGET, 1986; HONIG & ADAMS III, 1986).

Pacientes que permanecem com pelo menos um dos genes gama (γ) intacto apresentam: $\delta\beta^0$ -talassemias (5,0 a 18,0% de Hb F, nos heterozigotos) ou PHHF (17,0 a 35,0% de Hb F, nos heterozigotos). As deleções que causam $\delta\beta^0$ -talassemias coincidem com aquelas que causam PHHF, e não está esclarecido por que pacientes com PHHF têm níveis superiores na expressão do gene gama: a mais fundamental questão não está esclarecida. É que em qualquer grupo de pacientes há a expressão do gene gama após o nascimento. A elucidação das bases moleculares da expressão do gene gama, e sua diferente expressão em PHHF e $\delta\beta^0$ -talassemia, provavelmente fornecerá algum discernimento nos mecanismos que regulam a expressão dos genes beta da globina durante o desenvolvimento embrionário, fetal e adulto (OTTOLENGHI e col., 1990; THOMPSON e col., 1991).



Alguns autores propuseram a hipótese da existência de genes controladores entre os genes γ e β . Estes genes teriam duas funções possíveis no período neonatal: supressão de genes γ e ativação de β e δ . A deficiência deste elemento controlador teoricamente leva ao fenótipo de PHHF. A síndrome de Hb Kenya confirma esta hipótese, já que pela permuta ocorrida, essa possível seqüência foi perdida e o paciente apresenta, em conseqüência, fenótipo de PHHF. Esta hipótese é, no entanto, especulativa (ORKIN & KAZAZIAN, 1984). Estudos sugerem que os determinantes, para algumas formas de PHHF onde não são observadas deficiências, não estejam ligados ao complexo beta. Esta é a primeira indicação de que o loco envolvido na regulação dos genes para globina esteja distante do complexo $\gamma\delta\beta$ (BUNN & FORGET, 1986).

Muitas das talassemias beta são hoje bem conhecidas a nível molecular, conforme exposto no Quadro 4.



Quadro 4 - Base molecular para as talassemias beta melhor caracterizadas:

TIPO DE TALASSEMIA	BASE MOLECULAR
Talassemia β^0 branda:	
- Indiana	- Delecção de 619 pares de bases no final da porção 5' terminal do gene β
- Britânica	- Início defeituoso na síntese de RNAm para cadeia β
Talassemia β^0 grave:	
- Italiana	- Liberação do sítio de "splice" ao final do grande intron (2)
- Italiana, Grega	- Mutação sem sentido na posição 39 da cadeia β
- Chinesa	- Mutação sem sentido na posição 17 da cadeia β
- Ferrara	- Proteína defeituosa na iniciação da cadeia β
- Mediterrânea	- Sítio de "splice" adicional, gerado no pequeno intron
Talassemia Intermédia:	
- β Terre Haute (Irlandesa)	- Códon 106, Leu+Arg
- β Houston (Britânica)	- Códon 127, Ala+Prol
- β Chesterfield (Britânica)	- Códon 28, Leu+Arg
Talassemia β^+ :	
- Negro	- Alteração no sinal de poliadenilação AATAAA+AA <u>C</u> AAA
- Japonesa	- Mutação na região promotora 5' <u>A</u> TAA+ <u>G</u> TAA
- Asiana	- Mutação no sítio "cap" <u>A</u> + <u>C</u>

Quadro 4 (continuação): Base molecular para as talassemias beta melhor caracterizadas:

TIPO DE TALASSEMIA	BASE MOLECULAR
<i>Talassemia β^+:</i>	
- Sudeste da Ásia	- Mutação códon 26 <u>G</u> AG+ <u>A</u> AG (Glu+Lys = HbE)
- Negro	- Mutação neutra códon 24 <u>G</u> GU+ <u>G</u> GA (Gly+Gly)
- BShowa-Yakushiji (Japonesa)	- Códon 110, Leu+Pro
- BGunna (Japonesa)	- Códon 127, 128, Gln-Ala+Pro
<i>PHHF:</i>	
- $\gamma^g \gamma^a$ tipo 1	- Deleção de $\beta + \delta + 4.000$ pares de bases
- $\gamma^g \gamma^a$ tipo 2	- Deleção de $\beta + \delta + 9.000$ pares de bases
- Hb Kenya	- Fusão de γ^a com β
<i>Talassemia Delta-Beta:</i>	
- $\gamma^g \gamma^a$	- Deleção de $\beta + 1/2 \delta$
- γ^g	- Deleção de genes β , δ e γ^a
- γ^g	- Inversão de γ por segmento de $\delta + 2$ deleções
<i>Hb Lepore:</i>	
- Hollanda	- Fusão resíduo 22 $\delta\beta$
- Baltimore	- Fusão resíduo 50 $\delta\beta$
- Boston	- Fusão resíduo 87 $\delta\beta$

Referências: ORKIN, 1987; WHO, 1987; WEATHERALL e col, 1989; THOMPSON e col, 1991; KAZAZIAN, Jr. e col., 1992.



3.7 - INTERAÇÃO DAS TALASSEMIAS ALFA E BETA COM AS HEMOGLOBINAS VARIANTES

A presença concomitante de genes que de terminam a produção de hemoglobinas anormais diversas, em uma população, propicia a combinação dos mesmos em um indivíduo, originando as chamadas formas interativas. As mais comuns são Hb SC, Hb SD, HbS/Talassemia beta, HbS/Talassemia alfa e HbC/Talassemia beta (BARNHART e col., 1976).

Esse tipo de associação é muito comum devido à intensa miscigenação racial. As talassemias alfa e beta são comuns entre os povos de origem mediterrânea, notada mente italianos. A Hb S teve sua origem em africanos. Esses são dois segmentos básicos em várias populações, inclusive a brasileira. Inegavelmente, a talassemia interativa de maior importância clínica e hematológica é a associação entre talassemia beta e Hb S, ou HbS/Talassemia beta. Do ponto de vista laboratorial, a HbS/Talassemia beta difere da anemia falciforme por apresentar microcitose e hipocromia, e pelos níveis elevados de Hb A₂. Quando o gene talassêmico é do tipo B⁰, não há síntese de Hb A, mas de Hb S, Hb F e Hb A₂. Na forma B⁺, há síntese parcial de Hb A que se expressa numa concentração variável de 10,0 a 30,0%, ao lado da Hb S que é predominante (SCHROEDER e col., 1989; NAOUM, 1990).



A presença de hemoglobina Fetal (Hb F) no eritrócito com Hb S é útil na presença desta célula contra o processo de falcização, pois ela não interage com a Hb S quando esta se precipita. A concentração da Hb F aumenta na interação Hb S e talassemias alfa ou beta, e na associação entre Hb S e PHHF (POWARS e col., 1989).

A talassemia alfa quando associada à Hb S reduz a proporção de cadeias β^S sintetizada. Esta interação resulta em mudanças hematológicas facilmente detectáveis (EMBURY, 1986; STEINBERG e col., 1986; STEVENS e col., 1986), e os efeitos dos vários genótipos da talassemia alfa associados com traço falcêmico (Hb AS), são mostrados no Quadro 5.



Quadro 5 - Dados hematológicos da interação entre talassemia alfa e traço falciforme (HbAS):

Genótipos	Hb (g/dl)	VCM (fL)*	HbS (%)
$\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha$	13-15	80-90	40
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	13-15	80-90	35-40
$-\alpha/\alpha\alpha$	13-15	80-90	35-45
$-\alpha/\alpha\alpha$	13-14	75-85	30-35
$-\alpha/-\alpha$	12-13	70-75	25-30
$--/-\alpha$	7-10	50-55	17-25

*VCM = Volume Corpuscular Médio (fL = fetolitro)

Referências: EMBURY & DOZY, 1981; HIGGS e col., 1984).



4 - HEMOGLOBINOPATIAS NO BRASIL

Os distúrbios hereditários das hemoglobinas na espécie humana são as alterações genéticas mais conhecidas e mais difundidas no mundo (WEATHERALL & CLEGG, 1981). Poucas são as populações que delas estão isentas, sendo sua presença, em extensas regiões, responsável por problemas de saúde pública. Em geral, altas prevalências desses defeitos em uma área podem ser resultantes de dois mecanismos: desenvolvem-se na população autóctone por força do efeito seletivo da malária ou, alternativamente, são introduzidos por imigração de uma população previamente afetada. O primeiro mecanismo, devido a seleção de heterozigotos em áreas altamente malarígenas, explica as elevadas freqüências de hemoglobinopatias nos países confinantes com o Mediterrâneo, no Oriente Médio, Sudoeste da Ásia e na África. Por outro lado a imigração, espontânea ou forçada, é responsável por sua ocorrência nos países do novo mundo, incluindo o Brasil (NAOUM, 1984).

O Brasil apresenta uma população com origens raciais diversas e bem conhecidas, que tem miscigenado em diferentes graus de intensidade. Esse fato permite a dispersão de genes outrora característicos de determinadas populações e regiões definidas. Entre os principais, antes considerados marcadores genéticos de algumas populações,



destacam-se os que determinam as hemoglobinas variantes e as talassemias. Esses genes foram transmitidos gradualmente à população nativa brasileira, à medida que se intensificava o processo de colonização em nosso país. Assim, acredita-se que a contínua atividade miscigenatória tenha facilitado a propagação das hemoglobinas anormais, e cuja heterogênea distribuição pode ser explicada conforme a região colonizada e a proveniência nacional dos seus colonizadores, já que a análise de indígenas brasileiros não miscigenados mostrou ausência de hemoglobinopatias (SALZANO & FREIRE-MAIA, 1967; NAOUM e col., 1986).

Os primeiros trabalhos de genética humana publicados em nosso país, ainda no período compreendido entre 1925 e 1950, já diziam respeito à distribuição de grupos sanguíneos e à prevalência de portadores de hemácias falciformes em nosso meio. Dentre os pesquisadores que, nessa época, já se preocuparam em investigar o índice falcêmico das nossas populações, merecem destaque Jessé Accioly, na Bahia, Álvaro Serra de Castro, João Maia de Mendonça e Ernani Martins da Silva, no Rio de Janeiro, e Edgard e Edmir Boturão, em Santos (BEIGUELMAN, 1979).

Em 1924, quando ainda não se sabia da existência da hemoglobina S, o médico brasileiro Jessé Accioly publicou nos arquivos da Universidade da Bahia um extenso



trabalho no qual apresentou, de modo completo, a hipótese monogênica a respeito do mecanismo de transmissão hereditária da anemia falciforme e do traço siclêmico. Essa hipótese foi publicada no mesmo ano e de modo independente por James Neel, nos Estados Unidos da América do Norte. Enquanto, esse trabalho deu a Neel a notoriedade internacional que ele merece, o de Jessé Accioly permaneceu ignorado pelos geneticistas por mais de vinte anos, até que Eliane Elisa de Souza e Azevedo, na Bahia, e Bernardo Beiguelman, em São Paulo, o descobrissem e, daí por diante, passassem a divulgá-lo. Não somente os meios científicos internacionais, mas também os nacionais, ignoram o valor da obra de Accioly, atribuindo apenas a Neel as glórias que deveriam ter sido, obrigatoriamente, divididas entre ambos.

Os primeiros trabalhos sobre as hemoglobinopatias hereditárias realizadas no Brasil diziam respeito, fundamentalmente à siclemia. Somente na década de 60 as diferentes hemoglobinopatias estruturais passaram a ser estudadas em nossas populações, sobretudo pelas investigações de Francisco Mauro Salzano e colaboradores, em Porto Alegre, e de João Targino de Araújo, em São Paulo (TONDO & SALZANO, 1962; ARAÚJO, 1965; SALZANO e col., 1968). Enquanto que a talassemia começou a ser investigada só na década de 70, com a pesquisa genético-epidemiológica a respeito da freqüência do traço talassêmico beta em nosso meio (RAMALHO, 1975, 1976).



Estudos realizados isoladamente em diferentes localidades do Brasil, evidenciam grande variabilidade polimórfica das hemoglobinas anormais e as talassemias, notadamente as de origem mediterrânea. Embora existem centenas de hemoglobinopatias estruturais, e pelo menos uma dezena de síndromes talassêmicas, apenas três hemoglobinopatias hereditárias são realmente freqüentes em nossas populações: a hemoglobina S, a hemoglobina C e as talassemias. As hemoglobinopatias menos freqüentes em nossas populações não constituem um problema de saúde pública entre nós, mas podem ser muito importante para alguns indivíduos e suas famílias. As hemoglobinas S e C constituem problemas relevantes quando em homozigose ou dupla heterozigose, sendo mais freqüentes na população negróide. Já a talassemia beta maior representa um problema de importância, especialmente nas regiões que também receberam maciços contingentes de imigrantes oriundos da Itália e de outros países mediterrâneos (RAMALHO, 1982).

Outras variantes consideradas raras e que são os casos das hemoglobinas D Punjab, M Boston, J Rovigo, J Oxford e G Philadelphia foram também identificadas em estudos populacionais (NAOUM, 1983; SALZANO, 1986; NAOUM e col., 1987). Por outro lado, essas atividades de pesquisa têm demonstrado que, à parte as informações sobre polimorfismo, a relação antropológica e as diferentes características bioquímicas, as hemoglobinas anormais representam importância na



saúde pública brasileira (NAOUM e col., 1986).

A ocorrência de talassemia alfa, no Brasil, foi documentada no primeiro estudo populacional com uma frequência de 0,70% de portadores de Hb de Bart, um indicador de talassemia alfa, entre recém-nascidos não selecionados do Hospital de Clínicas de Ribeirão Preto-SP (ZAGO e col., 1983). Em outros levantamentos, níveis detectáveis de Hb de Bart foram observados em 5,40 e 8,60% dos recém-nascidos negros de Porto Alegre-RS e Campinas-SP, respectivamente (MOTTA e col., 1983; PEDROLLO e col., 1990).

Estudos realizados, para diagnosticar a presença de talassemia alfa por meio de pesquisa citológica de agregados intraeritrocitários de Hb H, em pacientes com anemia sem causa definida e indivíduos aparentemente saudáveis, da cidade de São José do Rio Preto-SP; indicaram que respectivamente, 15,89 e 3,90% dos indivíduos eram portadores de talassemia alfa (CASTILHO e col., 1987). Entretanto, apesar dessas altas frequências, acredita-se que a talassemia alfa esteja presente por todos os locais, onde entre os contingentes colonizadores há descendentes de italianos e negros africanos (NAOUM, 1984; NAOUM e col., 1984).

Outros dados indicam uma alta prevalência de Hb de Bart, num estudo realizado em recém-nascidos brasilei



ros de origem africana. A frequência encontrada foi de 11,9%. Os resultados sugerem que a prevalência de talassemia alfa, na população negróide brasileira, é cerca de 11,9% ou prova
velmente maior (SONATI & COSTA, 1990). Estes resultados estão em concordância com recentes relatos da frequência do gene da talassemia alfa, entre pacientes brasileiros com anemia, estu
dada pela análise do DNA (COSTA e col., 1989).

O uso de mapeamento dos genes alfa da globina, com enzimas de restrição, tem demonstrado a alta frequência de talassemia alfa nos continentes africanos, como em seus descendentes que habitam as Américas (MILNER, 1983).

A maioria dos portadores de talassemia beta é descendente de imigrantes italianos, entre os quais a prevalência de heterozigotos é da ordem de 6,4% (RAMALHO, 1976; ZAGO e col., 1981). Estudos realizados em populações de gran
des centros urbanos, como Campinas-SP (RAMALHO, 1976, 1979), Ribeirão Preto-SP (ZAGO, 1981; ZAGO e col., 1981; ZAGO & COSTA, 1985) e Porto Alegre-RS (FREITAS & ROCHA, 1983) consta
taram prevalências dessa alteração de 0,8 a 1,1%, sobretudo em caucasóides, pois os negróides constituem apenas 16,0 a 30,0% da população. A prevalência no Norte e Nordeste é provavelmente inferior, em virtude da maior proporção de negros e mulatos que perfazem 72,0% da população do Nordeste (RAMALHO, 1976; FREITAS & ROCHA, 1983; ZAGO e col., 1983).



Numa triagem realizada em amostras de sangue, coletadas em Postos de Saúde e Bancos de Sangue, de 19 cidades do Estado de São Paulo, classificadas como "pólos de atração médica", foi possível classificar diversas regiões conforme prevalência de falcemias, talassemias, hemoglobina C, e outras raras, criando um mosaico representativo da interação entre colonização e frequência de hemoglobinopatias (NAOUM e col., 1984).

Estudos para detectar hemoglobinas anormais foram realizados em 55.217 pessoas, de 40 cidades distribuídas nas 5 regiões brasileiras (NAOUM e col., 1986), e mais 27.130 análises descritas por diversos autores. Apesar da heterogeneidade técnica e analítica, considerou-se que entre as 82.347 análises, 3.030 (3,68%) apresentaram hemoglobinas anormais, sendo 2.730 (3,31%) hemoglobinas variantes e 300 (0,37%) casos de talassemias. A prevalência de hemoglobinas anormais foi encontrada com maior frequência entre os negróides (6,35%) do que entre os caucasóides (2,61%). A Hb S foi o genótipo que mais predominou em todas as regiões; a talassemia beta heterozigota foi o segundo mais frequente nas regiões sul, sudeste e norte, enquanto a Hb C foi na região nordeste, e os outros tipos foram na região centro-oeste. É evidente que esses resultados nos oferecem um panorama apenas subjetivo da prevalência de hemoglobinopatias no Brasil, uma vez que a tecnologia utilizada, notadamente para talassemia beta, foi



muito heterogênea, e certamente os resultados estão aquém do que se espera.

Em recente levantamento de dados foram analisadas 102.235 amostras de sangue, provenientes de 66 cidades de 15 Estados brasileiros (Quadro 6), cujos resultados mostram que 3,4% das amostras analisadas apresentaram hemoglobinas anormais caracterizadas especificamente por: Hb S (2,1%), talassemia beta (0,8%), Hb C (0,5%), outros tipos de hemoglobinas variantes: J Oxford, J Rovigo, D Punjab, M Boston, N Baltimore, G Philadelphia, B₂, I, Lepore e Constant Spring (0,1%); talassemias interativas (0,05%). Entretanto, em análise suplementar com algumas centenas de amostras foi possível constatar que além desses valores, deva ser somado 3,6% relativo à presença de portadores de talassemia alfa, investigadas através da análise citológica de agregados de Hb H (NAOUM e col., 1991).

As hemoglobinas anormais apresentam um número de variantes e formas talassêmicas que se ampliam à medida que novos estudos populacionais vão sendo realizados e novas tecnologias são introduzidas. A determinação destes polimorfismos tem contribuído para o desenvolvimento científico e tecnológico da genética molecular, oferecendo, inclusive, excepcionais condições para promover a relação interdisciplinar com a hematologia, a bioquímica e a história da nossa



civilização, entre outras.

Em heterozigose, as hemoglobinas anormais freqüentemente não determinam manifestações clínicas importantes. Assim, por meio de estudos populacionais, é possível detectar as heterozigoses das situações potencialmente patológicas e promover a orientação dos portadores e familiares.



Quadro 6 - Número de amostras de sangue analisadas e porcentagem de hemoglobinas anormais, em 102.225 pessoas, provenientes de 15 Estados brasileiros:

Estados	Total analisado	% de Hb anormais
São Paulo	58.628	2,5
Acre (Rio Branco)	22.000	4,0
Piauí	5.455	6,2
Minas Gerais	4.671	4,7
Goiás	3.322	4,3
Paraná	2.034	1,9
Bahia	1.316	5,6
Rio de Janeiro	1.271	5,0
Pará (Belém)	1.106	4,3
Alagoas	600	4,8
Paraíba (João Pessoa)	430	1,9
R.G.Norte (Natal)	372	7,5
Maranhão (São Luiz)	370	4,0
Ceará (Fortaleza)	330	2,7
Pernambuco (Recife)	320	2,8

Referência: NAOUM e col., 1991



II - OBJETIVOS

Sendo o Estado de Minas Gerais deficiente quanto aos dados sobre a prevalência e o polimorfismo das hemoglobinopatias hereditárias, e somado ao fato de que as hemoglobinas humanas são importantes marcadores genéticos para estudos populacionais, desenvolveu-se na região do Triângulo Mineiro o presente trabalho com o objetivo de conhecer a frequência e a variabilidade polimórfica das hemoglobinas, baseado na seguinte seqüência:

1 - Determinar a prevalência das hemoglobinas anormais hereditárias, qualificando-as fenotipicamente, na região do Triângulo Mineiro, em cidades previamente determinadas por critérios definidos;

2 - Associar os diferentes tipos de hemoglobinas anormais hereditárias com as populações caucasóides e negróides, classe etária, sexo, proveniência da coleta das amostras de sangue e sobrenome;

3 - Estabelecer as relações históricas da colonização regional com as prevalências regionais das hemoglobinas anormais hereditárias;

4 - Contribuir com os serviços de Saúde no que se refere aos programas de Aconselhamento Genético.



III - MATERIAL E MÉTODOS

1 - MATERIAL

O material utilizado no presente trabalho consistiu de amostras de sangue de 4.124 pessoas, aparentemente sadias, na faixa etária de 1 a 85 anos, provenientes de 6 cidades da região do Triângulo Mineiro (Figura 5).

Foram selecionadas as cidades, para o estudo de prevalência das hemoglobinopatias, que apresentaram número de habitantes acima de 40 mil, com importância administrativa regional, e de tal forma que fossem distribuídas amplamente pelo Triângulo Mineiro. O critério para a seleção das cidades foi feito por levantamento demográfico de dados constantes no IBGE (Quadro 7).

As amostras de sangue foram obtidas de doadores voluntários, provenientes de Bancos de Sangue, e em escolares de segundo grau. As coletas foram realizadas por punção venosa ou digital, utilizando-se seringas ou lançetas descartáveis e frascos contendo anticoagulante EDTA a 5,0% ou tubos heparinizados de micro-hematócrito. Esses tubos eram vedados, numa de suas extremidades, com massa de modelar. Em



todos os casos, antes da punção, foi feita a assepsia do local com algodão embebido em álcool etílico. Após a coleta as amostras foram acondicionadas em caixa com isolamento térmico para o transporte até o local de análise. Em casos de confirmação de PHHF foram realizadas coletas complementares de sangue sem anticoagulante.

Manteve-se um contato inicial, por telefone, com as pessoas responsáveis pelos Bancos de Sangue e Escolas das cidades selecionadas, esclarecendo quanto aos objetivos e solicitando sua colaboração para o trabalho em realização. Logo após, foi feito um outro contato através de carta, determinando os dias da coleta de sangue. Para as Escolas enviamos cartilhas sobre "Anemias Hereditárias" (Anexo 1) para serem distribuídas aos professores e alunos antes da coleta.

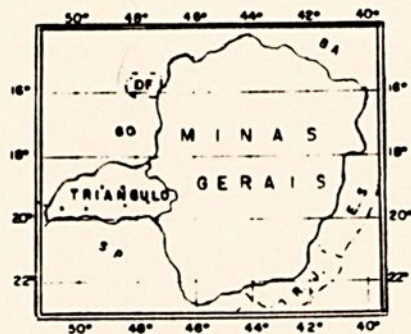
Em folha suplementar (Anexo 2) realizou-se a identificação de cada pessoa, de acordo com a numeração do tubo contendo a amostra de sangue. O nome e o sobrenome foram anotados integralmente, seguidos da idade, sexo e cor. Para cor da pele foi obedecida a forma padronizada: caucasóides para indivíduos brancos, e negróides para os mulatos e negros, e aqueles com características típicas como forma dos lábios e nariz, e o tipo de cabelo.



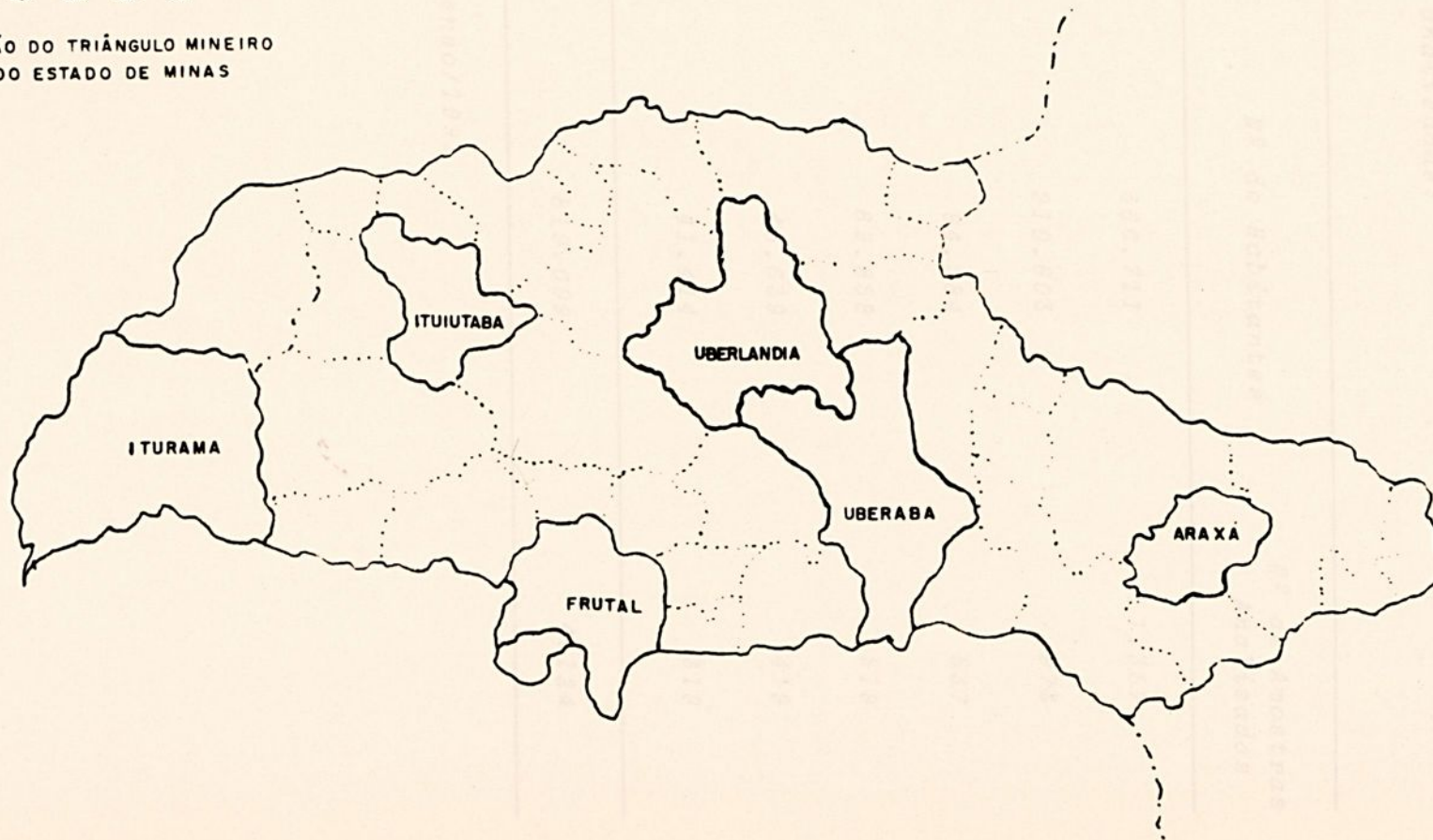
Cerca de 2.700 amostras de sangue foram conduzidas ao Laboratório do Centro de Referência de Hemoglobinas-UNESP, Campus de São José do Rio Preto-SP, para triagens das hemoglobinopatias. As outras amostras restantes foram triadas nos Laboratórios de Análises Clínicas do Hospital Escola da Universidade Federal de Uberlândia-MG. As coletas e análises das amostras ocorreram no período de agosto de 1989 a julho de 1992.



Figura 5 - Disposição geográfica das 6 cidades do Triângulo Mineiro selecionadas para a pesquisa.



LOCALIZAÇÃO DO TRIÂNGULO MINEIRO
NO MAPA DO ESTADO DE MINAS



Quadro 7 - Cidades selecionadas para o estudo da prevalência das hemoglobinopatias, no Triângulo Mineiro, com seus respectivos números de habitantes e de amostras analisadas:

Cidades Selecionadas	Nº de Habitantes	Nº de Amostras Analisadas
Uberlândia	366.711	1.357
Uberaba	210.803	973
Ituiutaba	84.584	537
Araxá	69.858	519
Iturama	45.639	419
Frutal	41.414	319
Total Geral	819.009	4.124

Fonte: IBGE - Censo/1991



2 - MÉTODOS

As amostras de sangue foram submetidas a testes seletivos e específicos, visando estabelecer uma triagem daquelas com hemoglobinopatias.

2.1 - TESTES SELETIVOS

Os testes seletivos utilizados para a triagem de hemoglobinopatias foram: eletroforese em ágar-amido pH 8,6; resistência globular em NaCl 0,36% e análise da morfologia eritrocitária; descritos a seguir.

2.1.1 - ELETROFORESE EM ÁGAR-AMIDO pH 8,6 (Método de NAOUM e col., 1980):

PRINCÍPIO:

Esta técnica foi adaptada para estudos populacionais, pois possibilita a análise de 90 a 100 amostras por vez com aplicação direta do sangue, sem prévia hemólise. Visualiza-se perfeitamente frações de hemoglobinas variantes; aumento de Hb Fetal e presença de metemoglobina.



REAGENTES:

A - TAMPÃO BORATO - pH 8,6

SOLUÇÃO ESTOQUE

Ácido Bórico	18,60g
Hidróxido de Sódio	3,40g
Água Destilada q.s.p.	1000ml

SOLUÇÃO TRABALHO*

Solução Estoque	125ml
Água Destilada q.s.p.	500ml

*Usada para os compartimentos eletrolíticos.

B - TAMPÃO TRIS-EDTA-BORATO (TEB) - pH 8,8

SOLUÇÃO ESTOQUE

Tris-hidroximetil-aminometano	10,10g
Ácido etileno diamino tetracético	1,00g
Ácido Bórico	0,76g
Água Destilada q.s.p.	100ml

SOLUÇÃO TRABALHO*

Solução Estoque	4ml
Água Destilada q.s.p.	40ml

*Utilizada no preparo do gel.



C - GEL DE ÁGAR-AMIDO

Bacto Ágar (Difco)	300mg
Maisena	600mg
Tampão TEB pH 8,8 (Sol. Trabalho)	40ml

D - CORANTE DE PIRAMIDO

Piramido a 5% em etanol	5ml
Ácido Acético a 3%	5ml
Peróxido de Hidrogênio	2ml

PROCEDIMENTO:

Em um Erlenmeyer de 250ml aquecer os componentes do gel em bico de Bunsen até total dissolução do material, com ebulições suaves. Distribuir o conteúdo em placa de gel própria, previamente fixada com grampos em um suporte. Deixar em repouso até adquirir consistência.

Aplicar as amostras no gel, iniciando a 1,5cm do catodo e 1,0cm da extremidade esquerda da placa, com lâmina de aplicação. A quantidade de amostra introduzida no gel é de aproximadamente 0,2 μ l. O aplicador deve ser limpo em papel absorvente após cada aplicação.

Transferir a placa com as amostras aplicadas para a cuba de eletroforese e conectá-la ao tampão dos



compartimentos eletrolíticos por meio de "perfer" triplo. Passar 300 Volts (50mA) por 30 a 40 minutos, à temperatura ambiente. Após a corrida eletroforética, analisar as frações sem e com coloração. Identificar os tubos cujas amostras apresentam alterações eletroforéticas. Para a identificação das frações alteradas consultar o mapa de disposição de hemoglobinas em eletroforese alcalina (Figura 6).

2.1.2 - RESISTÊNCIA GLOBULAR OSMÓTICA EM CLORETO DE SÓDIO 0,36% (Método de SILVESTRONI & BIANCO, 1975):

PRINCÍPIO:

É uma técnica utilizada para detectar talassemia beta, principalmente na forma heterozigota, pois nestes casos os eritrócitos microcíticos são mais resistentes à hemólise em solução de cloreto de sódio 0,36%. A resistência globular não é específica para talassemia beta heterozigota, já que resultados positivos são encontrados também em anemias carenciais e outras hemoglobinopatias, como os heterozigotos para hemoglobina C. Cerca de 97,0% dos portadores de talassemia beta heterozigota apresentam positividade para este teste



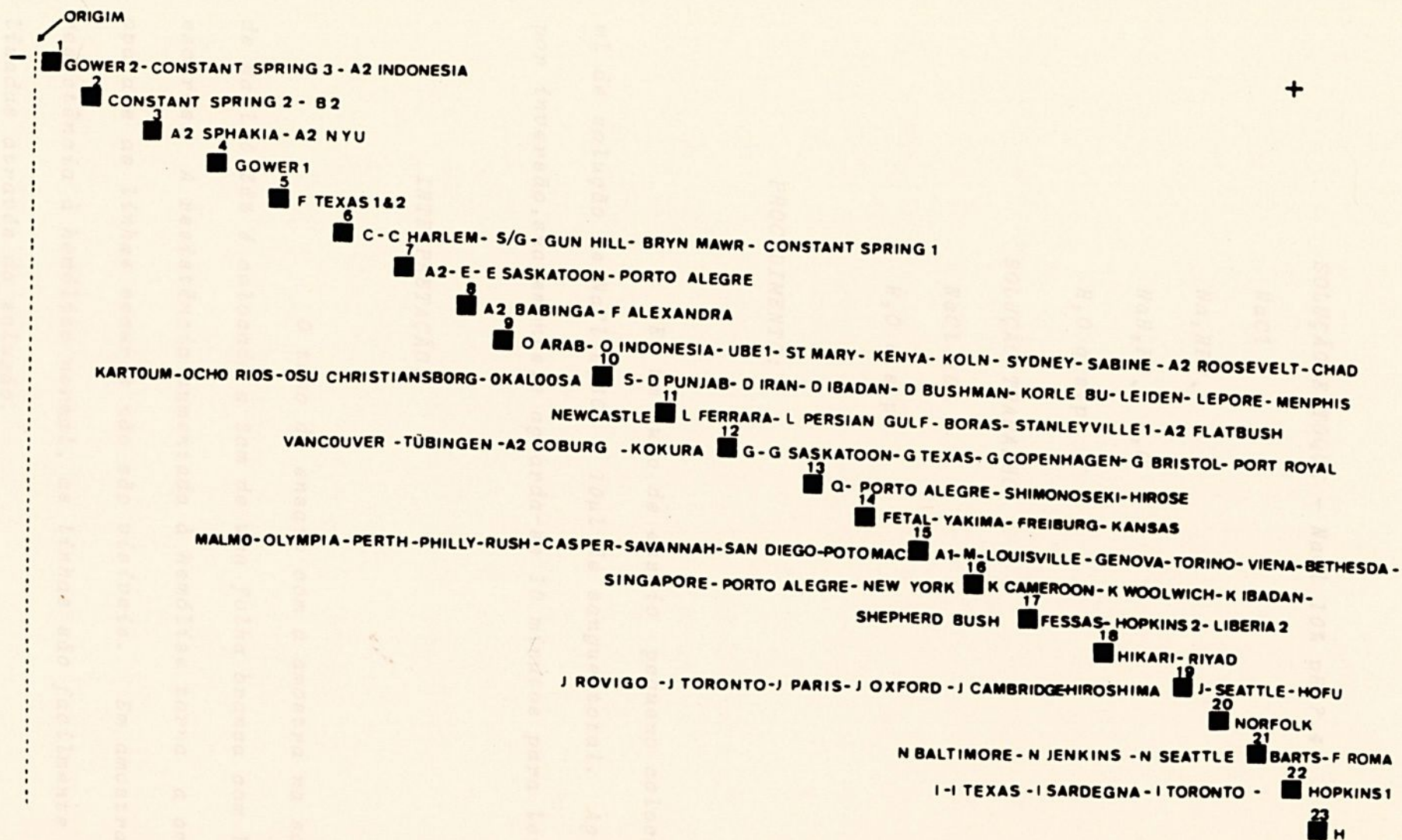


FIGURA 6 — Disposição das mobilidades de 118 tipos de hemoglobinas humanas em eletroforese alcalina (ágar-amido e cel-logel), pH 8,6 (Naoum, 1979).

REAGENTES:

SOLUÇÃO ESTOQUE - NaCl 10% pH 7,4

NaCl	9,00g
Na_2HPO_4	1,39g
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,28g
H_2O q.s.p.	100ml

SOLUÇÃO TRABALHO

NaCl 10%	36ml
H_2O q.s.p.	1000ml

PROCEDIMENTO:

Em um tubo de ensaio pequeno colocar 1,5 ml de solução de NaCl 0,36% e 10 μ l de sangue total. Agita-se por inversão, suavemente, e aguarda-se 10 minutos para leitura.

INTERPRETAÇÃO:

O tubo de ensaio com a amostra na solução de NaCl 0,36% é colocado a 2cm de uma folha branca com linhas escuras. A resistência aumentada à hemólise torna a amostra opaca e as linhas escuras não são visíveis. Em amostras com resistência à hemólise normal, as linhas são facilmente visualizadas através da solução.



As amostras com resistência aumentada são submetidos à exames posteriores para o diagnóstico da talassemia beta heterozigota, já que este é um teste seletivo.

2.1.3 - ANÁLISE DA MORFOLOGIA ERITROCITÁRIA:

Em esfregaço sanguíneo, analisou-se o tamanho, a forma e a coloração dos eritrócitos. Os indivíduos portadores de talassemia beta heterozigota apresentam moderada anisopoiquilocitose com prevalência da microcitose e hipocromia, facilmente visualizadas ao microscópio óptico.

Os resultados foram divulgados da seguinte maneira:

- células normais: (+)
- alterações discretas (+)
- alterações moderadas: (++)
- alterações acentuadas: (+++)

2.2 - TESTES ESPECÍFICOS

Para melhor caracterização das hemoglobinas variantes e talassemias foram feitos testes específicos que serão descritos a seguir:



2.2.1 - ELETROFORESE EM ACETATO DE CELULOSE pH 8,6

(Método de MARENGO-ROWE, 1965):

PRINCÍPIO:

Técnica utilizada para qualificação e quantificação de hemoglobinas normais e anormais. As diferentes mobilidades eletroforéticas das hemoglobinas anormais são originadas por alterações de cargas elétricas, causadas por substituição de aminoácidos de diferentes pontos isoeletricos nas cadeias formadoras da molécula.

As hemoglobinas anormais que se originam de mutações onde não ocorre mudança de carga elétrica, na eletroforese, migram na posição de hemoglobina A. Nestes casos, para a caracterização destas hemoglobinas, usa-se outros processos eletroforéticos.

REAGENTES:

A - TAMPÃO TRIS-EDTA-BORATO (TEB) pH 8,5

Tris-hidroximetil-aminometano	10,2g
Ácido etileno diamino tetracético	0,6g
Ácido Bórico	3,2g
Água Destilada q.s.p.	1000ml



B - CORANTES:

NEGRO DE AMIDO:

Negro de Amido 10B	0,6g
Álcool Metílico	45ml
Ácido Acético Glacial	5ml
Água Destilada q.s.p.	100ml

PONCEAU:

Ponceau	0,5g
Ácido Tricloroacético	5,0g
Água Destilada q.s.p.	100ml

C - SOLUÇÃO DESCORANTE:

Ácido Acético Glacial	100ml
Metanol	50ml
Água Destilada q.s.p.	1000ml

PROCEDIMENTO:

- Embeber as fitas de acetato de celulose, no mínimo por 15 minutos e no máximo por 6 horas, em tampão TEB pH 8,5;
- Preparar o hemolisado - 1 gota de sangue total e 1 gota de saponina a 1%;
- Absorver o excesso de tampão nas fitas, colocando-as entre duas folhas de papel de filtro;

- Colocar as fitas no suporte da cuba eletroforética, conectando-as com os compartimentos eletrolíticos por meio de papel de filtro;

- Aplicar os hemolisados em estudo, utilizando aplicadores, cerca de 2 μ l de amostra, a 1,0cm da extremidade da fita que está em contato com o pólo negativo;

- Passar corrente elétrica de 250 Volts, por 30 a 40 minutos, à temperatura ambiente;

- Analisar as frações sem coloração e posteriormente corar com Negro de Amido ou Ponceau, embebendo as fitas em um dos corantes por 15 minutos. Para descorá-las, embebê-las na solução descorante por 30 minutos, com agitação da vasilha.

INTERPRETAÇÃO:

Consultar mapa de disposição de hemoglobinas em eletroforese alcalina (Figura 6).



2.2.2 - ELETROFORESE QUANTITATIVA EM ACETATO DE CELULOSE pH 8,6 (Dosagem de Hb A₂: Método de MARENGO - ROWE, 1965):

PRINCÍPIO:

O aumento de hemoglobina A₂, na grande maioria dos casos, está associada às talassemias beta heterozigotas. Porém, em algumas condições patológicas, muitas de origem adquirida, os níveis de hemoglobina A₂ estão acima dos normais.

REAGENTES:

São os mesmos utilizados na eletroforese em acetato de celulose pH 8,5 para análise qualitativa de hemoglobinas.

PROCEDIMENTO:

- Colocar as fitas de acetato de celulose no suporte da cuba eletroforética e aplicar 20µl de solução de hemoglobina, com concentração entre 8 e 12g%, por meio de pipeta de Shalli (fitas com 5,7cm de largura);

- Passar corrente elétrica de 300 Volts por 30 a 40 minutos, à temperatura ambiente;



- Após a separação das frações de hemoglobinas A_1 e A_2 , recortá-las com tesoura e eluí-las em tubos de ensaio contendo 15ml de água destilada - para hemoglobina A_1 , e 3ml de água destilada - para hemoglobina A_2 ;

- Deixar eluir por quatro a seis horas, com agitação periódica;

- Leitura e cálculo - ler as densidades ópticas (D.O.) em 415nm, usando água destilada como branco. Calcular os resultados utilizando a seguinte fórmula:

$$\%Hb A_2 = \frac{D.O. Hb A_2}{D.O. HbA_1 \times 5 + D.O. HbA_2} \times 100$$

INTERPRETAÇÃO:

Os valores normais de hemoglobina A_2 situam-se na faixa de 2,5 a 3,7%.

2.2.3 - ELETROFORESE DE DIFERENCIAÇÃO EM ÁGAR-FOSFATO pH 6,2 (Método de VELLA, 1968):

PRINCÍPIO:

A eletroforese em gel de ágar-fosfato, pH 6,2 é específica para diferenciar alguns tipos de hemoglobinas mais lentas que a hemoglobina A_1 , como por exemplo: Hb S e Hb D; Hb C e Hb E que, em eletroforese alcalina, migram em posições semelhantes, dificultando a caracterização. Por este

método, as hemoglobinas S e C se separam da hemoglobina A₁, enquanto que as hemoglobinas D e E migram na mesma posição que a hemoglobina A₁. Este método permite também a caracterização semi-quantitativa de hemoglobina Fetal.

REAGENTES:

A - TAMPÃO FOSFATO pH 6,2 (utilizado nos comparamentos eletrolíticos e na composição do gel de ágar)

Na_2HPO_4	2,02g
$\text{NaH PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	7,66g
Água Destilada q.s.p.	1000ml

B - GEL DE ÁGAR-FOSFATO

Ágar (Difco)	200mg
Tampão Fosfato pH 6,2	20ml

PROCEDIMENTO:

- Em um Erlenmeyer de 250ml aquecer os componentes do gel de ágar-fosfato até completa dissolução;
- Pipetar 3,5ml do gel em lâminas de microscópio e deixar gelificar à temperatura ambiente;
- Aplicar as amostras próximo à porção média da lâmina;



- Para conexão do gel com os compartimentos eletrolíticos usar folha de papel de filtro (Whatman);

- Passar corrente elétrica de 200 Volts, por 20 a 30 minutos, à temperatura ambiente;

- Remover as lâminas e corá-las com Negro de Amido ou Ponceau, por 20 minutos e, posteriormente, descorá-las com ácido acético 10%.

INTERPRETAÇÃO:

Consultar o mapa de disposição de hemoglobinas em eletroforese ácida (Figura 7).

2.2.4 - DOSAGEM DE HEMOGLOBINA FETAL (Método de BETKE e col., 1959):

PRINCÍPIO:

A hemoglobina Fetal é álcali-resistente, enquanto que as hemoglobinas A_1 , A_2 e os tipos anormais são facilmente desnaturáveis por soluções alcalinas.

Este método é sensível para detectar pequenas quantidades de hemoglobina Fetal. Concentrações acima de 1,0% refletem aumento de hemoglobina Fetal. Em sangue de cordão umbilical a quantidade de hemoglobina Fetal é



+
ORIGEN

S-C HARLEM

MONTGOMERY

KORLE BU-OARAB-RAINIER

A-D-E-G-MOST FAST MOVING Hb

CAMDEN

F-K WOOLWICH-HOPE

Figura 7 - Disposição das mobilidades dos tipos de hemoglobinas humanas que são diferenciáveis por eletroforese em ágar pH 6,2 (NAOUM, 1979).

de aproximadamente 70,0 a 90,0%. Em indivíduos com anemia de Cooley e Ferrara a taxa desta hemoglobina oscila entre 70,0 a 98,0%; na interação talassemia/anemia falciforme, o valor varia entre 0,5 a 21,2%. Em talassemia beta heterozigota a hemoglobina Fetal pode estar normal ou discretamente aumentada.

REAGENTES:

A - SOLUÇÃO DE FERRICIANETO DE POTÁSSIO (Drabkin)

Ferricianeto de Potássio	0,20g
Cianeto de Potássio	0,20g
Água Destilada q.s.p.	1000ml

B - SOLUÇÃO DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO 1,2N

Hidróxido de Sódio	48,00g
Água Destilada	1000ml

C - SOLUÇÃO SATURADA DE SULFATO DE AMÔNIO

Sulfato de Amônio	500g
Água Destilada q.s.p.	500ml

PROCEDIMENTO:

- Diluir 0,6ml da solução de hemoglobina em tubo contendo 10ml da solução de Drabkin;



- Colocar 5,6ml da solução de hemoglobina diluída em um tubo rotulado "Hb F". Adicionar 0,4ml da solução de hidróxido de sódio 1,2N e acionar o cronômetro. Agitar cuidadosamente por 10 segundos;

- Ao final de 2 minutos exatos, adicionar 4ml da solução saturada de sulfato de amônio. Homogeneizar por inversão e deixar em repouso por 5 a 10 minutos, no máximo;

- Filtrar o conteúdo do tubo "Hb F" em duplo papel de filtro (Whatman nº 44 S&S, ou Toyo);

- Preparar a solução padrão, colocando em um tubo de ensaio 1,4ml da solução de hemoglobina diluída, 0,6ml de água destilada e 2ml da solução saturada de sulfato de amônio. Transferir 1ml desta solução para outro tubo e juntar 9ml de solução de Drabkin. A solução de hemoglobina total é 10 vezes mais diluída que a solução de hemoglobina álcali-resistente;

- Ler a densidade óptica dos tubos padrão e Hb F em 540nm, usando solução de Drabkin como branco.

CÁLCULO:

$$\%Hb F = \frac{D.O. HbF}{D.O. Padrão \times 10} \times 100$$

INTERPRETAÇÃO:

Adultos normais apresentam valores entre 0,0 e 1,0% de hemoglobina Fetal.



2.2.5 - COLORAÇÃO INTRAERITROCITÁRIA DE HEMOGLOBINA FETAL (Método de KLEIHAUER, 1974):

PRINCÍPIO:

Esse método é baseado na diferença que existe na capacidade de dissociação das subunidades entre as hemoglobinas A e Fetal, em pH abaixo de 4,0. A hemoglobina Fetal é ácido-resistente com eritrosina ou similar, enquanto que outros tipos de hemoglobinas por serem eluídas não fixam o corante.

REAGENTES:

A - TAMPÃO CITRATO-FOSFATO pH 3,3

Ácido cítrico 0,1M 100ml

Fosfato di-sódio hidratado 0,2M 30ml

B - SOLUÇÃO AQUOSA DE ERITROSINA 0,1%

C - SOLUÇÃO DE ETANOL 80%

PROCEDIMENTO:

- Fazer esfregaços finos, obtidos de sangue sem anticoagulante, e fixá-los com etanol a 80% por 5 minutos.

Lavar, a seguir, com água corrente e secar ao ar;

- Introduzir os esfregaços em vasilha contendo tampão citrato-fosfato pH 3,3, previamente aquecido a 37°C, por 5 minutos. Lavar com água corrente e secar ao ar;

- Corar os esfregaços com solução aquosa de eritrosina por 2 a 5 minutos. Lavar com água corrente e secar ao ar;

- Examinar ao microscópio com aumento de 400X.

INTERPRETAÇÃO:

Os eritrócitos contendo a hemoglobina Fetal aparecem corados internamente, enquanto que os outros que não a contém permanecem sem coloração interna.

A coloração é homogênea quando todos os eritrócitos aparecem uniformemente corados e são encontrados em sangue de cordão umbilical, em recém-nascidos e nos portadores de Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF).

A coloração é heterogênea quando existem duas populações eritrocitárias distintas, ou seja, uma corada e outra sem coloração, e esses casos são característicos da talassemia beta maior.

2.2.6 - PESQUISA DE AGREGADOS DE HEMOGLOBINA H

(Método de PAPAYANNOPOULOS & STAMATAYANNOPOULOS, 1974):

PRINCÍPIO:

Os corpos de inclusão de hemoglobina H são formados por cadeias beta, oriundas da desnaturação do tetrâmero. Após coloração estes corpúsculos apresentam-se dispostos homogeneamente no interior dos eritrócitos, como pequenos pontos azulados.

REAGENTES:

A - SOLUÇÃO SALINA

Cloreto de Sódio	0,9g
Água Destilada q.s.p.	100ml

B - SOLUÇÃO CITRATO

Citrato de Sódio	2,2g
Água Destilada q.s.p.	100ml

C - SOLUÇÃO AZUL CREZIL BRILHANTE

Azul Crezil Brilhante	1,0g
Solução Salina	100ml
Solução Citrato	25ml



PROCEDIMENTO:

- Colocar 50µl de sangue total em tubo de ensaio pequeno e adicionar 50µl de solução de Azul Crezil Brilhante. Agitar o tubo suavemente;
- Incubar o material a 37°C por 30 minutos;
- Fazer esfregaços finos e examinar ao microscópio em objetiva de imersão.

INTERPRETAÇÃO:

A presença de hemoglobina H nos eritrócitos aparece como fina granulação distribuída homogeneamente e com cor azul-pálida, assemelhando-se a uma "bola de golfe". Geralmente se considera positivo o caso que mostra pelo menos três ou mais células bem características.

2.2.7 - ELETROFORESE DE CADEIAS POLIPEPTÍDICAS

(Método de SCHNEIDER, 1974):

PRINCÍPIO:

A aplicação desse método é útil na qualificação de hemoglobinas anormais que não puderam ser caracterizadas pelos métodos já descritos. Esta eletroforese é seguida da separação prévia dos grupos heme das globinas pela



ação do 2-mercaptoetanol e da separação das cadeias tipo alfa e beta pela ação da uréia.

REAGENTES:

A - TAMPÃO TRIS-EDTA-BORATO (TEB) pH 8,4

SOLUÇÃO ESTOQUE

Tris-hidroximetil-aminometano	10,2g
Ácido etileno diamino tetracético	0,6g
Ácido Bórico	3,2g
Água Destilada q.s.p.	1000ml

B - TAMPÃO TEB/URÉIA

Uréia	144g
Tampão TEB q.s.p.	280ml

*Deve ser preparado momentos antes do uso.

C - 2-MERCAPTOETANOL

D - COLORAÇÃO

Solução Ponceau	0,5g
Ácido Tricloroacético 5% q.s.p.	100ml

E - DESCOLORAÇÃO

Ácido Acético 5%



PROCEDIMENTO:

- Diluir 50 μ l do hemolisado em 50 μ l do tampão TEB e 50 μ l de 2-mercaptoetanol. Agitar por inversão e incubar, à temperatura ambiente, por 30 minutos;

- Adicionar 3,2ml de 2-mercaptoetanol ao tampão restante e embeber as fitas de acetato de celulose na mistura por 30 minutos;

- Colocar 50ml do tampão acima em cada compartimento da cuba;

- Enxugar as fitas de acetato de celulose entre duas folhas de papel absorvente;

- Colocar as fitas no suporte da cuba de eletroforese, conectando-as aos compartimentos eletrolíticos, usando triplo papel de filtro Whatman 1,0mm ou "perfer". Aplicar 2 a 3 μ l da amostra na região central da fita;

- Cobrir a cuba e passar 150 Volts por 80 minutos;

- Corar com solução Ponceau 0,5% por 15 minutos e descorar com solução de ácido acético 5%.

INTERPRETAÇÃO:

Consultar mapa de disposição das cadeias

polipeptídicas de hemoglobinas normais e anormais no sistema alcalino (Figura 8).



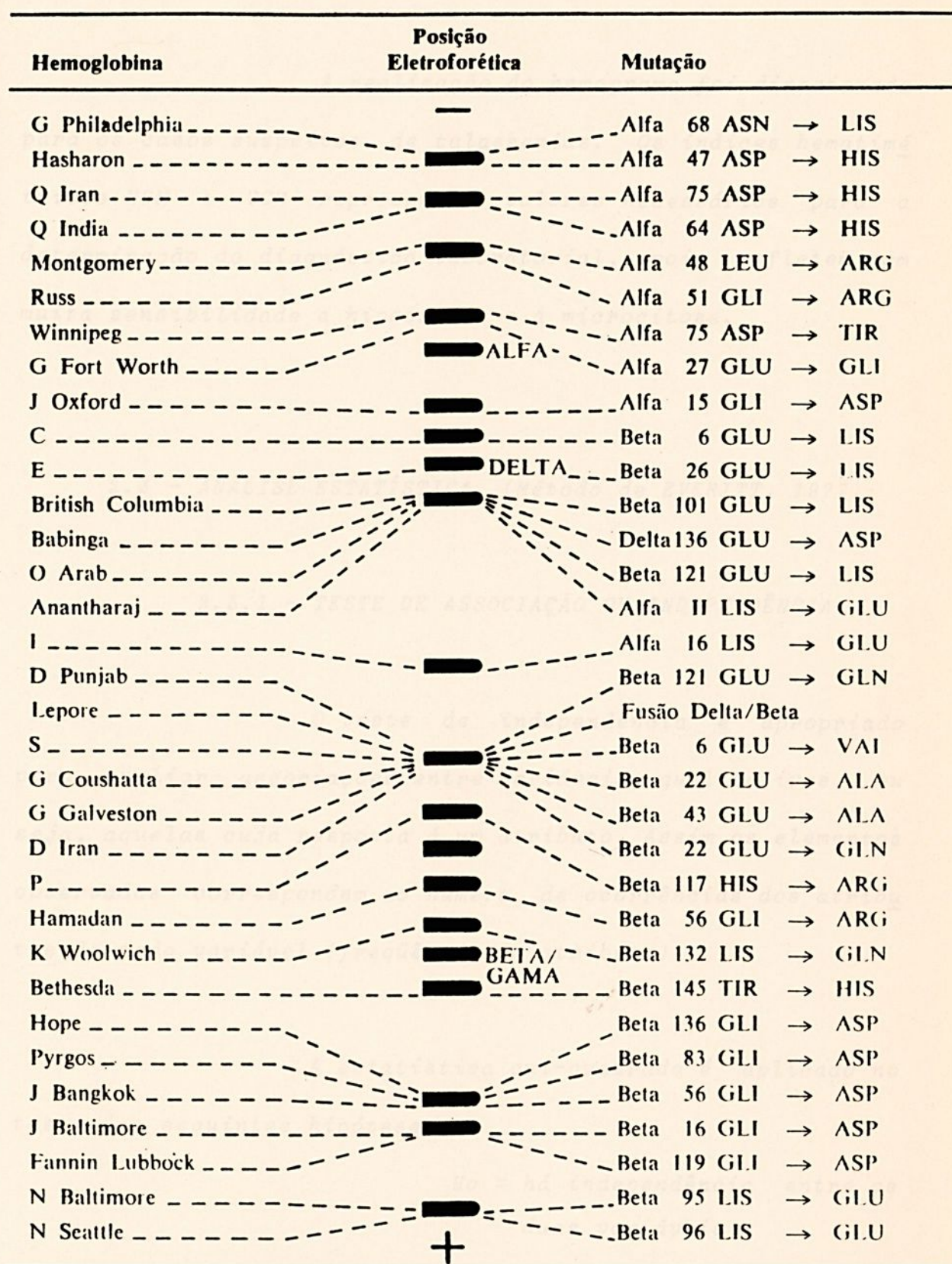


FIGURA 08 — Disposição eletroforética das cadeias polipeptídicas de 33 hemoglobinas variantes em eletroforese de acetato de celulose pH 8,5. Mobilidades estimadas em comparação com as cadeias alfa, beta, gama e delta normais. (NAOUM, 1987).

2.2.8 - HEMOGRAMA:

A realização do hemograma foi direcionada para os casos suspeitos de talassemias. Os índices hematimétricos HCM e VCM representam valores necessários para a determinação do diagnóstico laboratorial, pois refletem com muita sensibilidade a hipocromia e a microcitose.

2.3 - ANÁLISE ESTATÍSTICA (Método de EVERITT, 1977):

2.3.1 - TESTE DE ASSOCIAÇÃO OU INDEPENDÊNCIA:

O teste de independência é apropriado para avaliar associações entre variáveis qualitativas, ou seja, aquelas cuja resposta é um atributo. Assim os elementos observados correspondem ao número de ocorrências dos atributos de cada variável (frequência do atributo).

A estatística qui-quadrado é aplicado no teste das seguintes hipóteses:

H_0 = há independência entre as
duas variáveis

contra

H_1 = há associação entre as
duas variáveis.



A finalidade no cálculo de qui-quadrado é quantificar descritivamente o grau de dependência entre as duas variáveis confrontadas

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^l \sum_{j=1}^c \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

onde, o_{ij} é a freqüência observada na linha i e coluna j da tabela e e_{ij} é a freqüência esperada na linha i e coluna j da tabela, sob hipótese de independência. Quanto maior for o valor de qui-quadrado, mais o observado se distancia do esperado e maior é a dependência entre as variáveis.

A estatística χ^2 tem distribuição qui-quadrado com $(l-1).(c-1)$ graus de liberdade, no qual l e c correspondem aos números de atributos das variáveis confrontadas, onde l é o número de atributos da 1ª variável (n^o linhas) e c é o número de atributos da 2ª variável (n^o colunas).

2.3.2 - REGRA DE DECISÃO:

Para um valor de alfa fixado de 5%, a rejeição da hipótese de independência se verifica a medida que aumenta o valor de qui-quadrado, e conseqüentemente diminui a probabilidade de significância, sendo inferior ao nível alfa de 5%.

IV - RESULTADOS

1 - TIPOS DE HEMOGLOBINAS IDENTIFICADAS

A aplicação do método de eletroforese seletiva para o estudo de tipos de hemoglobinas de 4.124 indivíduos permitiu a observação de 171 amostras com mobilidades eletroforéticas alteradas. Análises posteriores realizadas com o emprego de métodos eletroforéticos de qualificação e quantificação, dosagens bioquímicas e técnicas citológicas, confirmaram que as 171 amostras (4,15%) apresentaram hemoglobinas com alterações qualitativas e/ou quantitativas.

A aplicação dos vários métodos utilizados nesse trabalho, tornou possível a identificação de oito fenótipos de hemoglobinas, a saber: AA, AS, AC, A₂, aumentado, PHHF, AD, AJ e talassemia alfa. Os indivíduos foram diferenciados por suas origens raciais especificadas por caucasóides e negróides, sendo que a relação entre portador de hemoglobina anormal e habitante foi de 1:12 entre os negróides e 1:36 entre os caucasóides, excetuando os casos de talassemia alfa. Encontra-se uma distribuição mais pormenorizada desses resultados na Tabela 1.



Tabela 1: Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 4.124 pessoas nas cidades de Uberlândia, Uberaba, Ituiutaba, Araxá, Iturama e Frutal localizadas no Triângulo Mineiro, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais					
				AS	AC	A ₂ †	PHHF	AD	AJ
Caucasóides									
Nº	2.998	2.916	82	51	16	11	2	1	1
%	*72,70	97,26	2,74	1,71	0,54	0,37	0,06	0,03	0,03
Negróides									
Nº	1.126	1.037	89	74	9	4	2	-	-
%	*27,30	92,10	7,90	6,57	0,80	0,35	0,18	-	-
Total Geral									
Nº	4.124	3.953	171	125	25	15	4	1	1
%	100,00	95,85	4,15	3,03	0,61	0,37	0,10	0,02	0,02

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha.

A talassemia alfa foi pesquisada em 326 amostras de sangue das 3.386 coletadas nas cidades de Araxá, Uberaba, Uberlândia e Ituiutaba (Tabela 2), apresentando uma frequência de 5,52%, distribuída entre as seguintes alterações: talassemia alfa (3,07%), talassemia alfa associada à Hb AS (1,84%) e talassemia alfa associada à Hb AC (0,61%). A pesquisa da talassemia alfa somente não foi realizada nas populações das cidades de Iturama e Frutal devido ao fato das coletas terem sido feitas em tubos capilares e em quantidades que permitiram apenas realizar eletroforeses qualitativas e quantitativas, testes de resistência globular em NaCl 0,36% e morfologia eritrocitária.

Para confirmação da talassemia alfa e sua interação com as hemoglobinas variantes AS e AC, detectada previamente pela presença de Hb H em eletroforeses seletiva e em acetato de celulose pH 8,6 utilizamos a pesquisa de corpos de inclusões de Hb H, hemograma e eletroforese em gel de ágar pH 6,2.

A prevalência de talassemia alfa e suas diferentes interações nas 4 cidades estudadas, apresentou índices heterogêneos, os quais são mostrados na Tabela 2 por ordem decrescente de frequência. Em Araxá foi observada a maior frequência de alterações (11,76%), sendo 5,88% para talassemia alfa/HbAS, com uma prevalência maior entre os



Tabela 2 - Prevalência de talassemia alfa (α), em 326 pessoas das cidades de Araxá, Uberaba, Uberlândia e Ituiutaba, diferenciadas por cor de pele:

Cidades	Total analisada		Total normal		Total anormal		Tal. alfa		Tal. α /AS		Tal. α /AC	
	Nº	%*	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
ARAXÁ												
Caucasóides	25	7,67	23	92,00	2	8,00	1	4,00	1	4,00	-	-
Negróides	26	7,97	22	84,62	4	15,38	2	7,69	2	7,69	-	-
TOTAL	51	15,64	45	88,24	6	11,76	3	5,88	3	5,88	-	-
UBERABA												
Caucasóides	39	11,96	36	92,32	3	7,68	1	2,56	1	2,56	1	2,56
Negróides	23	7,05	20	86,96	3	13,04	2	8,69	-	-	1	4,35
TOTAL	62	19,01	56	90,32	6	9,68	3	4,84	1	1,61	2	3,23
UBERLÂNDIA												
Caucasóides	77	23,62	75	97,40	2	2,60	2	2,60	-	-	-	-
Negróides	69	21,16	66	95,65	3	4,35	1	1,45	2	2,90	-	-
TOTAL	146	44,78	141	96,58	5	3,42	3	2,05	2	1,37	-	-
ITUIUTABA												
Caucasóides	45	13,80	45	100,00	-	-	-	-	-	-	-	-
Negróides	22	6,75	21	95,45	1	4,55	1	4,55	-	-	-	-
TOTAL	67	20,55	66	98,50	1	1,50	1	1,50	-	-	-	-
Caucasóides	186	57,06	179	96,24	7	3,76	4	2,15	2	1,07	1	0,57
Negróides	140	42,94	129	92,14	11	7,86	6	4,28	4	2,86	1	0,72
TOTAL GERAL	326	100,00	308	94,48	18	5,52	10	3,07	6	1,84	2	0,61

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha.

negróides. Na cidade de Uberaba, verificou-se que 4,84% das amostras analisadas eram positivas para talassemia alfa, sendo 1,61% para talassemia alfa/HbAS e 3,23% para talassemia alfa/HbAC, com maior freqüência entre os negróides. Em Uberlândia observou-se que 3,42% da população analisada apresentaram alterações, sendo 2,05% para talassemia alfa e 1,37% para talassemia alfa/HbAS, com uma maior prevalência entre os caucasóides na interação talassemia alfa com Hb AS. Em Ituiuba detectou-se apenas um caso de talassemia alfa (1,50%) em uma criança negróide.

Na Tabela 3 observa-se que a diferença entre as freqüências de talassemia alfa, nos caucasóides e negróides, não foi significativa.

2 - CARACTERIZAÇÃO LABORATORIAL DE HEMOGLOBINOPATIAS

RARAS:

2.1 - HEMOGLOBINA D

Uma amostra com Hb AD detectada em um indivíduo caucasóide na cidade de Uberlândia foi submetida a vários métodos específicos de caracterização bioquímica.



Tabela 3 - Estudo da associação entre raças e presença de talassemia alfa, em 326 pessoas das cidades de Araxá, Uberaba, Uberlândia e Ituiutaba:

Raças	Talassemia Alfa		Total
	Presença	Ausência	
Caucasóides	7 (0,038)	179 (0,962)	186
Negróides	11 (0,079)	129 (0,921)	140
Total Geral	18 (0,055)	308 (0,945)	326

$$X^2 = 2,566$$

$$P = 0,109$$

Comentário: Não há diferença significativa entre as frequências de talassemia alfa nos dois grupos raciais.

A distinção entre hemoglobinas D e S cujas posições são similares em eletroforese alcalina, foi realizada por meio de eletroforeses em ágar pH 6,2 que as diferenciam. Esta amostra foi submetida também a eletroforeses de cadeias pH 8,6 apresentando mobilidade padrão de hemoglobinopatia tipo D com alteração de cadeia beta.

2.2 - HEMOGLOBINA J

O caso de Hb J encontrado em uma criança caucasóide, na cidade de Araxá, inicialmente identificado como mutante de cadeias alfa, pelo aparecimento de duas frações de hemoglobinas de concentrações menores (Hb A₂ e Hb J₂) por eletroforese em acetato de celulose pH 8,6. A diferenciação entre Hb J e outras hemoglobinas anormais com migrações ligeiramente mais rápidas que a Hb A₁ (Ex: Hb K, Hopkins-2, Hofu, etc.) foi realizada por meio de eletroforese de cadeias polipeptídicas, em acetato de celulose pH 8,6 (Figuras 9.a e 9.b), cuja disposição foi similar à Hb J Oxford ($\alpha 15\text{Gly} \rightarrow \text{Asp}$).

2.3 - PERSISTÊNCIA HEREDITÁRIA DE HEMOGLOBINA FETAL

O estabelecimento do diagnóstico da PHHF identificada em quatro amostras, na cidade de Uberlândia, foi

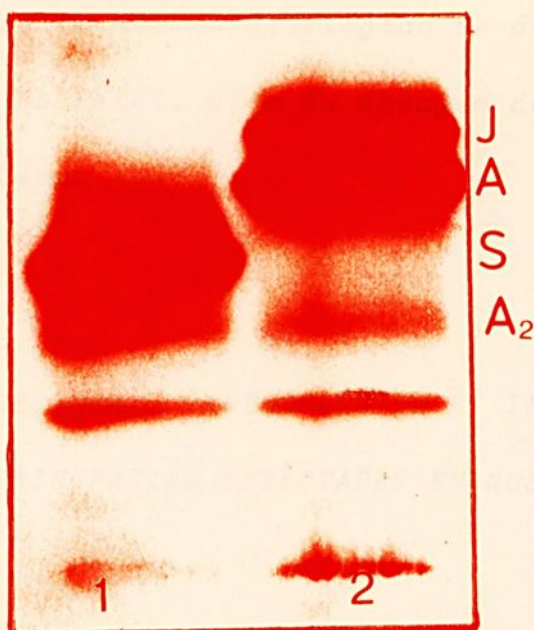


Figura 9.a - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose pH 8,6: (1) padrão de Hb SS, com Hb Fetal aumentada; (2) Hb AJ identificada em amostra proveniente da cidade de Araxá.

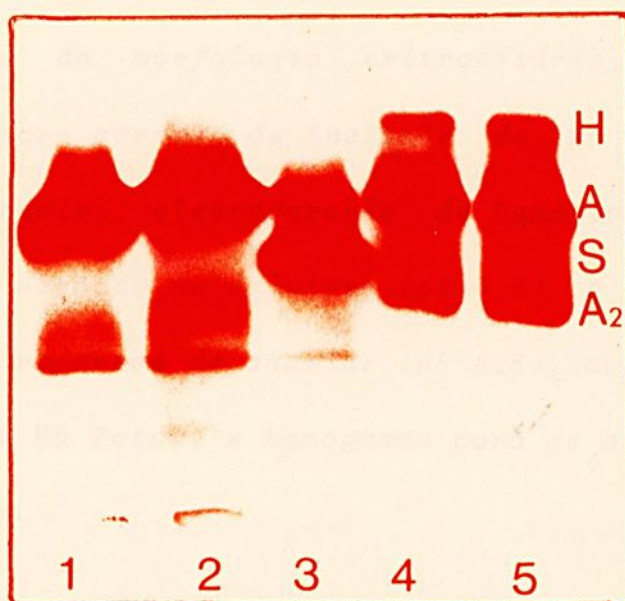


Figura 9.b - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose pH 8,6: (1) Hb AA; (2) Hb AA, com Hb A₂ aumentada; (3) padrão de Hb SS/Tal. beta; (4) e (5) amostras com Hb AH identifificadas no presente trabalho.

realizado por meio do método citológico de distribuição intraeritrocitária de Hb Fetal, além da dosagem de hemoglobina com resistência alcalina.

3 - ESTABELECIMENTO METODOLÓGICO E INTERPRETATIVO DAS HEMOGLOBINOPATIAS DETECTADAS EM NOSSO MEIO

A diversidade de hemoglobinopatias, diagnosticada durante o processo técnico desse trabalho, permitiu qualificar os métodos essenciais para as suas identificações e caracterizações estruturais. Dessa forma, foram utilizados onze métodos: resistência globular osmótica em NaCl 0,36%, análise da morfologia eritrocitária, diferenciações citológicas para corpos de inclusão de Hb H e Hb Fetal intraeritrocitária, eletroforeses de hemoglobinas em gel de ágar-amido e acetato de celulose (pH 8,6) e em ágar-fosfato (pH 6,2), eletroforese de cadeias (pH 8,6), dosagens bioquímicas de Hb A₂ e Hb Fetal, e hemograma para os casos suspeitos de talassemias.

Por meio da utilização dos métodos descritos acima, foi possível diagnosticar laboratorialmente as hemoglobinas normais, talassemia alfa e diversos tipos de variantes estruturais.



4 - DISTRIBUIÇÃO DE TIPOS DE HEMOGLOBINOPATIAS POR CIDADES, IDADES E SEXOS NAS POPULAÇÕES TOTAL ANALISADA, CAUCASÓIDE E NEGRÓIDE

As Tabelas 4 a 9 apresentam as prevalências das hemoglobinas, entre caucasóides, negróides e população total, encontradas em cada cidade selecionada para este estudo: Uberlândia, Uberaba, Ituiutaba, Araxá, Iturama e Frutal, citadas conforme a ordem decrescente da população de cada uma e o número de amostras de sangue coletado. Os resultados expostos nestas Tabelas permitem avaliar as prevalências de hemoglobinas anormais, por cidade, os quais mostram uma distribuição heterogênea destas alterações em cada cidade selecionada. A cidade de Ituiutaba foi a que apresentou porcentagem menor que 2,0% de hemoglobinopatias e também o menor número de fenótipos (AS e AC), enquanto as cidades de Iturama e Frutal apresentaram 2,39 e 2,82%, respectivamente. Já as cidades de Araxá e Uberlândia tiveram um índice maior que 4,0% e Uberaba acima de 5,0%. Em Uberlândia foi onde se verificou o maior número de fenótipos diferentes (AS, AC, A₂ aumentado, PHHF e AD).

Em conjunto, essas prevalências foram maiores entre os negróides que entre os caucasóides em todas estas cidades, mas essa diferença foi estatisticamente significativa apenas nas cidades de Araxá e Uberlândia. Entre os



Tabela 4: Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 1.357 pessoas da cidade de Uberlândia, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais				
				AS	AC	A ₂ †	PHHF	AD
Caucasóides								
Nº	861	844	17	8	5	1	2	1
%	*63,45	98,03	1,97	0,93	0,58	0,12	0,22	0,12
Negróides								
Nº	496	447	49	38	5	4	2	-
%	*36,55	90,12	9,88	7,66	1,01	0,81	0,40	-
Total Geral								
Nº	1.357	1.291	66	46	10	5	4	1
%	100,00	95,14	4,86	3,39	0,74	0,37	0,29	0,07

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha

Tabela 5 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 973 pessoas da cidade de Uberaba, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais		
				AS	AC	A ₂ †
Caucasóides						
Nº	753	715	38	28	7	3
	*77,39	94,95	5,05	3,72	0,93	0,40
Negróides						
Nº	220	202	18	15	3	-
%	*22,61	91,82	8,18	6,82	1,36	-
Total Geral						
Nº	973	917	56	43	10	3
%	100,00	94,25	5,75	4,42	1,02	0,31

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha



Tabela 6 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 537 pessoas da cidade de Ituiutaba, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais	
				AS	AC
Caucasóides					
Nº	365	361	4	2	2
%	*68,00	98,90	1,10	0,55	0,55
Negróides					
Nº	172	167	5	4	1
%	*32,00	97,10	2,90	2,32	0,58
Total Geral					
Nº	537	528	9	6	3
%	100,00	98,32	1,68	1,12	0,56

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha



Tabela 7 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 519 pessoas da cidade de Araxá, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais		
				AS	A ₂ †	AJ
<i>Caucasóides</i>						
Nº	357	350	7	4	2	1
%	*68,79	98,04	1,96	1,12	0,56	0,28
<i>Negróides</i>						
Nº	162	148	14	14	-	-
%	*31,21	91,36	8,64	8,64	-	-
<i>Total Geral</i>						
Nº	519	498	21	18	2	1
%	100,00	95,95	4,05	3,47	0,38	0,19

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha

Tabela 8 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 419 pessoas da cidade de Iturama, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais		
				AS	A ₂ †	AC
<i>Caucasóides</i>						
Nº	359	351	8	5	2	1
%	*85,68	97,77	2,23	1,39	0,56	0,28
<i>Negróides</i>						
Nº	60	58	2	2	—	—
%	*14,32	96,66	3,34	3,34	—	—
<i>Total Geral</i>						
Nº	419	409	10	7	2	1
%	100,00	97,61	2,39	1,67	0,48	0,24

*Porcentuais por coluna e os restantes por linha

Tabela 9 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, em 319 pessoas da cidade de Frutal, diferenciadas por cor de pele:

População	Total analisada	Total Hb normal	Total Hb anormal	Tipos de Hemoglobinas Anormais		
				AS	A ₂ †	AC
Caucasóides						
Nº	303	295	8	4	3	1
%	*94,98	97,36	2,64	1,32	0,99	0,33
Negróides						
Nº	16	15	1	1	-	-
%	*5,02	93,75	6,25	6,25	-	-
Total Geral						
Nº	319	310	9	5	3	1
%	100,00	97,18	2,82	1,57	0,94	0,31

**Porcentuais por coluna e os restantes por linha*



caucasóides nas seis cidades, Uberaba apresentou o maior percentual (5,05%) e Ituiutaba o menor (1,10%) de hemoglobinas anormais, enquanto que entre os negróides, Uberlândia apresentou a maior prevalência (9,88%) e Ituiutaba a menor (2,90%), dessas alterações. Observa-se que a cidade de Ituiutaba foi a que apresentou o menor índice de hemoglobinopatias, tanto entre os caucasóides, quanto entre os negróides. Dentre os negróides, na população total, foi observado que 7,90% são portadores de hemoglobinas anormais e entre os caucasóides 2,74%; esse resultado mostra um valor cerca de três vezes maior entre os negróides, dessas alterações hereditárias, quando comparado com os caucasóides, sendo essa diferença estatisticamente significativa, conforme pode ser verificado na Tabela 10.

Entre as hemoglobinas anormais a Hb AS foi o fenótipo mais freqüente em todas as cidades estudadas, tanto entre os negróides, quanto entre os caucasóides. Em função do baixo número de ocorrência das hemoglobinopatias AC, A₂ aumentada, PHHF, AD e AJ, e pelo fato delas não terem sido detectadas em todas as cidades, estas hemoglobinopatias foram agrupadas como sendo outros tipos de hemoglobinas anormais, para verificar uma possível associação entre a origem racial e os tipos de hemoglobinopatias. Através de análises estatísticas foi observado que existe uma forte associação, entre a origem racial e os tipos de hemoglobinas



Tabela 10 - Prevalência de hemoglobinas anormais entre caucasóides e negróides, valores de χ^2 e probabilidade de significância, por cidade:

Cidades	Caucasóides				Negróides				χ^2	Probab. de Signif.
	Hb Normal		Hb Anormal		Hb Normal		Hb Anormal			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Uberlândia	844	98,03	17	1,97	447	90,12	49	9,88	42,496	< 0,050(S)
Uberaba	715	94,95	38	5,05	202	91,82	18	8,18	3,086	0,079(NS)
Ituiutaba	361	98,90	4	1,10	167	97,10	5	2,90	2,327	0,127(NS)
Araxá	350	98,04	7	1,96	148	91,36	14	8,64	12,812	< 0,050(S)
Iturama	351	97,77	8	2,23	58	96,66	2	3,34	0,296	0,604(NS)
Frutal	295	97,36	8	2,64	15	93,75	1	6,25	0,722	0,395(NS)
Total	2.916	97,26	82	2,74	1.037	92,10	89	7,90	55,026	< 0,050(S)

S = Diferença estatisticamente significativa a 5,0%

NS = Diferença estatisticamente não significativa a 5,0%

anormais, e que prevaleceu nos negróides (83,15%) sobre os caucasóides (62,20%), sendo esta diferença estatisticamente significativa ($\chi^2 = 9,527$; $P < 0,002$). O mesmo comportamento pode ser observado na cidade de Uberlândia ($\chi^2 = 5,556$; $P < 0,018$), enquanto que nas outras cidades não foi possível fazer a análise estatística. Estes dados podem ser observados na Tabela 11.

As 4.124 amostras foram separadas em cinco classes etárias; a saber: a) 0 a 10 anos, b) 11 a 20 anos, c) 21 a 30 anos, d) 31 a 40 anos, e) 41 a 50 anos e f) acima de 50 anos. A Tabela 12 apresenta as distribuições das prevalências das hemoglobinas anormais nos caucasóides e negróides por classe etária. Os resultados indicaram maior frequência de hemoglobinopatias na classe etária de 21 a 30 anos (5,15%), ao se considerar os valores somados de caucasóide e negróide (Total de Hb anormal), seguida das classes de 31 a 40 anos, de 11 a 20 anos, de 41 a 50 anos e de 0 a 10 anos. A menor frequência foi obtida na classe etária acima de 50 anos (2,10%). As análises das prevalências de hemoglobinas anormais, especificamente para cada classe etária, comparando os grupos raciais estudados, indicaram o predomínio das frequências do grupo negróide sobre os caucasóides, em todas as classes. A classe etária que apresentou maior prevalência de hemoglobinas anormais entre os caucasóides foi a de 11 a 20 anos (3,48%), enquanto que nos negróides foi a de 21 a 30 anos (10,25%).

Tabela 11 - Valores de qui-quadrado (χ^2) e probabilidade de significância na verificação da associação entre a origem racial e os tipos de hemoglobinas anormais, por cidade:

Cidades	Caucasóides				Negróides				χ^2	Probab. de Signif.
	HbAS		Outras Hb		HbAS		Outras Hb			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%		
Uberlândia	8	47,06	9	52,94	38	77,55	11	22,45	5,556	0,018 (S)
Uberaba	28	73,68	10	26,32	15	83,33	3	16,67	-	-
Ituiutaba	2	50,00	2	50,00	4	80,00	1	20,00	-	-
Araxá	4	57,14	3	42,86	14	100,00	-	-	-	-
Iturama	5	62,50	3	37,50	2	100,00	-	-	-	-
Frutal	4	50,00	4	50,00	1	100,00	-	-	-	-
Total Geral	51	62,20	31	37,80	74	83,15	15	16,85	9,527	0,002 (S)

S = Diferença estatisticamente significativa a 5,0%

Tabela 12 - Distribuição dos indivíduos portadores de hemoglobinas normais e anormais, em caucasóides e negróides, por classe etária na população total:

Classe etária (anos)	Total analisado	Total de Hb anormal		Caucasóides			Negróides		
		Nº	%	Total analisado	Nº	%	Total analisado	Nº	%
0 a 10	293	7	2,39	207	3	1,45	86	4	4,65
11 a 20	1.336	59	4,41	1.006	35	3,48	330	24	7,27
21 a 30	913	47	5,15	640	19	2,97	273	28	10,25
31 a 40	735	35	4,76	528	16	3,03	207	19	9,18
41 a 50	419	14	3,34	305	7	2,29	114	7	6,14
> de 50	428	9	2,10	312	2	0,64	116	7	6,03
Total Geral	4.124	171	4,15	2.998	82	2,74	1.126	89	7,90



A análise estatística da associação entre classes etárias e presença de hemoglobinopatias na população total, na caucasóide e na negróide mostrou resultados não significativos, como pode ser verificado através das Tabelas 13, 14 e 15, respectivamente.

A distribuição da prevalência dos fenótipos para hemoglobinas normais e anormais, por sexo e cor da pele, na população total, pode ser observada na Tabela 16. Os fenótipos A_2 aumentado, PHHF, AD e AJ foram agrupados pelo fato dos mesmos não se encontrarem bem distribuídos e apresentarem uma frequência muito baixa entre os indivíduos masculinos e femininos. Pode ser analisado através desta Tabela que o fenótipo AS foi mais freqüente entre os caucasóides femininos e negróides masculinos, enquanto que os outros fenótipos (A_2 , $\uparrow$, PHHF, AD e AJ) foram mais freqüentes entre os caucasóides masculinos e com frequências semelhantes entre os caucasóides e negróides femininos. Já os fenótipos AA (normal) e AC apresentaram uma distribuição equivalente entre os caucasóides e negróides de ambos os sexos.

Quando se analisa estatisticamente a associação entre sexos e presença de hemoglobinopatias nas populações total, caucasóide e negróide, observa-se que apenas os resultados na população total foram estatisticamente significativos (Tabela 17), enquanto que nas populações caucasóide e



Tabela 13 - Estudo da associação entre classes etárias e presença de hemoglobinopatias, na população total:

Classe etária (anos)	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
0 a 10	7 (0,024)	286 (0,976)	293
11 a 20	59 (0,044)	1.277 (0,956)	1.336
21 a 30	47 (0,052)	866 (0,948)	913
31 a 40	35 (0,048)	700 (0,952)	735
41 a 50	14 (0,033)	405 (0,967)	419
> de 50	9 (0,021)	419 (0,979)	428
Total Geral	171 (0,042)	3.953 (0,958)	4.124

$$\chi^2 = 10,706$$

$$P = 0,058$$

Comentário: Estatisticamente não há associação entre hemoglobinopatias e classe etária, na população total.

Tabela 14 - Estudo da associação entre classes etárias e presença de hemoglobinopatias, na população caucasóide:

Classe etária (anos)	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
0 a 10	3 (0,014)	204 (0,986)	207
11 a 20	35 (0,035)	971 (0,965)	1.006
21 a 30	19 (0,030)	621 (0,970)	640
31 a 40	16 (0,030)	512 (0,970)	528
40 a 50	7 (0,023)	298 (0,977)	305
> de 50	2 (0,006)	310 (0,994)	312
Total Geral	82 (0,027)	2.916 (0,973)	2.998

$$\chi^2 = 9,049$$

$$P = 0,107$$

Comentário: Estatisticamente não há associação entre hemoglobinopatias e classe etária na população caucasóide.

Tabela 15 - Estudo da associação entre classes etárias e presença de hemoglobinopatias na população negróide:

Classe etária (anos)	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
0 a 10	4 (0,047)	82 (0,953)	86
11 a 20	24 (0,072)	306 (0,928)	330
21 a 30	28 (0,103)	245 (0,897)	273
31 a 40	19 (0,092)	188 (0,908)	207
41 a 50	7 (0,061)	107 (0,939)	114
> de 50	7 (0,060)	109 (0,940)	116
Total Geral	89 (0,079)	1.037 (0,921)	1.126

$$\chi^2 = 5,012$$

$$P = 0,414$$

Comentário: Estatisticamente não há associação entre hemoglobinopatias e classe etária na população negróide.

Tabela 16 - Distribuição da prevalência dos fenótipos para hemoglobinas AA; AS; AC e outros tipos (A_2^+ , PHHF, AD e AJ) por sexo e cor da pele, na população total:

Fenótipos	Sexo Masculino					Sexo Feminino				
	Total	Caucasóides		Negróides		Total	Caucasóides		Negróides	
	Nº	Nº	%	Nº	%	Nº	Nº	%	Nº	%
AA	2.544	1.831	72,00	713	28,00	1.409	1.085	77,00	324	33,00
AS	97	37	38,14	60	61,86	28	14	50,00	14	50,00
AC	17	11	64,70	6	35,30	8	5	62,50	3	37,50
OUTROS	15	12	80,00	3	20,00	6	3	50,00	3	50,00
Total Geral	2.673	1.891	70,74	782	29,26	1.451	1.107	76,29	344	23,71

Tabela 17 - Estudo da associação entre sexos e hemoglobinopatias, na população total:

Sexos	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
Masculino	129 (0,048)	2.544 (0,952)	2.673
Feminino	42 (0,030)	1.409 (0,970)	1.451
Total Geral	171 (0,042)	3.953 (0,958)	4.124

$$X^2 = 8,828$$

$$P = 0,003$$

Comentário: Existe diferença estatisticamente significativa entre as frequências de hemoglobinopatias nos sexos masculino e feminino, na população total; provavelmente houve interferência do número de indivíduos masculinos.

negróide não existe associação entre sexos e presença de hemoglobinas anormais. O estudo desta associação, nas populações caucasóide e negróide, é mostrado nas Tabelas 18 e 19, respectivamente.

5 - RELAÇÃO ENTRE PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS E PROVENIÊNCIA DAS AMOSTRAS DE SANGUE (BANCO DE SANGUE E ESCOLAS)

A coleta das amostras de sangue, em Bancos de Sangue, foi realizada nas cidades de Araxá, Ituiutaba, Uberaba e Uberlândia, enquanto que a coleta feita em Escolas foi nas cidades de Frutal e Iturama. A distribuição das freqüências das hemoglobinas nas populações total, caucasóide e negróide, de acordo com a proveniência da coleta, está representada na Tabela 20. Nos indivíduos caucasóides a freqüência de hemoglobinas anormais foi praticamente a mesma, tanto nas amostras coletadas em doadores de sangue quanto naquelas coletadas em escolares. Entretanto, nos negróides esta freqüência foi superior nas amostras provenientes de Bancos de Sangue. A associação entre presença de hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue nas populações total, caucasóide e negróide está representada nas Tabelas 21, 22 e 23, respectivamente.



Tabela 18 - Estudo da associação entre sexos e hemoglobinopatias, na população caucasóide:

Sexos	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
Masculino	60 (0,032)	1.831 (0,968)	1.891
Feminino	22 (0,020)	1.085 (0,980)	1.107
Total Geral	82 (0,027)	2.916 (0,973)	2.998

$$X^2 = 3,689$$

$$P = 0,055$$

Comentário: As análises estatísticas mostram que não existe associação entre sexos e hemoglobinopatias, na população caucasóide.

Tabela 19 - Estudo da associação entre sexos e hemoglobinopatias, na população negróide:

Sexos	Hemoglobinopatias		Total
	Presença	Ausência	
Masculino	69 (0,088)	713 (0,912)	782
Feminino	20 (0,058)	324 (0,942)	344
Total Geral	89 (0,079)	1.037 (0,921)	1.126

$$\chi^2 = 2,973$$

$$P = 0,085$$

Comentário: As análises estatísticas mostram que não existe associação entre sexos e hemoglobinopatias, na população negróide.

Tabela 20 - Distribuição das frequências de hemoglobinas normais e anormais, de acordo com a proveniência da coleta das amostras de sangue nas populações total, caucasóide e negróide:

Proveniência das amostras de sangue	Total Analisada				Total Hb Normal				Total Hb Anormal			
	Caucasóide		Negróide		Caucasóide		Negróide		Caucasóide		Negróide	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Banco de Sangue	2.336	77,92	1.050	93,25	2.270	97,17	964	91,80	66	2,83	86	8,20
Escolas 2º Grau	662	22,08	76	6,75	646	97,58	73	96,00	16	2,42	3	4,00
Total Geral	2.998	100,00	1.126	100,00	2.916	97,26	1.037	92,10	82	2,74	89	7,90



Tabela 21 - Estudo da associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue, na população total:

<i>Proveniência das amostras</i>	<i>Hemoglobinopatias</i>		<i>Total</i>
	<i>Presença</i>	<i>Ausência</i>	
<i>Banco de Sangue</i>	152 (0,045)	3.234 (0,955)	3.386
<i>Escolas 2º Grau</i>	19 (0,026)	719 (0,974)	738
<i>Total Geral</i>	171 (0,042)	3.953 (0,958)	4.124

$$\chi^2 = 5,588$$

$$P = 0,018$$

Comentário: Não existe associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue, na população total.



Tabela 22 - Estudo da associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue, na população caucasóide:

<i>Proveniência das amostras</i>	<i>Hemoglobinopatias</i>		<i>Total</i>
	<i>Presença</i>	<i>Ausência</i>	
<i>Banco de Sangue</i>	66 (0,028)	2.270 (0,972)	2.336
<i>Escolas 2º Grau</i>	16 (0,024)	646 (0,976)	662
<i>Total Geral</i>	82 (0,027)	2.916 (0,973)	2.998

$$\chi^2 = 0,323$$

$$P = 0,570$$

Comentário: Na população caucasóide, não há associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue.

Tabela 23 - Estudo da associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue, na população negróide:

<i>Proveniência das amostras</i>	<i>Hemoglobinopatias</i>		<i>Total</i>
	<i>Presença</i>	<i>Ausência</i>	
<i>Banco de Sangue</i>	86 (0,082)	964 (0,918)	1.050
<i>Escolas 2º Grau</i>	3 (0,040)	73 (0,960)	76
<i>Total Geral</i>	89 (0,079)	1.037 (0,921)	1.126

$$\chi^2 = 1,753$$

$$P = 0,186$$

Comentário: Não existe associação entre hemoglobinopatias e proveniência da coleta das amostras de sangue, na população negróide.



6 - SOBRENOMES MAIS FREQUENTES DA POPULAÇÃO TOTAL
ESTUDADA

A Tabela 24 apresenta a relação de seis sobrenomes, todos de origem Ibérica, que apresentaram maior frequência de hemoglobinopatias por ordem decrescente, em todas as cidades estudadas; reunindo 82 hemoglobinas anormais, as quais representam 47,95% das 171 encontradas, sendo distribuídas em 3 tipos diferentes: AS, AC e A₂ aumentada.

A análise estatística da associação entre sobrenomes e presença de hemoglobinas anormais na população total, mostrou que as mesmas independem do sobrenome do indivíduo, com pode ser visto na Tabela 25.

Tabela 24 - Sobrenomes com maior frequência de hemoglobinopatias, relacionados numericamente com o universo das análises e especificação dos tipos de hemoglobinopatias:

Sobrenomes	Total Geral	Tipos de Hemoglobinopatias							
		AS		AC		A ₂ †		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
SILVA	517	27	5,22	8	1,55	6	1,16	41	7,93
PEREIRA	112	6	5,36	1	0,89	-	-	7	6,25
SANTOS	174	9	5,17	1	0,57	-	-	10	5,74
SOUZA	160	8	5,00	1	0,62	-	-	9	5,62
OLIVEIRA	214	9	4,20	1	0,47	-	-	11	5,14
FERREIRA	119	2	1,68	1	0,84	1	0,84	4	3,36

Tabela 25 - Estudo da associação entre sobrenomes e presença de hemoglobinopatias na população total:

<i>Sobrenomes</i>	<i>Hemoglobinopatias</i>		<i>Total</i>
	<i>Presença</i>	<i>Ausência</i>	
<i>SILVA</i>	41 (0,079)	476 (0,921)	517
<i>PEREIRA</i>	7 (0,062)	105 (0,938)	112
<i>SANTOS</i>	10 (0,057)	164 (0,943)	174
<i>SOUZA</i>	9 (0,056)	151 (0,944)	160
<i>OLIVEIRA</i>	11 (0,051)	203 (0,949)	214
<i>FERREIRA</i>	4 (0,034)	115 (0,966)	119
<i>Total Geral</i>	82 (0,063)	1.214 (0,937)	1.296

$$X^2 = 4,750$$

$$P = 0,447$$

Comentário: A presença de hemoglobinopatias independe do sobrenome do indivíduo.



7 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DAS CIDADES ESTUDADAS, NO TRIÂNGULO MINEIRO, COM AS RESPECTIVAS PREVALÊNCIAS DOS TIPOS DE HEMOGLOBINOPATIAS

Os resultados obtidos foram distribuídos de acordo com a posição geográfica de cada cidade e suas respectivas prevalências dos tipos de hemoglobinopatias.

As Figuras 10, 11 e 12 mostram as prevalências de talassemia alfa e de suas interações com as hemoglobinas variantes AS e AC, por cidade estudada, nas populações total analisada, caucasóide e negróide, respectivamente. Na população caucasóide a talassemia alfa foi encontrada nas cidades de Araxá, Uberaba e Uberlândia, enquanto que a interação tal. α /HbAS nas cidades de Araxá e Uberaba e a tal. α /HbAC foi detectada apenas em Uberaba. Na população negróide a talassemia alfa foi encontrada nas 4 cidades estudadas, a tal. α /HbAS nas cidades de Araxá e Uberaba e a tal. α /HbAC foi observada apenas em Uberaba.

As Figuras 13, 14 e 15 apresentam as frequências dos tipos de hemoglobinas anormais: AS, AC, A₂⁺, PHHF, AD e AJ, por cidade estudada, nas populações total analisada, caucasóide e negróide, respectivamente. Na população caucasóide a Hb AS foi encontrada nas 6 cidades estudadas,



enquanto que a hemoglobina AC não foi detectada em Araxá e a A_2 aumentada não foi detectada em Ituiutaba. A hemoglobina AD e a PHHF foram observadas apenas em Uberlândia e a Hb AJ foi observada apenas em Araxá. Já na população negróide a Hb AS foi, também, encontrada em todas as cidades; a Hb AC nas cidades de Ituiutaba, Uberaba e Uberlândia e a Hb A_2 aumentada e a PHHF foram observadas apenas em Uberlândia. As Hb AD e AJ não foram detectadas em nenhuma das cidades.



Figura 10 - Distribuição na população total das cidades de Minas Gerais das hemoglobinas variantes.

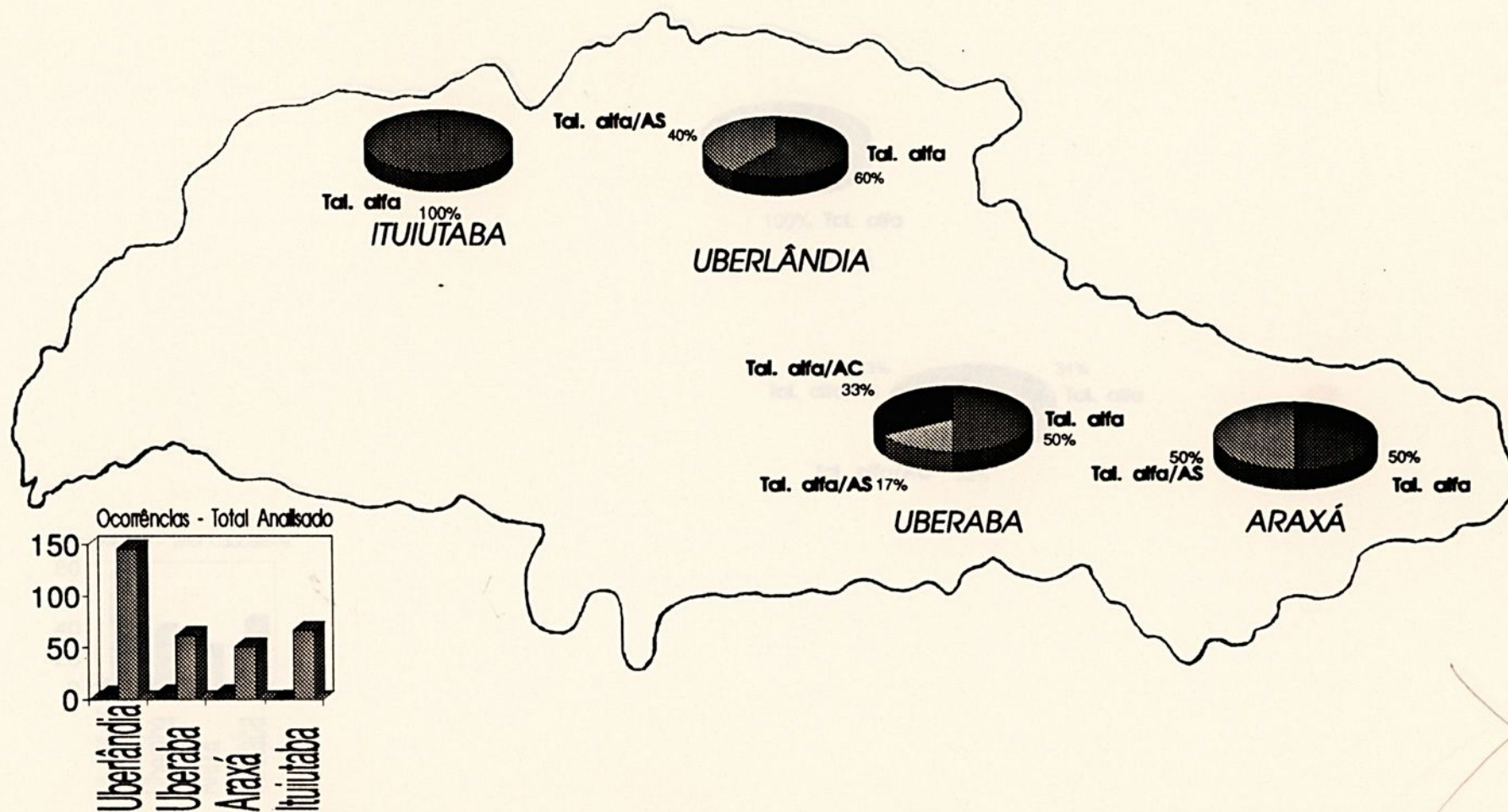


Figura 10 - Distribuição na população total dos casos de talassemia alfa e de suas interações com hemoglobinas variantes, por cidade estudada.

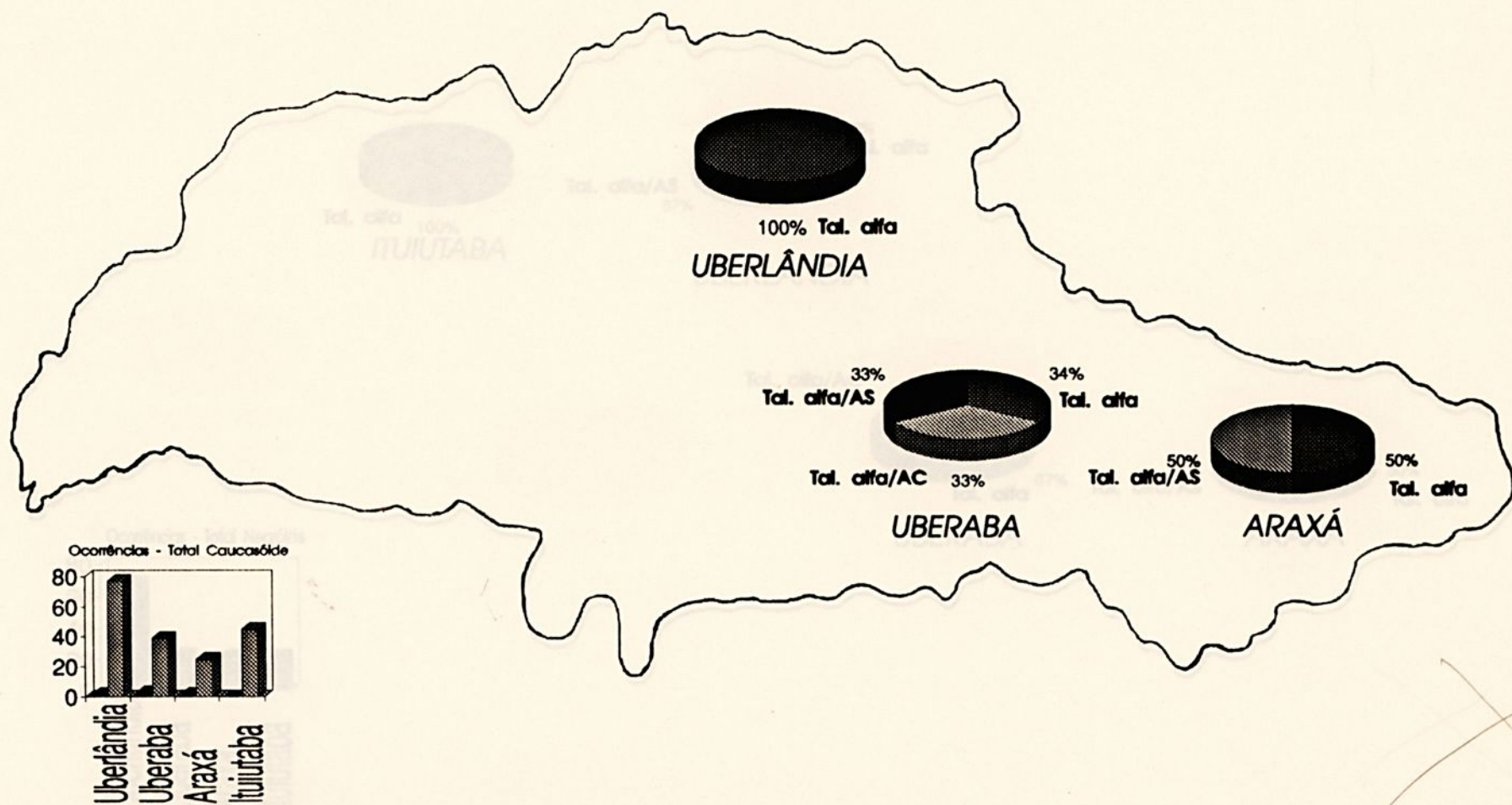


Figura 11 - Distribuição na população caucasóide dos casos de talassemia alfa e de suas interações com hemoglobinas variantes, por cidade estudada.



Figura 12 - Distribuição na população negróide dos casos de talassemia alfa e de suas interações com hemoglobinas variantes, por cidade estudada.

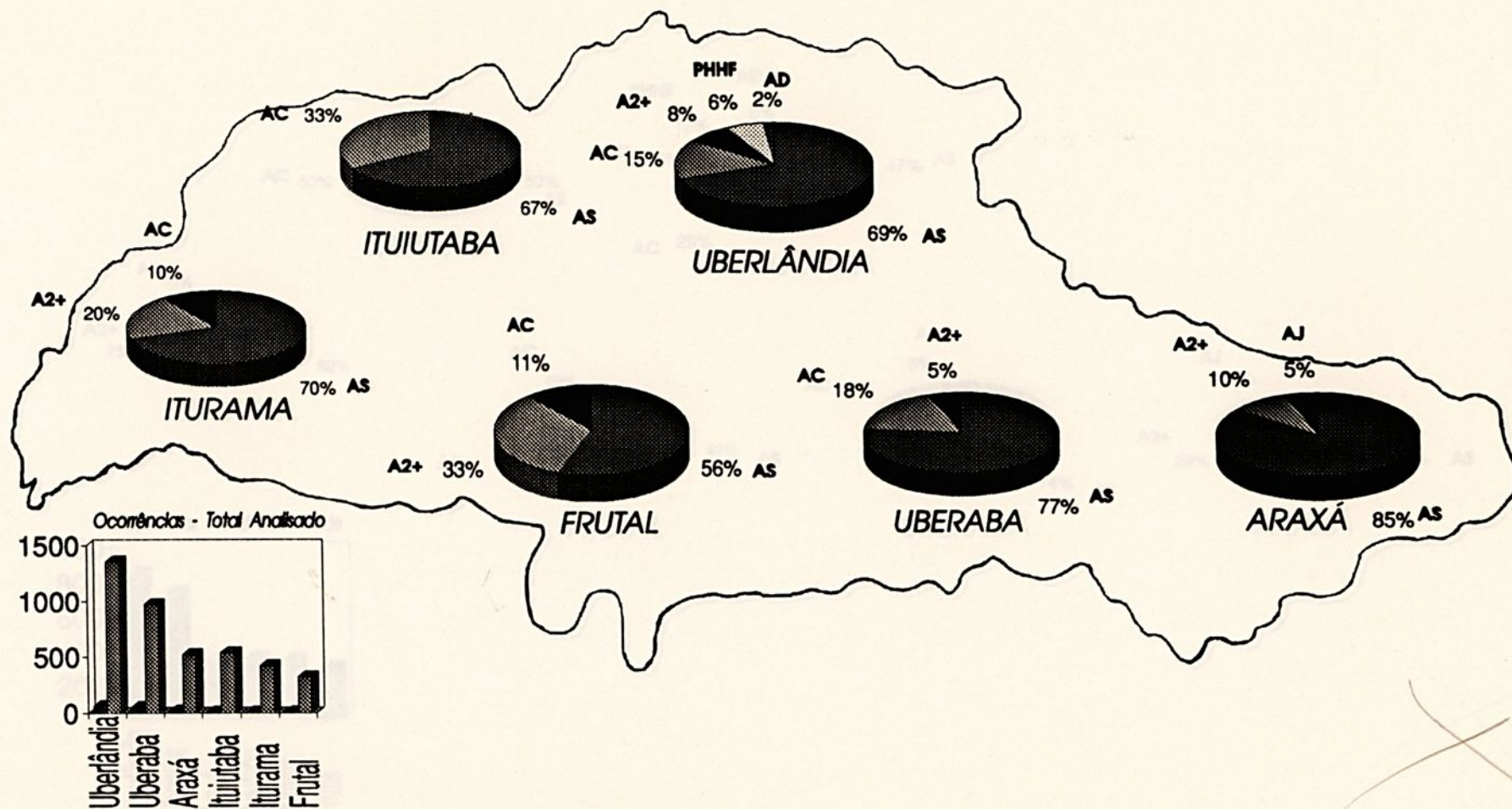


Figura 13 - Distribuição na população total dos tipos de hemoglobinas anormais, por cidade estudada.

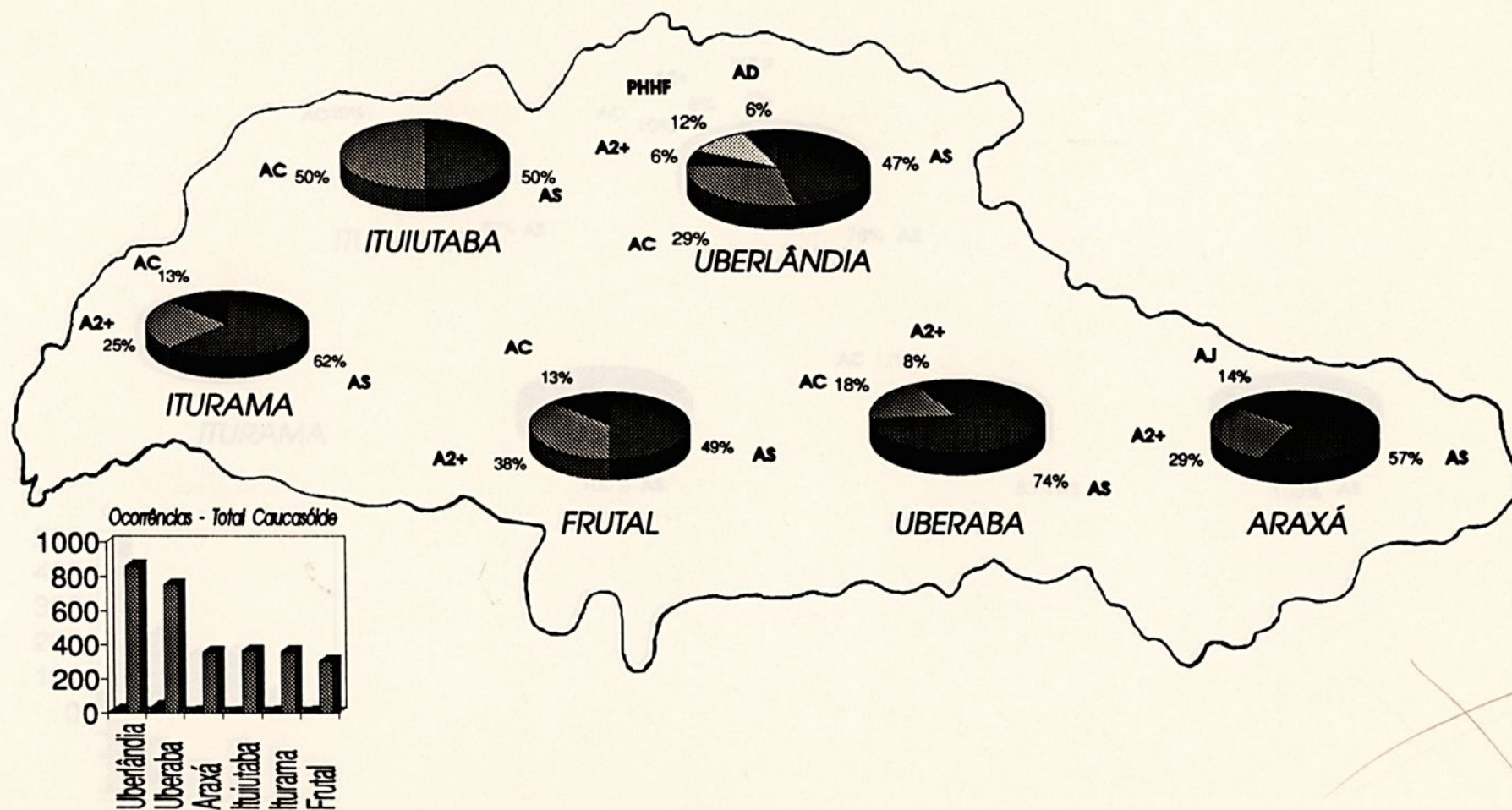


Figura 14 - Distribuição na população caucasóide dos tipos de hemoglobinas anormais, por cidade estudada.

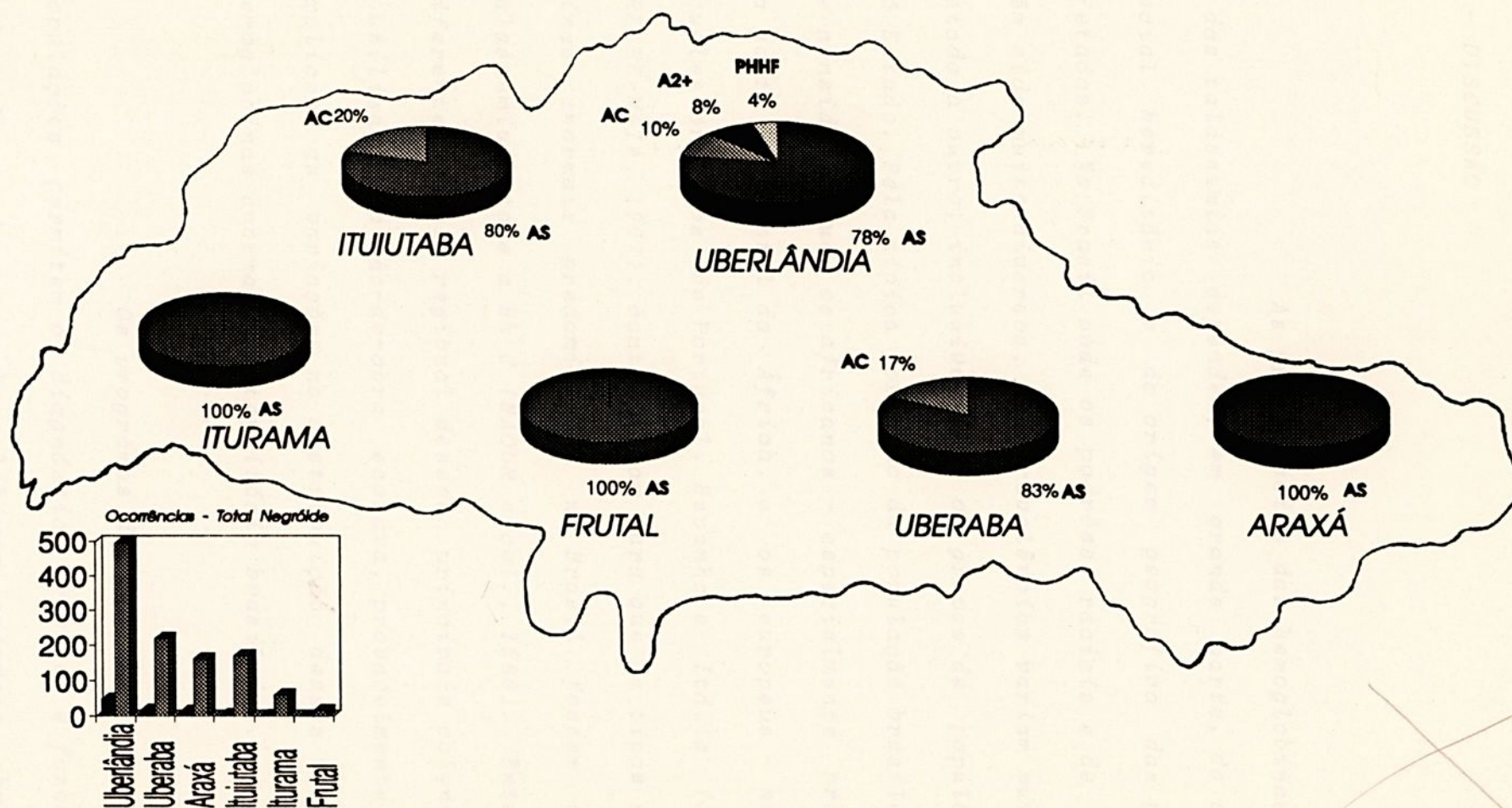


Figura 15 - Distribuição na população negróide dos tipos de hemoglobinas anormais, por cidade estudada.

V - DISCUSSÃO

As prevalências das hemoglobinas anormais e das talassemias dependem, em grande parte, da composição racial hereditária e da origem geográfica das populações afetadas. No Brasil onde os padrões raciais e de imigração têm sido muito diversos, as prevalências variam muito de um Estado a outro, inclusive entre os grupos de população de um só Estado. Pela típica formação da população brasileira, pode-se considerar que os africanos - especialmente provenientes da costa ocidental da África, e os europeus - notadamente aqueles oriundos de Portugal, Espanha e Itália (SALZANO & FREIRE-MAIA, 1967), contribuíram para que os tipos de hemoglobinas anormais predominantes no Brasil fossem a Hb S, a talassemia beta e a Hb C (NAOUM e col., 1986). Entretanto, a diferente fixação regional desses principais colonizadores e a utilização da mão-de-obra escrava, provavelmente, poderia explicar as variações na distribuição desses três tipos de hemoglobinas anormais no território brasileiro.

Os programas de rastreamento em grandes populações permitem o diagnóstico precoce e fazem com que sejam detectadas novas hemoglobinas anormais, abrindo campo para fornecer, sob condições ideais, orientação médica, aconselhamento genético e assessoria constante aos afetados.



O estudo realizado na população do Triângulo Mineiro para detectar hemoglobinopatias, demonstrou um índice considerável dessas alterações hereditárias. A análise de 4.124 amostras de sangue provenientes de seis cidades, distribuídas amplamente por toda esta região, foi realizada para se obter uma amostra regional mais representativa do Triângulo Mineiro. Neste trabalho foi possível estabelecer a prevalência das hemoglobinas anormais nas populações total, caucasóide e negróide das seis cidades estudadas.

A identificação dos indivíduos analisados foi prática e objetiva, embora há necessidade de se ressaltar que a classificação para cor da pele em caucasóide e negróide, incluindo nesta última o negro, o pardo e o mulato, foi proposta para evitar erros de subdivisões, que por terem sido realizadas por vários profissionais, os quais, não obstante terem recebido prévias instruções, apresentam diferentes formas de interpretação.

A metodologia utilizada foi diferenciada em seletiva e específica. As técnicas seletivas consistiram de eletroforese em gel de ágar-amido (pH 8,6), teste de resistência osmótica em NaCl 0,36% e análise da morfologia eritrocitária. A eletroforese em ágar-amido e a resistência osmótica foram utilizadas para análise de todas as amostras coletadas, enquanto que a morfologia eritrocitária foi utilizada somente nos casos positivos para os dois testes anteriores.



A identificação de hemoglobinopatias, por métodos laboratoriais específicos, incluiu: a) eletroforeses em acetato de celulose pH 8,6 e em ágar pH 6,2. Estas revelaram a maior parte dos genótipos de hemoglobinopatias identificados: Hb AS, Hb AC, Hb A₂ aumentado, Hb AF, Hb AD, Hb AJ e Hb H; b) eletroforese quantitativa em acetato de celulose pH 8,6, utilizada para determinação da concentração de Hb A₂; c) dosagem de Hb Fetal, que, associada à pesquisa citológica da distribuição intraeritrocitária dessa hemoglobina permitiu diferenciar a Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal da talassemia beta; d) eletroforese de cadeias polipeptídicas utilizada para as amostras com suspeita de Hb AD e Hb AJ. A hemoglobina D apresentou-se com as mesmas características da Hb D Punjab e a Hb J mostrou ser uma variante de cadeia alfa; e) diferenciação citológica para corpos de inclusão de Hb H nos casos suspeitos de talassemia alfa e f) hemograma para os casos suspeitos de talassemias. A metodologia, utilizada no presente trabalho, mostrou pois, ser eficiente para o estudo populacional de hemoglobinopatias.

O diagnóstico laboratorial da talassemia alfa teve a sua caracterização pela presença de Hb H na eletroforese alcalina e pelos agregados intraeritrocitários típicos dessa hemoglobina. A frequência encontrada de talassemia alfa foi de 3,76% entre a população caucasóide e de 7,86% entre os negróides. A alta prevalência entre os negrói



des é compatível com dados encontrados em recém-nascidos, em diferentes regiões brasileiras (MOTTA e col., 1983; PEDROLLO e col., 1990; SONATI & COSTA, 1990). Quando-se considera o estudo da associação entre presença de talassemia alfa, na população total, não existe diferença significativa entre as frequências dos dois grupos raciais, caucasóides e negróides. A interação da talassemia alfa com as hemoglobinas variantes S e C, principalmente entre a população negróide, é justificada pela importante participação do negro na população do Triângulo Mineiro.

A prevalência de hemoglobinopatias no Triângulo Mineiro (4,15%), é considerada alta quando comparada com as obtidas nos Estados de São Paulo (2,50%) e do Paraná (1,90%), sendo portanto, equivalente às dos Estados do Acre (4,00%), de Goiás (4,30%) e do Pará (4,30%) e inferior às dos Estados do Rio de Janeiro (5,00%), Bahia (5,60%) e do Piauí (6,20%). Vários autores realizaram estudos em cidades de diferentes regiões brasileiras, obtendo resultados diversos, notadamente no que se refere à frequência de talassemias e ao número de genótipos descritos (CAMPOS, 1962; TONDO & SALZANO, 1962; RAMOS & PEDREIRA, 1970; ARAUJO, 1971; AZEVEDO e col., 1980; SILVA e col., 1981; SALZANO & TONDO, 1982; SANTOS, 1982; CULPI & SALZANO, 1984; NAOUM e col., 1984; RUIZ, 1985; SALZANO, 1985; RAMALHO, 1986; SAMPAIO, 1987; ALVARES FILHO e col., 1988).



Com o presente estudo determinou-se que, na população total analisada, uma pessoa entre cada vinte e quatro (1:24) é portadora de alterações genéticas para as hemoglobinas: AS, AC, A₂†, PHHF, AD e AJ, e uma pessoa entre cada dezoito (1:18) para talassemia alfa. A análise conjunta dos resultados indica uma evidente superioridade de genes para hemoglobinas de proveniência africana, sendo que 87,72% das 171 hemoglobinas anormais encontradas na população total analisada são compostas pelos genes S e C, com 39,18% para os caucasóides e 48,54% para os negróides. Estes resultados mostram com evidência a contribuição do negro na constituição populacional do Triângulo Mineiro, principalmente nos municípios de Araxá, Uberaba e Uberlândia onde as hemoglobinas AS e AC representam 84,67% contra 15,33% encontrado nas cidades de Frutal, Ituiutaba e Iturama. Já nas cidades de Frutal e Iturama foram analisadas as menores porcentagens de pessoas negróides.

Na cidade de Uberaba, as frequências das hemoglobinas AS (3,72%) e AC (0,93%) foram as maiores entre a população caucasóide analisada, mostrando a dispersão desses genes não só nos indivíduos de cor negra ou parda, mas também naqueles que, embora tivessem ascendência negra, apresentavam um gradativo clareamento da cor da pele, e que hoje representam considerável volume da população caucasóide.



Com relação aos quinze casos detectados de hemoglobina A₂ aumentada, onze deles (73,33%) foram encontrados em caucasóides. Desse total, apenas dois casos não foram positivos no teste de resistência osmótica em NaCl 0,36%, enquanto que todos apresentaram alterações na morfologia eritrocitária, caracterizada por microcitose e hipocromia. A positividade nestes dois testes é sugestiva de talassemia beta heterozigota, porém é importante ressaltar que na região do Triângulo Mineiro há alta incidência da Doença de Chagas, na qual os portadores podem adquirir aumento da concentração da hemoglobina A₂ (DOMINGOS, 1990). Quanto à positividade para o teste da resistência osmótica, que é positiva em cerca de 97,0% dos portadores de talassemia beta, ocorre também em portadores de anemia ferropriva (WEATHERALL & CLEGG, 1982) e Doença de Chagas (DOMINGOS, 1990). Já as alterações discretas na morfologia eritrocitária são comuns em nossa população e geralmente decorrem da deficiência alimentar, parasitoses e infecções.

Os quatro casos de Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF) identificados apresentaram uma frequência de 0,10%, constituindo 2,34% do total das hemoglobinopatias detectadas. Dois casos foram diagnosticados em portadores caucasóides e dois em negróides, pelo aumento de hemoglobina Fetal e sua distribuição homogênea no interior dos eritrócitos. Já os dois casos de hemoglobinas raras, que



foram identificadas em portadores caucasóides, incluíram a Hb AD e a Hb AJ, as quais representam uma frequência de 1,71% do total das hemoglobinas anormais detectadas.

As análises das prevalências de hemoglobinas anormais observadas entre caucasóides e negróides mostram que essas alterações hereditárias são cerca de três vezes maior entre os indivíduos de origem africana e esses resultados são compatíveis com a grande maioria dos estudos realizados nas diversas populações brasileiras. Essa predominância se deve principalmente à presença da somatória dos genes S e C, comuns entre os negróides. Entretanto, há de se considerar a gradativa miscigenação racial entre as nossas populações que obviamente permitiu a dispersão desses genes entre os caucasóides. Esse fato também é aceito para explicar a presença de talassemias entre os negróides. Porém, não pode deixar de se considerar que portugueses e italianos apresentam genes para a hemoglobina S, cuja proveniência histórica está relacionada ao domínio desses povos no continente africano em diferentes épocas de nossa civilização (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974). Nessa mesma linha de raciocínio sabe-se da presença de talassemias entre indivíduos de várias regiões da África e que por isso são denominadas talassemias tipo Negro (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).



A população caucasóide constituiu 72,70% da população total analisada, possibilitando a identificação de 82 casos de hemoglobinas anormais, os quais correspondem a uma prevalência de 2,74%, sendo que a Hb AS representou 62,20% do total das hemoglobinas anormais detectadas nos caucasóides, seguida da Hb AC (19,50%), da Hb A₂ aumentada (13,40%) e de outros tipos de hemoglobinas anormais (4,90%).

A população negróide que constituiu 27,30% da população total analisada, resultou em 89 casos de hemoglobinas anormais, mostrando sua alta prevalência (7,90%) quando comparada com a população caucasóide. Nesta população os genes africanos para Hb AS e Hb AC representaram 83,15 e 10,10%, respectivamente, entre as hemoglobinas anormais detectadas; valores esperados para uma população cujo contingente africano foi bastante expressivo até o século XVIII. É importante considerar que entre 2,5 a 4 milhões de negros africanos, entrados no Brasil na condição de escravos, eram provenientes de regiões onde a prevalência de Hb AS é variável de 15 a 30%; a de Hb AC variável de 1 a 5% para a maioria das regiões de origem e de cerca de 20% em outras como a Costa do Ouro e do Marfim (COQUELET e col., 1978). Os outros tipos de hemoglobinas anormais, A₂ aumentada e PHHF, detectadas entre os negróides corresponderam a uma prevalência de 6,75%, portanto inferior à obtida entre os caucasóides.



Estudos para diagnosticar hemoglobinas anormais foram realizados por CAMPOS, 1962, no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais - Belo Horizonte, em 1.000 pacientes que procuravam os ambulatorios para qualquer tipo de tratamento e internados na enfermaria. A preferência foi dada aos pacientes negros e mestiços (negróides). Os resultados mostraram que entre os 750 negróides analisados, foram encontradas as seguintes hemoglobinas anormais: AS (8,40%), AC (2,93%), SC (0,13%) e AD(0,40%), enquanto que entre os caucasóides foram encontradas a Hb AS (1,20%) e a Hb AD (0,40%). Estes resultados não podem ser comparados com os encontrados no Triângulo Mineiro, pois de acordo com NAOUM e col., 1989, há uma maior prevalência de hemoglobinopatias entre os indivíduos hospitalizados do que entre indivíduos aparentemente sadios.

Embora não tenha ocorrido associação entre a presença de hemoglobinopatias e as classes etárias nas populações total analisada, caucasóide e negróide, os cálculos mostram algumas diferenças que merecem ser comentadas. A classe etária de 21 a 30 anos apresentou a maior prevalência de hemoglobinas anormais nas populações total (5,15%) e na negróide(10,25%), enquanto que na caucasóide foi a classe de 11 a 20 anos (3,48%). Estes dados sugerem que a prevalência encontrada na população total, na classe etária



de 21 a 30 anos, foi consequência da alta prevalência encontrada na população negróide nesta mesma classe etária. A análise dos resultados mostra a presença de hemoglobinopatias em todas as classes etárias.

O estudo da associação entre hemoglobinopatias e sexos nas populações total, caucasóide e negróide, mostrou resultado significativo apenas na população total. Provavelmente houve interferência da proporção do número de indivíduos caucasóides e femininos, portadores de hemoglobinas anormais, a qual é bastante inferior quando comparada com a proporção dos portadores caucasóides e masculinos. O que se esperava em caso de independência do sexo, é que o número de portadores caucasóides e femininos fosse superior ao encontrado.

Neste trabalho observamos também a relação entre a prevalência de hemoglobinopatias e proveniência das amostras coletadas em Bancos de Sangue e Escolas de 2º Grau. Os resultados mostraram que a presença de hemoglobinas anormais independe da proveniência da coleta das amostras de sangue, tanto na população total como na caucasóide e negróide.



Para estudar a correspondência entre sobrenomes e hemoglobinopatias na população total, fez-se um levantamento daqueles que apresentaram maiores prevalências dessas alterações, sendo que os seis mais freqüentes são todos Ibéricos (origem portuguesa e espanhola). A análise estatística desta associação mostrou que a presença das hemoglobinas anormais também independe do sobrenome do indivíduo. Há de se considerar os trabalhos de TAVARES-NETO & AZEVEDO, 1977 e 1978, sobre origem racial e aspectos históricos de nomes familiares na Bahia; analisaram principalmente os sobrenomes de origem religiosa adotados pelos escravos. Sabe-se que, conforme documentos históricos dos séculos XVIII e XIX, a grande maioria dos escravos não possuía sobrenome; os poucos que os tinham haviam adotado, preferencialmente, os de conotação religiosa, como por exemplo Jesus, Conceição, etc. (AZEVEDO & FREIRE, 1983). Com a abolição da escravatura, alguns negros africanos decidiram optar pelo sobrenome de seus "senhores" que eram de origem Ibérica, predominantemente portugueses. Nesse estudo, a análise de sobrenomes revelou que os portadores de Hb AS, Hb AC e Hb A₂ aumentada foram concentrados, em maior número, nos sobrenomes SILVA e PEREIRA evidentemente de origem portuguesa.

A distribuição geográfica das hemoglobino_upatias nas cidades estudadas, do Triângulo Mineiro, mostrou que essas alterações hereditárias prevaleceram na população



de maneira não uniforme, ou seja, elas estão concentradas nas cidades de Araxá, Uberaba e Uberlândia, representando uma interessante correspondência antropológica, pois nestas cidades a ocupação populacional foi realizada por contingentes com expressiva ascendência portuguesa e negra (PONTES, 1978). Estas três cidades possuem, também, localizações geográficas próximas, que facilitaram a mobilidade e a interligação dos seus grupos colonizadores.

Todos esses resultados representam importantes elementos para o desenvolvimento de futuros estudos sobre a intensidade com que se processou a miscigenação, entre os componentes que constituíram a base, da população do Triângulo Mineiro.



VI - RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho foi analisado um total de 4.124 amostras de sangue de indivíduos aparentemente sadios, na faixa etária de 1 a 85 anos, provenientes de 6 cidades do Triângulo Mineiro, que é uma zona do Estado de Minas Gerais, de 68.133 Km² de extensão e com uma população aproximada de 1.231.562 habitantes.

Os objetivos desta investigação foram:

a) verificar a prevalência das hemoglobinas anormais presentes na população do Triângulo Mineiro; b) associar os diferentes tipos de hemoglobinopatias com grupo racial, classe etária, sexo, proveniência da coleta das amostras e sobrenome; c) estabelecer as relações históricas da colonização regional com as prevalências das hemoglobinas anormais e d) contribuir com os serviços de Saúde. Os resultados obtidos permitem, por um lado, considerar que a realização de trabalhos similares é de grande importância, pois contribuem para o conhecimento da variabilidade genética das hemoglobinas em nosso país. Por outro lado, apresentam importância social devido ao aspecto preventivo relativo à sua propagação, bem como esclarecimentos realizados por meio de processos de conscientização.



Os métodos de coleta, acondicionamento e transporte das amostras propiciaram a conservação eficiente do sangue até a realização dos exames laboratoriais. A metodologia empregada possibilitou a análise de grande número de amostras com segurança, por meio de testes seletivos e específicos.

Considerando a população total estudada das seis cidades, foram detectados 171 casos de hemoglobinas anormais (4,15%) e identificadas as variantes: S, C, D e J, além de concentrações aumentadas de Hb A₂ e Hb F. Os indivíduos caucasóides analisados representaram 72,70% da amostra com prevalência de hemoglobinas anormais igual a 2,74%, enquanto que nos negróides foi de 7,90%, cerca de três vezes maior do que aquela observada entre os caucasóides, sendo portanto, esta diferença estatisticamente significativa. A ocorrência da associação entre hemoglobinas anormais e origem racial foi observada apenas em duas cidades, Araxá e Uberlândia; com relação à associação entre tipos de hemoglobiⁿopatias e origem racial, apenas a cidade de Uberlândia apresentou resultado significativo.

A talassemia alfa foi analisada em 326 amostras de sangue de quatro das seis cidades estudadas, onde foram detectados 18 casos distribuídos em talassemia alfa e interações com as hemoglobinas variantes AS e AC. Os caucasói



des e negróides não diferiram significativamente, quanto às frequências de talassemia alfa. Esses resultados demonstraram a miscigenação ocorrida entre brancos e negros e a provável existência de genes para esta alteração nos africanos introduzidos no Triângulo Mineiro.

Não se observou associação significativa entre hemoglobinopatias e classe etária. Entretanto, a classe etária que apresentou a maior frequência nas populações total analisada e negróide foi a de 21 a 30 anos, enquanto que na caucasóide foi a classe etária de 11 a 20 anos. As prevalências observadas na população negróide foram superiores às observadas nos caucasóides em todas as classes etárias.

No estudo da associação entre hemoglobinas anormais e sexos nas populações total analisada, caucasóide e negróide, apenas a população total apresentou resultado significativo, provavelmente devido à interferência da baixa proporção de hemoglobinopatias verificada nos caucasóides femininos, quando comparada com a dos portadores caucasóides masculinos.

A proveniência da coleta das amostras de sangue, realizada em Bancos de Sangue e em Escolas de 2º Grau, ao ser analisada estatisticamente não mostrou resultados significativos nas populações total, caucasóide e negróide,



ou seja, a presença das hemoglobinopatias independe do local da coleta.

Os sobrenomes que apresentaram maiores prevalências de hemoglobinopatias (SILVA, PEREIRA, SANTOS, SOUZA, OLIVEIRA, FERREIRA) foram relacionados estatisticamente com essas alterações e os resultados mostraram que a presença delas independe do sobrenome do indivíduo.

A distribuição geográfica da talassemia alfa, na população total, possibilitou conhecer a mobilidade e fixação desses genes na população do Triângulo Mineiro, principalmente entre os negróides, onde a freqüência de talassemia alfa foi mais expressiva.

A distribuição geográfica dos tipos de hemoglobinopatias, na população do Triângulo Mineiro, mostrou a prevalência das hemoglobinas AS e AC, que constituíram 87,72% das 171 alterações detectadas, sendo que nos caucasóides a relação de Hb AS + Hb AC, por habitante, foi de 1:44, e nos negróides 1:13. Esse resultado mostra que apesar de decorridos muitos anos de miscigenação, os genes para hemoglobinas africanas continuam sendo mais freqüentes nos negróides evidenciando assim, uma certa barreira nos processos de mistura gênica entre as etnias formadoras da população desta região do Estado de Minas Gerais.



VII - SUMMARY AND CONCLUSIONS

This research considers an amount of 4.124 blood samples, collected from apparently healthy individuals between 01 and 85 years old, proceeding from cities of Triângulo Mineiro - a region of the State of Minas Gerais - Brazil, occupying an area of 68.133 Km², and where lives a population of about 1.231.562 habitants.

The objectives of this investigation were a) to verify the prevalence abnormal hemoglobins occurring in Triângulo Mineiro population; b) to associate different kinds of hemoglobinopathies, considering ethnic groups, age, sex, origin of blood samples, and surnames of the studied population; c) to establish historical correlations of regional colonization, referig to abnormal hemoglobins and d) to contribute to Healthy Services. In a way, the final results of this work concede that is very important to achieve this kind of investigations, because they contribute to elucidate the genetic variation of hemoglobins in our country. On the other hand, they show that the social importance of the investigation in related to preventive aspects of diseases dissemination and to enlightment obtained through conscientization works.



Sample collection methods and their conditioning and transport offered blood efficient conservation until laboratorial analysis performance. The utilized methodology permitted a safe analysis of many blood samples, by means of selective and specific methods.

On observing the whole population in those six localities it was possible to detect 171 cases of abnormal hemoglobins (4,15%) and to identify their variants (S, C, D, and J) beyond of increase concentrations of Hb A₂ and Hb F. Caucasians individuals studied, representing 72,70% of the sampling with 2,74% of the abnormal hemoglobins prevalence, while the Negroid population showed an amount of 7,90%, three times greater than the one among Caucasians; therefore this difference was considered statistically important. The correlation between abnormal hemoglobins and ethnical origin was only observed in two cities: Araxá and Uberlândia; considering the association among the kinds of hemoglobinopathies and the ethnical origin, but only in this last city this association presented significative results.

The alpha thalassemia was analysed in 326 blood samples of four of the six studied cities; 18 cases were there detected and distributed in thalassemia alpha and interaction with variants of hemoglobins AS and AC. Caucasians and Negroid didn't differ significantly, in



relation to frequencies of alpha thalassemia. These results demonstrated the occurred miscigenation between white and Negroids and the probable existence of genes, related to this alteration in Africans that came to Triângulo Mineiro.

This research didn't present an important association between hemoglobinopathies and age, therefore the greatest incidence presented in the studied total population and in Negroid was that of 21 to 20 years old, while in Caucasians it reached individuals from 11 to 20 years old. In Negroid population, observed prevalences were superior to those found in Caucasians of all ages.

In research on the association between abnormal hemoglobins and sex, in total Caucasian and negroid populations, the total population presented expressive result, probably due to the interference of small proportion of hemoglobinopathies, observed in Caucasians women when compared to male Caucasians carriers.

The origin of the blood sampling statistically analyzed performed in Blood Banks and 2nd Grade Schools, didn't show expressive results in total, Caucasian and Negroid populations, that is, the occurrence of hemoglobinopathies doesn't depend of locals of sampling.



As explained anteriorly, the surnames that present larger incidence of hemoglobinopathies (SILVA, PEREIRA, SANTOS, SOUZA, OLIVEIRA, FERREIRA) were statistically related to these alterations and also results have showed that they aren't dependent of individual surname.

In total population, the geographic distribution of thalassemia alpha, made possible to know these genes mobility and the fixation in the population of Triângulo Mineiro, mainly between Negroids, in wich the incidence of thalassemia alpha was more expressive.

In Triângulo Mineiro population, the geographic distribution of kinds of hemoglobinopathies indicated the prevalence of AS and AC hemoglobins that constituted 87,72% of the 171 detected alterations, being of 1:44 the Hb AS + Hb AC for habitant in Caucasians and 1:13 in Negroid.

This shows that, in spite many years of miscigenation, the Africans hemoglobins genes are more frequent in Negroids, denoting that the racial discrimination between black and white people persists in this region of Minas Gerais State.



VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS III, J.G. & COLEMAN, M.B. Structural Hemoglobin Variants that produce the Fenotype of Thalassemia. Semin. Hematol., 27 (3): 229-238, 1990.
- ALPERIN, J.B.; DOW, P.A. & PETTENAY, M.B. Hemoglobin A₂ levels in health and various hematologic disorders. Am. J. Clin. Pathol., 67: 219-226, 1977.
- ALVARES FILHO, F.; NAOUM, P.C.; MOREIRA, H.W. & ANGULO, I.L. Variabilidade polimórfica de hemoglobinas humanas anormais em indivíduos das cidades de Barretos e Colina, São paulo, Brasil. Rev. Bras. Pat. Clin., 24 (2): 32-39, 1988.
- ANAGNOU, N. P.; PAPAYANNOPOULOS, T.; STAMATOYANNOPOULOS, G. & NIENHUIS, A.W. Molecular characterization of a novel form of ($\gamma\delta\beta$)⁰-thalassemia deletion with a 3' breakpoint close to those of HPFH-3 and HPFH-4: Insights for a common regulatory mechanism. Nucleic Acids Res., 16: 6057, 1988.
- ANTONORAKIS, S.E.; KAZAZIAN, H.H. & ORKIN, S.H. DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters. Human Genetic, 69: 1-14, 1985.
- ARAUJO, J.T. Hemoglobinas anormais em São Paulo. Métodos de estudo. Incidência. J. Bras. Med., 9: 1264, 1965.
- ARAUJO, J.T. Geographical Distribution and Incidence of Hemoglobins in Brazil. In: Proceedings of the first Inter-American Symposium on Hemoglobins: Genetic, Functional, and Physical Studies on Hemoglobins. Caracas, karger ed., 1971.

AZEVEDO, E.S.; ALVES, A.F.P.; SILVA, M.C.B.O.; SOUZA, M.G.F.; LIMA, M.V.M.D. & AZEVEDO, W.C. Distribution of abnormal hemoglobins and glucose-6-phosphate-dehidrogenase variants in 1.200 school children of Bahia, Brazil. Am. J. Phys. Antrop., 53: 505-515, 1980.

AZEVEDO, E.S. & FREIRE, N.B.V.M. Nome e sobrenomes na interpretação da história do povo. Ciência e Cultura, 36 (5): 753-758, 1983.

BAGLIONI, C. The fusion of two polypeptide chains in hemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 48: 1880-1885, 1962.

BANK, A. & DOBKIN, C. β -Thalassemia Syndromes. Birth Defects 23: 61-69, 1988.

BARNHART, M. I.; HENRY, R. L. & LUSHER, S. M. Sickle cell. Michigan, USA, Scope, 1976. p.98.

BEIGUELMAN, B. A Genética Humana no Brasil. Ciência e Cultura, 31: 1198 - 1217, 1979.

BENZ, Jr.H.H. & FORGET, B.G. Pathogenesis of the Thalassemia Syndromes. Pathobiol. Annual, 10: 1-33, 1980.

BETKE, K.; MARTI, N.R. & SCHLICHT, I. Estimation of small percentages of foetal haemoglobin. Nature, 184: 1877-1878, 1959.

BLAKE, C.C.F. Exons encode protein functional units. Nature, 277: 589, 1980.



BUCKLE, V. J.; HIGGS, D. R.; WILKIE, A. O. M.; SUPER, M. & WEATHERALL, D.J. Localization of human α globin to 16p13.3-pter. J. Med. Genet., 25: 847, 1988.

BUNN, H.F. & FORGET, B.G. Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. W. B. Saunders Company ed., 1986.

BUSCH, H.; RAMACHANDRA, R.; ROTHBLUM, L. & CHOI, Y.C. SnRNA's, SnRNP's and RNA processing. Ann. Rev. Biochem., 51: 617-654 1982.

CAMPOS, J.O. Hemoglobinas Anormais em 1.000 Pacientes do Hospital da Faculdade de Medicina da UMG. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina - Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1962. 57p.

CAO, A.; GOOSSENS, M. & PIRASTU, M. β -Thalassaemia mutations in Mediterranean populations. Br. J. Haem., 71(3): 309-312, 1989.

CAPRI, R. O Brasil e seus Estados - Minas Gerais e seus Municípios: O Triângulo Mineiro. Capri Andrade & C. Editores, São Paulo, 1916.

CASTILHO, E.M.; NAOUM, P.C.; GRACIANO, R.A.S. & SILVA, A.R. Prevalências de talassemia alfa em pacientes com anemia e em pessoas sem anemia. Rev. Bras. Patol. Clin., 23 (5): 131-134, 1987.

CHARACHE, S. & CONLEY, C.L. Hereditary persistence of fetal hemoglobin. Ann. N. Y. Acad. Sci., 165: 37, 1969.

CHIFU, Y.; NAKASHIMA, H.; HARA, H.; YOKOTA, E. & IMAMURA, T. β -Thalassemia major resulting from a compound heterozygosity for the β -globin gene mutation: further evidence for

multiple origin and migration of the thalassemia gene. Hum. Genet., 89: 343-346, 1992.

CHUI, D.H.K.; WONG, S.C.; CHUNG, S.W.; PATTERSON, M.; BHARGAVA, S. & POON, M.G. Embryonic ζ -globin chains in adults: A marker for α -thalassemia-1 haplotype due to a > 17.5 Kb deletion. N. Engl. J. Med., 314: 76, 1986.

CHUNG, S.W.; WONG, S.C.; CLARKE, B.J.; PATTERSON, M.; WALKER, W.H.C. & CHUI, D.H.K. Human embryonic ζ -globin chains in adult patients with α -thalassemias. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6188, 1984.

CLEGG, J.B.; WEATHERALL, D.J. & MILNER, P.F. Haemoglobin Constant Spring - A chain termination mutant? Nature, 234: 337-340, 1971.

CODRINGTON, J.F.; LI, H.W.; KUTLAR, F.; GU, L-H.; RAMACHANDRAN, M. & HUISMAN, T.H.J. Observations on the Levels of Hb A₂ in Patients with Different β -Thalassemia Mutations and a δ Chain Variant. Blood, 76: 1246-1249, 1990.

COLLINS, F.S. & WEISSMAN, S.M. The molecular genetics of human haemoglobin. Prog. Nucl. Acid. Res. Mol. Biol., 31: 315-462, 1984.

COLLINS, F.S.; STOECKERT, C.J.; SERJEANT, G.r.; FORGET, B.G. & WEISSMAN, S.M. $\gamma^G \beta^+$ hereditary persistence of fetal hemoglobin: Cosmid cloning and identification of a specific mutation 5' to the γ^G gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 4894-4898, 1984.

COOLEY, T.B. & LEE, P. A Series of Cases Splenomegaly in Children, with Anemia and Peculiar Bone Changes. Trans. of the American Pediatric Society, 37: 29-30, 1925.

COQUELET, M. L.; JAEGER, G. & MULLENDER, H. Anomalies de l'hémoglobine et données medico - biologiques chez 10.000 africains. Nouv. Rev. Fr. D'Hémat., 20: 465-477, 1978.

COSTA, F.F.; TAVELLA, M.A. & ZAGO, M.A. Deletion α -Thalassemia among Brazilian Patients with Sickle Cell Anemia. Rev. Brasil. Genet., 12 (3): 605-611, 1989.

CULPI, L. & SALZANO, F.M. Migration, Genetic Markers and Race Admixture in Curitiba. Brazil. J. Biosoc. Sci., 16: 127-135, 1984.

DACIE, J.V. & LEWIS, M.S. Practical Haematology. Edinburgy, Churchill Livingstone, 1984. 185p.

DEISSEROTH, A.; NIENHUIS, A.; TURNER, P.; VELEZ, R.; ANDERSON, W.F.; RUDDLE, F.; LAWRENCE, J.; CREAGAN, R. & KUCHERLAPATI, R. Localization of the human α -globin structural gene to cromossome 16 in somatic cell hybrids by molecular hybridization assay. Cell, 12: 205-218, 1977.

DE JONG, W.W.; MEERA, K.P. & BERNINI, L.F. Hemoglobin Koya Dora: High frequency of a chain termination mutant. J. Hum. Genet., 27: 81-90, 1975.

DIAZ-CHICO, J. C.; YANG, K. G.; YANG, K. J.; EFREMOV, D. J. ; STOMING, T.A. & HUISMAN, T.H.J. The detection of β -globin gene mutation in β -thalassemia using oligonucleotide probes and amplified DNA. Biochim. Biophys. Acta, 949: 43-48, 1988.

DOMINGOS, C.R.B. "Prevalência de Hemoglobinas Anormais, Fenó tipos de Haptoglobinas e Quantificação de Hemoglobinas A₂ e Fetal em Portadores da Doença de Chagas". Tese de Mestrado. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto-SP, 1990. 143p.



- DONALD, J.A.; LAMMI, A. & TRENT, R.J. Hemoglobin F production in heterocelular hereditary persistence of fetal hemoglobin and its linkage to the β -globin gene complex. Human Genetic, 80: 69-74, 1988.
- EATON, W.A. The relationship between coding sequences and function in hemoglobin. Nature, 284: 183-185, 1980.
- EMBURY, S.H.; MILLER, J. A.; DOZY, A.M.; KAN, Y.W.; CHAN, V. & TODD, D. Two different molecular organizations account for the single α -globin gene of α - thalassemia - 2 genotype. J. Clin. Invest., 66: 1319-1325, 1980.
- EMBURY, S. H. & DOZY, A. M. The α -globin genotype as a determinant of hematologic parameters in sickle cell trait. In: SIGLER, P.H. (ed.): The Molecular Basis of Mutant Hemoglobin Dysfunction. New York, North Holland Elsevier, 1981. p.63.
- EMBURY, S.H.; GHOLSON, M.A.; GILLETTE, P.; RIEDER, R.F. & THE NATIONAL COOPERATIVE STUDY OF SICKLE CELL DISEASE. The leftward deletion α -thalassemia-2 haplotype in a black subject with hemoglobin SS. Blood, 65 (3):769-771, 1985.
- EMBURY, S.H. The interaction of coexistent α -thalassemia and sickle cell anemia: A model for the clinical and celular results of diminished polymerization? Fifth Cooley's anemia symposium. Annals of the New York Academy of Sciences, 445: 37-44, 1986.
- EMBURY, S.H. The different types of α -thalassemia-2: Genetic aspects. Hemoglobin, 12 (5 e 6): 445-453, 1988.
- ENGELKE, D.R.; HOENER, P.A. & COLLINS, F.S. direct sequencing of enzymatically amplified human genomic DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85: 544, 1988.

EVERITT, B.S. The Analysis of Contingency Tables. Chapman and Hall, London, 1977.

FISCHEL-GHODSIAN, N.; VICKERS, M.A.; SEIP, M.; WINICHAGOON, P. & HIGGS, D.R. Characterization of two deletions that remove the entire human γ -a globin gene complex (--Thai and --Fil). Br. J. Haematol., 70: 233-237, 1988.

FODDE, R.; LOSEKOOT, M.; VAN DE BROEK, M. H.; OLDENBURG, M.; RASHIDA, N.; SCHREUDER, A.; WIJEN, J.T.; GIORDANO, P. C. ; NAYUDU, N.V.S.; MEERAKHAN, P. & BERNINI, L. F. Prevalence and molecular heterogeneity of α^+ thalassemia in two tribal populations from Andhra Pradesh, India. Hum. Genet., 80 (2): 157-160, 1988.

FREITAS, E. M. & ROCHA, F. J. Detection of β -thalassemia heterozygotes among caucasians from Porto Alegre-RS, Brazil. Rev. Bras. Genet., 6 (1): 185-188, 1983.

FREITAS, P.C.R. & SAMPAIO, R.C. Sinopse do Diagnóstico Sócio-Econômico do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba (1940-1980) Uberlândia, Universidade Federal de Uberlândia-MG. Departamento de Economia, 1985. 187p.

FRITSCH, E.F.; LAWN, R.M. & MANIATIS, T. Molecular Cloning and Characterization of the Human β -Like Globin Gene Cluster. Cell, 19: 959-972, 1980.

GIAMPAOLO, A.; MAVILHO, F.; SPOSI, N.M.; CARE, A.; MASSA, A.; CIANETTI, L.; PETRINI, M.; RUSSO, R.; CAPPELLINI, M.D. & MARINICCI, M. Heterocellular hereditary persistence of foetal haemoglobin (HPFH). Molecular mechanisms of abnormal γ -gene expression in association with β thalassemia and linkage relationship with the β -globin gene cluster. Hum. Genet., 66: 151-156, 1984.

- GILMAN, J.G. & HUISMAN, T.H.J. Two independent genetic factors in the β -globin gene cluster are associated with high γ^G levels in the F of SS patients. Blood, 64: 452-457, 1984.
- GOOSSENS, M.; LEE, K.Y.; LIEBHABER, S.A. & KAN, Y.W. Globin structural mutant $\alpha 125$ Leu-Prol is a novel cause of α -thalassaemia. Nature, 296: 864, 1982.
- GOOSSENS, M. Recent developments in the diagnosis of the hemoglobin disorders. Nouv. Rev. Fr. Hematol., 32 (1): 63-65, 1990.
- GURGEY, A.; ALTAY, C.; DIAZ-CHICO, J. C.; KUTLAR, F.; KUTLAR, A. & HUISMAN, T. H. J. Molecular Heterogeneity of β -Thalassemia Intermedia in Turkey. Acta Haemat., 81: 22-27, 1989.
- HARDISON, R. C.; SAWADA, I.; CHENG, J. -F.; SHEN, C.-K. J. & SCHMID, C. W. A previously undetected pseudogene in the human α -globin gene cluster. Nucl. Acid. Res., 14(4): 1903-1911, 1986.
- HATTON, C.S.R.; WILKIE, A.O.M.; DRYSDALE, H.C.; WOOD, W.G.; VICKERS, M.A.; SHARPE, J.; AYYUB, H.; PRETORIUS, I.M.; BUCKLE, V.J. & HIGGS, D.R. α -Thalassemia Caused by a Large (62Kb) Deletion Upstream of the Human α Globin Gene Cluster. Blood, 76 (1): 221-227, 1990.
- HIGGS, D. R.; GOODBOURN, S. E. Y.; LAMB, J. ; CLEGG, J. B.; WEATHERALL, D.J. & PROUDFOOT, N.J. α -Thalassaemia caused by a polyadenylation signal mutation. Nature, 306: 398, 1983.
- HIGGS, D.R.; CLEGG, J.B.; WEATHERALL, D.J.; SERJEANT, B.E. & SERJEANT, G.R. The interaction of the $\alpha\alpha\alpha$ globin gene haplotype and sickle haemoglobin. Br. J. Haematol., 57: 671, 1984.

- HIGGS, D.R.; VICKERS, M.A.; WILKIE, A.O.M.; PRETORIUS, I.-M.; JARMAN, A.P. & WEATHERALL, D.J. A Review of the Molecular Genetics of the Human α -Globin Gene Cluster. Blood, 73(5): 1081-1104, 1989.
- HONIG, G.R.; SHAMSUDDIN, M.; VIDA, L.N.; MOMPOINT, M.; VALCOURT, E. & BOWIE, L.J. Hemoglobin Evaston ($\alpha 14$ Trp + Arg): An unstable α -chain variant expressed as α -thalassemia. J. Clin. Invest., 73: 1740-1745, 1984.
- HONIG, G.R. & ADAMS III, J.G. Human Hemoglobin Genetics. New York, Springer Verlag/Wien, 1986.
- HSU, S.-L.; MARKS, J.; SHAW, J.-P.; TAM, M.; HIGGS, D.R.; SHEN, C.C. & SHEN, C.-K.J. Structure and expression of the human θ_1 -globin gene. Nature, 331: 94-96, 1988.
- HUANG, S.; RODGERS, G.P.; ZENG, F.; ZENG, Y. & SCHECHTER, A.N. Diagnosis of Thalassemia Using cDNA Amplification of Circulating erythroid Cell mRNA with the Polymerase Chain Reaction. Blood, 78 (9): 2433-2437, 1991.
- HUISMAN, T.H.J. The Hemoglobinopathy - (Methods in Hematology) New York, Churchill Livingstone, 1986.
- HUISMAN, T.H.J. β -Thalassemia Repository. Hemoglobin, 14(6): 661-675, 1990.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Demográfico 1991. Resultados Preliminares. Fundação IBGE, Rio de Janeiro, 1992. p.65-72.
- IHC - International Hemoglobin Information Center Policies. Hemoglobin, 10 (3): 259-327, 1986.
- INGRAM, V.M. Abnormal human haemoglobin. In: The comparison of normal human and sickle-cell haemoglobin by "Fingerprinting". Biochim. Biophys. Acta, 28: 539-545, 1958.

JOSE, O. Racismo em Minas Gerais. Belo Horizonte, I. Oficial, 1981. 258p.

KAN, Y.W.; DOZY, A.M.; TRECARTIN, R. & TODD, D. Identification of a nondeletion defect in α -thalassemia. N. Engl. J. Med., 297: 1081, 1977.

KAN, Y.W.; DOZY, A.M.; STAMATOYANNOPOULOS, G.; HADJIMINAS, M.G.; ZACHRIDES, Z.; FURBETTA, M. & CAO, A. Molecular basis of hemoglobin H disease in the Mediterranean population. Blood, 54: 1434-1438, 1979.

KAN, Y.W. New methods for the diagnosis of genetic diseases. In: MARX, J. L. (Eds.). A Revolution in Biotechnology. Cambridge University Press - New York, 1989. p.172-173.

KANAVAKIS, E.; TZOTZOS, S. & KIAPAKI, K. Original Article Series. Birth Defects, 23: 377-380, 1988.

KATTAMIS, C.; EFREMOV, G. & POOTRAKUL, S. The heterogeneity of normal A_2 - Beta Thalassemia in Greece. J. Med. Genet., 18: 266-270, 1981.

KATTAMIS, C.; HU, H.; CHENG, G.; REESE, A. L.; KUTLAR, A.; KUTLAR, F.; GONZALES-REDONDO, J. M. & HUISMAN, T. H. J. Molecular characterization of β -thalassaemia in 174 Greek patients with thalassaemia major. Br. J. Haematol., 74(3): 342-346, 1990.

KAZAZIAN, Jr. H.H. & BOEHM, C.D. Molecular Basis and Prenatal Diagnosis of β -Thalassemia. Blood, 72 (4): 1107-1116, 1988.

KAZAZIAN, Jr. H.H. The Thalassemia Syndromes: Molecular Basis and Prenatal Diagnosis in 1990. Semin. Hematol., 27(3): 209-228, 1990.

KAZAZIAN, Jr. H.H.; DOWLING, C.E.; HURWITZ, R.L.; COLEMAN, M.; STOPECK, A. & ADAMS III, J.G. Dominant Thalassemia-Like Phenotypes Associated with Mutations in Exon 3 of the β -

Globin Gene. Blood, 79 (11): 3014-3018, 1992.

KINNIBURGH, A.J.; MAQUAT, L.E.; SCHELD, T.; RACHMILEWITZ, E. & ROSS, J. mRNA-deficient β^0 -thalassemia results from a single nucleotide deletion. Nucl. Acid. Res., 10(18): 5421-5427, 1982.

KLEIHAUER, F. Determination of fetal hemoglobin: Elution technique. In: SCHMIDT, R.M.; HUISMAN, T.H.J. & LEHMANN, H. (ed). The detection of hemoglobinopathies. Cleveland C. R.S. Press, 1974. p.20-22.

KRISHNAMOORTHY, R.; ELION, J.; KUHN, J. M.; LAGRANGE, J. L. ; ROCHETTE, J.; LUTON, J.P. & RICAIRE, D. Haemoglobin A is elevated in hyperthyroid patients. Nov. Rev. Fr. Haemathol, 24: 39-40, 1982.

KULOZIK, A.E.; KAR, C. C.; SERJEANT, G. R.; SERJEANT, B.E. & WEATHERALL, D. J. The molecular basis of α thalassemia in India. It's interaction with sickle cell gene. Blood, 71: 467-472, 1988.

KUNKEL, H.G. & WALLENIUS, D.J. New hemoglobin in normal adult blood. Science, 122: 288-290, 1955.

KUTLAR, A.; KUTLAR, F.; GU, L-G.; MAYSON, S.M. & HUISMAN, T. H.J. Fetal hemoglobin in normal adults and β -thalassemia heterozygotes. Hum. Genet, 85: 106, 1990.

LACERRA, G.; FIORETTI, G.; DE ANGIOLETTI, M.; PAGANO, L. ; GUARINO, E.; BONIS, C.; VIOLA, A.; MAGLIONE, G.; SCARALLO, A.; DE ROSA, L. & CARESTIA, C. $(\alpha)\alpha^{53}$: A Novel α^+ -Thalassemia Deletions with the Breakpoints in the α_2 -Globin Gene and in Close Proximity to an Alu Family Repeat Between the $\psi\alpha_2$ - and $\psi\alpha_1$ -Globin Genes. Blood, 78 (10): 2740-2746, 1991.



- LANG, A. & LORKIN, P. A. *Genetics of Human Haemoglobins. British Medical Bulletin, 32 (3): 239-245, 1976.*
- LAUER, J. ; SHEN, C-K. J. & MANIATIS, T. The chromosomal arrangement of human α -like globin genes: Sequence homology and α -globin gene deletions. *Cell*, 20: 119, 1980.
- LEHMANN, H. & HUNSTMAN, R.G. *Man's Haemoglobins*. Amsterdam, North Holland Publ., 1974. 478p.
- LIEBHABER, S.A.; CASH, F.E. & BALLAS, S.K. Human α -globin gene expression. The dominant role of the α_2 -locus in mRNA and protein synthesis. *J. Biol. Chem.*, 261: 15327-15333, 1986.
- LIEBHABER, S.A.; COLEMAN, M.B.; ADAMS III, J.G.; CASH, F. F. & STEINBERG, M.H. *J. Clin. Invest.*, 80: 154, 1987.
- LIEBHABER, S.A. α -Thalassemia. *Hemoglobin*, 13: 685-731, 1989
- LIE-INJO, L.E.; LOPES, C. G. & LOPES, M. Hemoglobin A₂ and pathologies. *Trans. Roy. Soc. Med. Hyg.*, 65: 480-485, 1971
- LOSEKOOT, M.; FODDE, R.; GERRITSEN, E. J. A.; KUIT, I. V.; SCHREUDER, A.; GIORDANO, P.C.; VOSSEN, J.M. & BERNINI, L. F. Interaction of Two Different Disorders in the β -Globin Gene Cluster Associated with an Increased Hemoglobin F Production: A Novel Deletion Type of $\gamma^G+(\gamma\delta\beta)^0$ -Thalassemia and a δ^0 - Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin Determinant. *Blood*, 77 (4): 861-867, 1991.
- LUO, H-Y.; CLARKE, B. J.; GUALDIE, J.; PATTERSON, M.; LIAO, S-K. & CHUI, D.H. K. A novel monoclonal antibody based diagnostic test for α -thalassemia-1 carriers due to the (--SEA/) deletion. *Blood*, 72: 1589-1594, 1988.

- MAGENIS, R.E.; DONLON, T.A. & TOMAR, D.R. Localization of the β -globin gene to 11p15 by in situ hybridization: Utilization of chromosome 11 rearrangements. Hum. Genet., 69: 300-303, 1985.
- MARENGO-ROWE, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobins on cellulose acetate. J. Clin. Pathol., 18: 790-792, 1965.
- MARKS, J.; SHAW, J.-F. & SHEN, C.-K.J. Sequence organization and genomic complexity of primate θ_1 -globin gene, a novel alpha-globin-like gene. Nature, 321: 785-788, 1986.
- MARZO, R.D.; DOWLING, C.E.; WONG, C.; MAGGIO, A. & KAZAZIAN, Jr.H.H. The spectrum of β -thalassaemia mutations in Sicily. Brit. J. Haematol., 69: 393-397, 1988.
- MICKLOS, D.A. & BLOON, M.V. DNA restriction analysis. Carolina Tips, 52: 21-23, 1989.
- MILNER, P.F. Thalassemias, Hemoglobinopathies, and sickle cell disease. Hematology, Vol. 2, Ed. Fairbanks, V.F., John Wiley and Sons, Inc., 1983.
- MOI, P.; CASCH, F.E.; LIEBHABER, S. A.; CAO, A. & PIRASTU, M. An initiation codon mutation (AUG $\rightarrow$ GUG) of the human α_1 -globin gene. J. Clin. Invest., 80: 1416-1421, 1987.
- MONTEIRO, N.G. Imigração e Colonização em Minas (1889-1930). Tese de Doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte-MG, 1973.
- MOO-PENN, W.F.; BAINE, R.M.; JUE, D.L.; JOHNSON, M.H.; MCGUFFEY, J.E. & BENSON, J.M. Hemoglobin Evanston: $\alpha 14(A12)trp \rightarrow arg$. A variant hemoglobin associated with α -thalassemia-2. J.M. Biochim. Biophys. Acta, 747: 65-70, 1983.

MORLE, F.; LOPEZ, B.; HENNI, T. & GODET, J. α -Thalassaemia associated with the deletion of two nucleotides at position 2 and 3 preceeding the AUG codon. EMBO J., 4: 1245, 1985.

MORTON, C.C.; KIRSCH, I.R.; TAUB, R.A.; ORKIN, S.H. & BROWN, J.A. Localization of β -globin gene by chromosomal in situ hybridization in a normal male an individual with erythroleukemia. Cytogenet. Cell Genet., 37: 544-545, 1984.

MOTTA, M. F. S.; SOUZA, C.A. & COSTA, F.F. Alfatalassemia em uma população de negros brasileiros. VXI Congresso Brasileiro de Hematologia, São Paulo, Brasil, 1983.

NAOUM, P.C. Investigação Laboratorial das hemoglobinopatias. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 12: 213-221, 1979.

NAOUM, P.C.; MOURA CAMPOS, M.C.R.; PARENTI, M.F. & SZMANSKI, A.M. An improved electrophoretic method for a screening program for haemoglobinopathies. Experientia, 36: 875-876, 1980.

NAOUM, P.C. "Hemoglobinopatias no Estado de São Paulo - Métodos de Estudo, Prevalência, Distribuição Geográfica e Relações Históricas e Antropológicas". Tese de Livre - Docência. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto-SP, 1983. 279p.

NAOUM, P.C. Anemias Imigrantes: origem das anemias hereditárias no Brasil. Ciência Hoje, 3 (14): 58-64, 1984.

NAOUM, P.C.; MATTOS, L.C. & CURY, P.R. Prevalência e distribuição geográfica de hemoglobinas anormais no Estado de São Paulo. Bol. San. Panam., 97: 534-548, 1984.



NAOUM, P.C.; DOMINGOS, C.R.B.; MAZZIERO, P.A.; CASTILHO, E.M. & GOMES, C.T. Hemoglobinopatias no Brasil. Boletim da Soc. Bras. Hematol. Hemot., VIII (141): 180-188, 1986.

NAOUM, P.C. Diagnóstico das Hemoglobinopatias. São Paulo, Sarvier Ed., 1987. 242p.

NAOUM, P.C.; ALVARES FILHO, F.; DOMINGOS, C.R.B.; FERRARI, F.; MOREIRA, H.W.; SAMPAIO, Z.A.; MAZZIERO, P.A. & CASTILHO, E.M. Hemoglobinas Anormais no Brasil. Prevalência e Distribuição Geográfica. Rev. Bras. Patol. Clin., 23 (3): 68-79, 1987.

NAOUM, P.C.; ISQUI, W.d.; PAGOTTO, R.C. & DOMINGOS, C.R. B. Prevalência de hemoglobinopatias em amostras de proveniência diferenciada. Rev. Soc. Bras. Hematol. Hemoter., XI (153): 69-72, 1989.

NAOUM, P. C. Eletroforese - Técnicas e Diagnósticos. In: Hemoglobinopatias. São Paulo, Livraria Editora Santos, 1990. p.65-115.

NAOUM, P.C.; DOMINGOS, C.R.B.; MELO, S.M.A.; PEREIRA, P.S.P.; VIANA, L.M.S. & SILVA, S.R.P.N. Hemoglobinopatias no Brasil-1991. In: II Simpósio de Pesquisa e Pós-Graduação em Ciências Biológicas-UNESP, 1991, Águas de São Pedro - SP. Livro de Resumos. p.35.

NICHOLLS, R.D.; HIGGS, D.R.; CLEGG, J.B. & WEATHERALL, D.J. α^0 -Thalassemia due to a recombinant on between the α_1 -globin gene and Alu repeat. Blood, 65: 1434-1438, 1985.

NICHOLLS, R.D.; FISCHER-GHODSIAN, N. & HIGGS, D.R. Recombination at the human α -globin gene cluster: Sequence features and topological constraints. Cell, 49: 369, 1987.



- OHENE-FREMPONG, K. & SCHWARTZ, E. Clinical features of thalassemia. Pediatric Clinics of North America, 27: 403-420, 1980.
- OLIVIERI, N. F.; LEBE, S. C.; POON, A. O.; MICHELSON, A. M. & ORKIN, S.H. An α -globin gene initiation codon mutation in a Black family with Hb H disease. Blood, 70: 729-732, 1987.
- ORKIN, S.H. & MICHELSON, A. Partial deletion of the α -globin structural gene in human α -thalassaemia. Nature, 286: 538, 1980.
- ORKIN, S.H. & GOFF, S.C. The duplicated α -globin genes: Their relative expression as measured by RNA analysis. Cell, 24: 345, 1981.
- ORKIN, S.H. & KAZAZIAN, H.H. The mutation and polymorphism of the human β -globin gene and its surrounding DNA. Ann. Rev. Genet., 18: 131-137, 1984.
- ORKIN, S.H. Disorders of hemoglobin synthesis: The Thalassemias In: STAMATOYANNOPOULOS, G.; NIENHUIS, A.W.; LEDER, P.; MAJERUS, P.W. (eds). The molecular basis of blood diseases. W. B. Saunders, Philadelphia, 1987. p.106-126.
- OTTOLENGHI, S.; NICOLLIS, S.; BERNINI, C.; RONCHI, A.; CROTTA, S. & GIGLIONI, B. Regulation of γ -Globin Expression in Hereditary Persistence of Fetal hemoglobin. Ann. N.Y. Acad. Sciences, 612: 191-195, 1990.
- PAPAYANNOPOULOS, R. & STAMATOYANNOPOULOS, G. Stains for inclusion bodies. In: "Standardization of laboratory reagents and methods for detection of haemoglobinopathies". Hew publications (CDC) Atlanta, Georgia, 1974.

- PAULING, L.; ITANO, H.A.; SINGER, S.J. & WELLS, I.C. Sickle-cell anemia, a molecular disease. Science, 110: 543, 1949.
- PEDROLLO, E.; HUTZ, M.H. & SALZANO, F.M. Alpha Thalassemia Frequency in Newborn Children from Porto Alegre, Brazil. Rev. Bras. Genet., 13 (3): 573-581, 1990.
- PERUTZ, M.F. Structure and mechanism of haemoglobin. Brit. Med. Bull., 32: 195-208, 1976.
- PIRASTU, M.; SAGLIO, G.; CHANG, J.C.; CAO, A. & KAN, Y. W. Initiation codon mutation as a cause of α -thalassemia. J. Biol. Chem., 259: 12315-12317, 1984.
- PONTES, H. História de Uberaba e a Civilização no Brasil Central. 2ª Ed. Uberaba-MG. Academia de Letras do Triângulo Mineiro. Rio Gráficas S.A., 1978. 341p.
- POWARS, D.R.; CHAN, I. & SCHROEDER, W.A. The influence of fetal hemoglobin on the clinical expression of sickle cell anemia. Ann. N.Y. Acad. Sci., 565: 262-278, 1989.
- PRESSLEY, L.; HIGGS, D.R.; ALDRIDGE, B.; METAXATOU-MAVROMATI, A.; CLEGG, J.B. & WEATHERALL, D.J. Characterization of a new α -thalassemia-1 defect due to a partial deletion of the α -globin gene. Nucl. Acid. Res., 8: 4889-4898, 1980.
- PROUDFOOT, N.J. & BARALLE, F.E. Molecular cloning of human ϵ -globin gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76: 3586-3589, 1980.
- PROUDFOOT, N. J. & MANIATIS, T. The Structure of the Human ζ -Globin Gene and a Closely Linked, Nearly Identical Pseudogene. Cell, 31: 553-563, 1982.
- RAMALHO, A.S. "Investigação dos traços talassêmicos beta e delta - em uma amostra da população estudantil de Campinas-SP". Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1975.

RAMALHO, A. S. Investinação genético - epidemiológico das talassemias beta e delta-beta no Estado de São Paulo. Rev. Paul. Med., 88: 68, 1976.

RAMALHO, A. S. Estudo médico de polimorfismos genéticos de importância clínica no Brasil. Tese de Livre Docência. Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 1979.

RAMALHO, A. S. Genética das Hemoglobinopatias. Rev. Bras. Patol. Clin., 18 (2): 37-40, 1982.

RAMALHO, A.S. As hemoglobinopatias hereditárias. Um problema de saúde pública no Brasil. Ribeirão Preto, São Paulo. Rev. Bras. Genet., 1986. 160p.

RAMOS, K.M.L. & PEDREIRA, C.M. Estimativa da frequência da hemoglobina C em grupos populacionais da Bahia. Ciência e Cultura. (Supl.) 22: 106, 1970.

RAW, I. & MENNUCCI, L. Bases Moleculares da Medicina: Anemias e Outras doenças Moleculares. In: Biologia das Hemoglobino patias. São Paulo, Livraria Atheneu Editora, 1991. p.49-75.

RUIZ, M.A. Prevalência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos na cidade de Santos, São Paulo. Dissertação de Mestrado. Escola Paulista de Medicina, São Paulo, 1985.

SAFAYA, S. & RIEDER, R.F. Dysfunctional α -globin gene in hemoglobin H disease. J. Biol. Chem., 263: 4328, 1988.

SALZANO, F. M. & FREIRE-MAIA, N. Populações Brasileiras: aspectos demográficos, genéticos e antropológicos. São Paulo: Co. Ed. Nacional, 1967. 177p.

SALZANO, F.M.; ROCHA, F.J. & TONDO, C.V. Hemoglobin types and gene flow in Porto Alegre, Brazil. Acta Genet, 18: 449-457, 1968.

SALZANO, F.M. & TONDO, C.V. Hemoglobin types in brazilian populations. Hemoglobin, 6 (1): 85-97, 1982.

SALZANO, F.M. Incidence, effects, and management of sickle cell disease in Brazil. The Am. J. Ped. Hematol. Oncologu, 7 (3): 240-244, 1985.

SALZANO, F.M. Em Busca das Raízes. Ciência Hoje, 5 (25): 48-53, 1986.

SAMPAIO, B. Uberaba: História, Fatos e Homens. Uberaba-MG: Academia de Letras do Triângulo Mineiro. Rio Gráficas S.A. 1971. 404p.

SAMPAIO, Z.A. Polimorfismo de Hemoglobinas Humanas no Estado do Piauí: Distribuição, Prevalência, Relações Históricas e Antropológicas. Tese de Mestrado. Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, São José do Rio Preto - SP. 1987. 142p.

SANTOS, S.E.B. Estudos Genéticos, Demográficos e Epidemiológicos na População de Manaus. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1982.

SCHNEIDER, R. G. Differentiation of electrophoretically hemoglobins - such as S, D, G and P or A₂, C, E and O - by electrophoresis of the globin chains. Clinical Chemistry, 20: 1111-1115, 1974.

SCHROEDER, W.A.; SHELTON, J.B.; CORMACK, J. & JONES, R.T. The amino acid sequence of the gamma chain of human hemoglobin. Biochemistry, 2: 992, 1963.



SCHROEDER, W.A.; POWARS, D.R.; KAY, L.M.; CHEN, L.S.; HUYNK, V.; SHELTON, J.B. & SHELTON, J.R. β -cluster haplotypes, alpha-gene status, and hematological data from SS, SC and S- β -thalassemia patients in southern California. Hemoglobin, 13: 325-353, 1989.

SERJEANT, G.R.; SERJEANT, B.E.; FORBES, M.; HAYES, R.J.; HIGGS, D.R. & LEHMANN, H. Haemoglobin gene frequencies in the Jamaican population: a study in 10.000 newborns. Br. J. Haematol., 64: 253-258, 1986.

SHIMIZU, K. elevated haemoglobin F in juvenile and adults cronic myelogenous Leukaemia. Acta Haemat, 80: 28-33, 1988.

SILVA, M.I.A.F.; SALZANO, F. M. & LIMA, F. A. M. Migration, imbreeding, blood groups and hemoglobin types in Natal, brazil. Stud. Phys. Antrop., 7: 3-11, 1981.

SILVESTRONI, E. & BIANCO, I. Screening for microcytemia in Italy: Analysis of data collected in the past 30 years. Am. J. Hum. Genet., 27: 198, 1975.

SONATI, M.F. & COSTA, F.f. hemoglobin Bart's in a Brazilian Black Population. Braz. J. Med. Biol. Res., 23 (5): 395-396, 1990.

SPRITZ, R.A. & SANTEN, V.L.V. Deletion analysis of the human γ -globin IVS 2 sequence requirements for RNA splicing. Ann. New York Acad. Sci., 10-18, 1984.

STAMATOYANNOPOULOS, G. & PAPAYANNOPOULOS, R. Fetal hemoglobin and the erytroid sistem cell differentiation process. In: STAMATOYANNOPOULOS, G. & NIENHUIS, A. W. Cellular and molecular regulation of hemoglobin switching. Grune & Stratton, New York, USA, 1978. p.323-341.

STEINEERG, M.H.; COLEMAN, M.B.; ADAMS III, J.G.; HARTMANN, R. C.; SABA, H. & ANAGNOU, N. P. A new gene deletion in the α -like globin gene cluster as the molecular basis for the rare α -thalassemia-1 ($--/\alpha\alpha$) in Blacks: Hb H disease in sickle cell trait. Blood, 67: 469-473, 1986.

STEINEERG, M. H. & EMBURY, S. H. α -Thalassemia in Blacks: Genetic and Clinical Aspects and Interactions with the Sickle Gene. Blood, 68 (5): 985-990, 1986.

STEINEERG, M.H. Review: Thalassemia: Molecular pathology and Management. Am. J. Med. Sci., 296 (5): 308-321, 1988.

STEINBERG, M.H. & ADAMS III, J.G. Hemoglobin A₂: Origin, Evolution, and Aftermath. Blood, 78 (9): 2165-2177, 1991.

STEVENS, M. C. G.; MAUDE, G. H.; BECKFORD, M.; GRANDISON, Y.; MASON, K.; TAYLOR, B. α -Thalassemia and the Hematology of Homozygous Sickle Cell Disease in Childhood. Blood, 67 (2): 411-414, 1986.

TANG, W.; LUO, H-Y.; ALBITAR, M.; PATTERSON, M.; ENG, B.; WAYE, J.S.; LIEBHABER, S.A.; HIGGS, D.R. & CHUI, D.H.K. Human Embryonic ζ -Globin Chain Expression in Deletional α -Thalassemias. Blood, 80 (2): 517-522, 1992.

TAVARES-NETO, J. & AZEVEDO, E.S. Racial origin and historical aspects of family names in Bahia, Brazil. Human Biology, 49: 287-299, 1977.

TAVARES-NETO, J. & AZEVEDO, E.S. Family names and ABO blood group frequencies in a mixed population of Bahia, Brazil. Human Biology, 50: 361-367, 1978.

TEIXEIRA, T. Bandeirantes e Pioneiros do Brasil Central.
Editora Uberlândia Gráfica, Uberlândia-MG, 1970.

THEIN, S.L.; OLD, J.M.; WAINSCOAT, J.S.; PETROU, M.; MODELL, B. &
WEATHERALL, D.J. Population and genetic studies suggest a
single origin for the Indian Deletion β^0 thalassemia. Br.
J. Haematol., 57: 271-278, 1984.

THOMPSON, M.W.; McINNES, R.R. & WILLARD, H.F. Genetics in
Medicine. In: The Hemoglobinopathies: Model of Molecular
Disease, 5^a ed. Philadelphia-USA: W.B. Saunders Company, 1991
p. 247-270.

TONDO, C.V. & SALZANO, F.M. Abnormal hemoglobins in Brazilian
Negro Population. Amer. J. Hum. Genet., 14: 401, 1962.

VAN ROSS, G.; MOORS, A.; DE VILIEGER, M. & DE GROOF, E.
Hemoglobin A₂ levels in malaria patients. Am. J. Trop. Med.
Hyg., 27 (4): 659-663, 1978.

VELLA, F. Acid agar-gel electrophoresis human of hemoglobins
Am. J. Clin. Path., 49: 440-442, 1968.

VILLEGAS, A.; CALERO, F.; VICKERS, M.A.; AYUB, H. & HIGGS, D.R.
 α -Thalassemia in two Spanish families. Eur. J. Haematol.,
44: 110-113, 1990.

WEATHERALL, D.J. & CLEGG, J.B. The Thalassaemia Syndromes.
Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1981. 875p.

WEATHERALL, D.J. & CLEGG, J.B. Thalassemia Revisited. Cell,
29: 7-9, 1982.

WEATHERALL, D.J. & WAINSCOAT, J.B. The molecular pathology of
thalassaemia. In: HOFFBRAND, A.V. (ed.). Recent Advances



in Hematology. Oxford, Englands, Churchill Livingstone, 1985. p.63-88.

WETHERALL, D.J.; CLEGG, J.B.; HIGGS, D.R. & WOOD, W.D. The hemoglobinopathies. In: SCRIVER, C.R.; BEAUDET, A.L.; SLY, W. S. & VALLE, D. (eds). The Metabolic Basis of Inherited Disease, 6^e ed. New York-NY: McGraw-Hill, 1989. p.629-663.

WHIPPLE, G. H. & BRADFORD, W. L. Mediterranean disease thalassemia (erythroblastic anemia of Cooley). J. Pediat., 9: 279-285, 1936.

WHITELAW, E.; PAGNIER, J.; VERDIER, G.; HENNI, T.; GODET, J. & WILLIAMSON, R. Mapping the α -globin genes in a an Algerian Hb H patient and his family. Blood, 55: 511, 1980.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hereditary Anaemias: Genetic basis, clinical features, diagnosis and treatment. Bull. World Health Organiz., 60: 643-660, 1982.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION - WORKING GROUP. Hereditary Anaemias. Genetic basis, clinical features, diagnosis and treatment. Bull. World Health Organiz., 60: 643-660, 1984.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the Vth Annual Meeting of the WHO Working Group on the feasibility study on hereditary disease community control programmes (Hereditary Anaemias: Alpha thalassemia). Hereditary Diseases Programe Division of Noncommunicable Diseases. Herakleion (Crete), 1987. p.5-6.

WOOD, W. G. Haemoglobin syntesis during human fetal development. Br. Med. Bull., 32: 282-287, 1976.

WOOD, W.G.; OLD, J.M.; ROBERTS, A.V.S; CLEGG, J.B. & WEATHERALL, D.J. Human globin gene expression: control of beta, gamma and delta-beta chain production. Cell, 15: 437-446, 1978.

ZAGO, M.A. Síntese de globinas nas talassemias e aspectos da função esplênica falciforme e na heterozigose dupla para beta - talassemia e hemoglobinopatia S. Tese de Livre Docência, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 1981.

ZAGO, M.A.; COSTA, F.F. & BOTTURA, C. Beta-Thalassemia in Brazil. Brazilian J. Med. Biol. Res., 14: 383-388, 1981.

ZAGO, M.A.; COSTA, F.F.; TONE, L.G. & BOTTURA, C. Hereditary hemoglobin disorders in a Brazilian population. Human Heredity, 33: 125-129, 1983.

ZAGO, M.A. & COSTA, F.F. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 79 (3): 385 - 388, 1985.

VOCÊ TEM ANEMIA HEREDITÁRIA?

O Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP), de São José do Rio Preto, está empenhado em saber se você é portador de anemia hereditária. Para isto serão necessárias apenas duas gotas de sangue, e você será informado do resultado em caso positivo.

O QUE É ANEMIA?

A anemia se caracteriza por um estado de fraqueza, desânimo, mal-estar e palidez. Por exames laboratoriais, a anemia é demonstrada por diminuição dos glóbulos vermelhos do sangue. Essa diminuição pode ser do tamanho e/ou da quantidade dos glóbulos.

QUAIS AS CAUSAS DE ANEMIA?

São muitas as causas que provocam a anemia. As principais são a subnutrição e as hemorragias. Entretanto, as anemias podem ser causadas por infecções bacterianas, doenças nos órgãos produtores de sangue, intoxicações a drogas e inseticidas. Uma outra causa muito importante é a anemia hereditária.

O QUE É ANEMIA HEREDITÁRIA?

Anemia hereditária é aquela que é transmitida de pais para filhos. Este tipo de anemia pode se transmitir por muitas gerações. A anemia hereditária se manifesta de duas formas: a

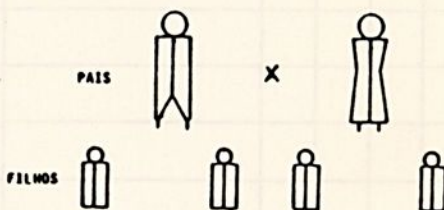
1

imperceptível e a perceptível. Na forma imperceptível, também chamada de heterozigota, a anemia está presente sem que a pessoa a perceba, pois quase não há sinais de anemia. Na forma perceptível, também chamada de homozigota, a anemia é facilmente percebida, e a pessoa além de ter muita fraqueza e mal-estar, é também amarelada (ictérica).

Atualmente, um em cada trinta brasileiros é portador da forma imperceptível, enquanto um em cada cinco mil é portador da forma perceptível de anemia hereditária.

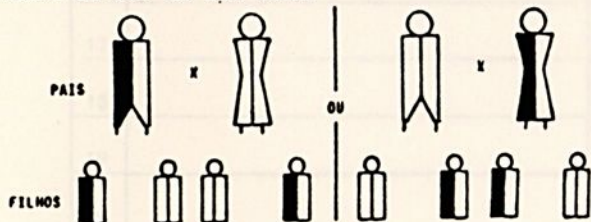
COMO SE TRANSMITE A ANEMIA HEREDITÁRIA?

As figuras a seguir representam famílias com os pais e quatro filhos. A figura nº 1 mostra uma situação em que o pai e a mãe não tem anemia hereditária e, conseqüentemente, os filhos também não apresentarão essa anemia.

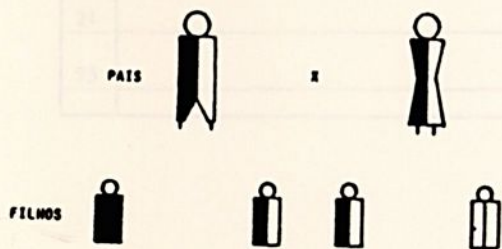


2

A figura nº 2 mostra duas situações que podem ocorrer: um dos pais tem a anemia hereditária imperceptível e, nesse caso, os filhos gerados têm a probabilidade de 50% de herdar a forma imperceptível transmitida por um dos pais.



A figura nº 3 mostra uma família em que tanto o pai quanto a mãe são portadores de forma imperceptível de anemia. Nessa situação a chance de gerar filhos com a forma perceptível de anemia hereditária é de 25%, com a forma imperceptível é de 50% e, sem anemia, é de 25%.



3

O QUE DEVE FAZER O PORTADOR DE ANEMIA HEREDITÁRIA?

O portador de anemia hereditária imperceptível, sempre que for ao médico se consultar, deve mostrar o cartão de identidade da anemia hereditária, que é distribuído pelo Centro de Referência de Hemoglobinas. O médico deverá informá-lo dos cuidados que o portador da anemia deve tomar. Entretanto, para melhor esclarecimento, deve ser procurado um médico hematologista. Quanto ao portador da forma perceptível, este deve ser imediatamente encaminhado ao hematologista.

Maiores informações poderão ser obtidas no Centro de Referência de Hemoglobinas - UNESP - São José do Rio Preto com Prof. Dr. Paulo Cesar Naoim e Profa. Claudia Regina Bonini Domingos.

Nosso Endereço:

Centro de Referência de Hemoglobinas - UNESP - São José do Rio Preto
Rua Cristóvão Colombo, 2265
Fone: 24-4766 Ramal 74
Bairro: Jardim Nazareth
CEP: 13051-000 - São José do Rio Preto - SP.

4

CENTRO DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINAS IBILCE/UNESP - S. J. R. Preto Rua Cristóvão Colombo 2265 15.100 - S. J. Rio Preto - SP Fone 32-4966	PROCEDENCIA	FOLHA ☐ Data ____ / ____ / ____
---	--------------------	--

N.º	NOME	ID	SX	C	OUTROS	Resul Globulins	ELETROFORESE		
							ACAR AMIDO	Colegal	AGAR
01									
02									
03									
04									
05									
06									
07									
08									
09									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									

ANEXO 2

