

Firmino Álvares Filho

**Variabilidade Polimórfica de Hemoglobinas
Humanas Anormais em Indivíduos das
Cidades de Barretos e de Colina, Estado de
São Paulo: Métodos de Estudo e Conscientização,
Prevalência e Aconselhamento Genético**



1910000381



FIRMINO ALVARES FILHO

VARIABILIDADE POLIMÓRFICA DE HEMOGLOBINAS HUMANAS ANORMAIS EM INDIVÍDUOS DAS CIDADES DE BARRETOS E DE COLINA, ESTADO DE SÃO PAULO - MÉTODOS DE ESTUDO E CONSCIENTIZAÇÃO, PREVALÊNCIA E ACONSELHAMENTO GENÉTICO.

Dissertação apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Genética, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Genética.

Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Yaoum

São José do Rio Preto

1 9 8 7



T-381/88

575:612.111
816.12)
473v



Dedico

Aos meus pais, Virmino e Zulmira,
e à minha sogra, Maria, exemplos de
abnegação, perseverança e amor.

À minha esposa, Sionara, companhei-
ra de lutas e de sonhos.

À minha filha, Flávia, mãe do que a
esperança, a certeza.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum



Dedico

*Aos meus pais, Firmino e Zulmira,
e à minha sogra, Maria, exemplos de
abnegação, perseverança e amor.*

*À minha esposa, Sionéia, companhei-
ra de luta e de sonhos.*

*À minha filha, Flávia, mais do que a
esperança, a certeza.*

Teilhard de Chardin, (1970)



AGRADECIMENTOS

É muito difícil registrar os agradecimentos àqueles que nos trouxeram contribuições. Difícil porque tal registro é quase sempre incompleto: há sempre omissões, embora involuntárias. A todas as pessoas, citadas ou não nesta relação, o nosso reconhecimento.

Ao Criador, obrigado por oferecer junto com as dificuldades, a força capaz para sobrepujá-las.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum, pela orientação e incentivo.

Aos Professores, pelo ensino, pelos ensinamentos e apoio.

Aos Funcionários, pelo apoio, pelo animato, oferecem a sua colaboração.

Ao prof. Haroldo Wilson Moreira, pelas sugestões e amizade.

Teilhard de Chardin (1970)

Aos amigos do Centro de Referência de Hemoglobinas, Claudia Regina Bonini Domingos, Cleuzenir Toschi Gomes, Denise Birraque, Elza Maria Castilho e Paulo Antonio Marliero, pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo convívio sempre agradável.

Ao Dr. Ivan de Lucena Angulo, pela orientação médica aos portadores de hemoglobinas anormais.

Ao Prof. Dr. Carlos Daghljan, pela colaboração na redação do Summary.

Ao Prof. Dr. Fahad Moysês Arid, pelo estímulo e consideração.

AGRADECIMENTOS

É muito difícil registrar os agradecimentos àqueles que nos trouxeram contribuições. Difícil porque tal registro é quase sempre incompleto: há sempre omissões, embora involuntárias. À todas as pessoas, citadas ou não nesta relação, o nosso reconhecimento.

Ao Criador, obrigado por oferecer junto com as dificuldades, a força capaz para sobrepujá-las.

Ao Prof. Dr. Paulo Cesar Naoum, pela orientação e incentivo.

Aos Professores do Departamento de Biologia, pelos ensinamentos e apoio.

Aos Funcionários do IBILCE, que quase sempre no anonimato, oferecem a sua colaboração.

Ao prof. Haroldo Wilson Moreira, pelas sugestões e amizade.

Aos amigos do Centro de Referência de Hemoglobinas, Claudia Regina Bonini Domingos, Cleuzenir Toschi Gomes, Denise Birraque, Elza Maria Castilho e Paulo Antonio Maziero, pelo auxílio na realização dos exames laboratoriais.

Aos colegas do Curso de Pós-Graduação, pelo convívio sempre agradável.

Ao Dr. Ivan de Lucena Angulo, pela orientação médica aos portadores de hemoglobinas anormais.

Ao Prof. Dr. Carlos Daghljan, pela colaboração na redação do Summary.

Ao Prof. Dr. Fahad Moysés Arid, pelo estímulo e consideração.

INDICE

1) OBJETIVOS

Ao Prof. Fernando Ferrari, pelo auxílio na análise estatística.

Aos Professores, Dr. Paulo Eduardo de Abreu Machado e Dr. João Batista Arantes, pelas importantes sugestões durante a avaliação da proforma.

Às Professoras, Célia Maria Soares Morgado, Zaira Barini Bampa e Zilda Martins de Assis, pela colaboração na revisão da redação desta dissertação.

Ao Sr. Paulo de Tarso Nogueira, pelos desenhos apresentados neste trabalho.

Ao Prof. Aparecido Marino Baioni, Delegado de Ensino de Barretos, aos Supervisores de Ensino, Diretores e Professores das escolas de Barretos e Colina;

Aos Diretores de Creches de Barretos;

Aos Sargentos, Sebastião B. Galvão Junior e Adevalgues José Ferreira, do Tiro de Guerra de Barretos;

Aos médicos sanitaristas, Dr. Emilio Celso Barbieri, ex-Diretor Técnico do DRS-13, Dr. José Claro Cyrineo de Medeiros, Diretor Técnico do CSI de Barretos e Dr. Nelson James Wright, Chefe da Equipe Médico-Odontológica de Barretos;

Ao Sr. Assad Antonio Daher, prefeito municipal de Colina e Prof. Renato de Oliveira Moleiro, pela colaboração nas diversas fases deste trabalho.

Aos doadores de sangue, que voluntariamente nos ofereceram o material, e tornaram possível a realização da parte experimental.

À Direção do IBILCE, pelo empenho na obtenção dos recursos materiais, necessários ao desenvolvimento da pesquisa.



ÍNDICE

	pag
I) OBJETIVOS	01
II) INTRODUÇÃO	02
II.1) Estrutura e Função da Hemoglobina	02
II.2) Base Genética das Hemoglobinas Humanas	05
II.3) Ontogenia da Síntese das Hemoglobinas Humanas	09
II.4) As Hemoglobinas Anormais	11
II.4.1) Hemoglobinas Variantes	11
II.4.1.1) Hemoglobinas sem Alterações Fisiológicas Importantes	14
II.4.1.2) Hemoglobinas de Agregação	14
II.4.1.3) Hemoglobinas Instáveis	16
II.4.1.4) Hemoglobinas com Funções Anormais..	17
II.4.1.5) Variantes Estruturais que origi- nam Fenótipos Talassêmicos	18
II.4.2) Talassemias	19
II.4.2.1) Talassemias Alfa	20
II.4.2.2) Talassemias Beta	22
II.4.2.3) Persistência Hereditária de He- moglobina Fetal	23
II.4.3) Formas Interativas de Hemoglobinas Anormais	25
II.5) <u>Distribuição Geográfica das Hemoglobinas Anormais..</u>	27
II.6) A Importância das Hemoglobinas Anormais para a Saúde Pública no Brasil	29
III) MATERIAIS E MÉTODOS	
III.1) <u>Conscientização da População Estudada e Coleta das Amostras</u>	31

	pag
III.1.1) População Escolar	31
III.1.2) População do Tiro de Guerra de Barretos	34
III.1.3) População das Creches de Barretos	35
III.1.4) População do Posto de Saúde de Barretos	35
III.2) Coleta do Material; Identificação dos Indivíduos Participantes; Acondicionamento; Conservação e Transporte do Material; Exames Laboratoriais.....	36
III.3) Especificação das Técnicas Utilizadas	
III.3.1) Testes Seletivos para a Detecção de Hemoglobinas Anormais	40
III.3.1.1) Prova de Resistência Globular para Detectar Portadores de Talassemia Beta.....	41
III.3.1.2) Eletroforese em Ágar-Amido, pH = 8,6	42
III.3.2) Métodos Eletroforéticos para Qualificação de Hemoglobinas	45
III.3.2.1) Eletroforese Qualitativa de Hemoglobinas em Acetato de Celulose, pH = 8,6	45
III.3.2.2) Eletroforese Quantitativa de Hemoglobinas em Acetato de Celulose, pH = 8,6	48
III.3.3) Eletroforese de Diferenciação em Ágar-Fosfato, pH = 6,2	49
III.3.4) Método de Confirmação da Hemoglobina S...	50
III.3.5) Dosagem de Hemoglobina Fetal	53
III.3.6) Coloração Intraeritrocitária de Hemoglobina Fetal	54
III.3.7) Pesquisa Citológica de Corpos de Hemoglobina H	56
III.3.8) Eletroforese de Cadeias Polipeptídicas...	57

IV) RESULTADOS

IV.1) Conscientização da População Estudada e Coleta das Amostras	61
IV.1.1) População Escolar	61
IV.1.2) População do Tiro de Guerra de Barretos...	64
IV.1.3) População das Creches de Barretos	64
IV.1.4) População do Posto de Saúde de Barretos...	65
IV.2) Prevalências das Hemoglobinas Anormais	65
IV.3) Análise Estrutural das Hemoglobinas Variantes Raras	82
V) DISCUSSÃO	85
VI) RESUMO E CONCLUSÕES	95
VII) SUMMARY	99
VIII) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	101
ANEXOS	112

1. OBJETIVOS

O estudo das hemoglobinas anormais, além da importância que se apresenta na saúde pública do nosso país, se constitui em excelente material para a genética humana.

A determinação dos polimorfismos das hemoglobinas variantes e talassemias tem contribuído para o desenvolvimento científico e tecnológico da genética molecular, oferecendo, inclusive, excepcionais condições para promover a relação inter-disciplinar com a hematologia, a bioquímica, a estatística, e a história da nossa colonização, entre outras.

Em heterozigose, as hemoglobinas anormais, frequentemente não determinam manifestações clínicas, significativas e, dessa forma, muito se desconhece de suas reais prevalências em nossa população. Assim, por meio de estudos populacionais, é possível detectar as heterozigoses e promover o aconselhamento genético aos portadores.

A presente pesquisa se desenvolveu com os objetivos de determinar as prevalências das hemoglobinas anormais, em moradores das cidades de Barretos e de Colina, Estado de São Paulo, bem como, apresentar métodos de conscientização populacional, orientações relativas aos cuidados individuais e aconselhamento genético aos portadores.

Além desses objetivos, somam-se a verificação da viabilidade do desenvolvimento de um programa dessa natureza, em cidades distantes do centro especializado de São José do Rio Preto, a aproximação da Universidade à comunidade e o aprimoramento científico do pesquisador.



II. INTRODUÇÃO

II.1. Estrutura e Função da Hemoglobina

As hemoglobinas são moléculas de proteínas globulares, dobradas sobre si mesmas e oligoméricas, ou seja, formadas por cadeias polipeptídicas separadas. São proteínas conjugadas, cuja fração proteica, a globina, é constituída, nos vertebrados, por quatro cadeias polipeptídicas, cada uma das quais está ligada a um grupo prostético tetrapirrólico contendo o ferro no estado ferroso, o heme (ferroprotoporfirina IX). A hemoglobina humana (Hb) é um tetrâmero de peso molecular em torno de 64.500, aproximadamente esférica, com o diâmetro de cerca de 5,5 nm, e que tem a porção protéica composta de duas cadeias polipeptídicas tipo alfa, com 141 resíduos em cada uma, e duas cadeias polipeptídicas tipo beta, com 146 resíduos em cada uma, cuja fórmula pode ser expressa por $\alpha_2\beta_2$. O grupo heme está introduzido em uma fenda delimitada por radicais hidrofóbicos e unido à cadeia polipeptídica por meio de uma ligação de coordenação do átomo de ferro ao radical de um resíduo de histidina; a sexta ligação de coordenação do átomo de ferro, de cada heme, fica livre para se ligar à molécula de oxigênio (LEHNINGER, 1984).

A porção protéica das moléculas normais de hemoglobina diferem entre si pelos tipos de cadeias polipeptídicas que as constituem. As cadeias do tipo alfa, incluem as cadeias zeta (ζ) e alfa (α) e as do tipo beta, abrangem as cadeias épsilon (ϵ), gama (γ), delta (δ) e beta (β). As combinações en-



tre elas produzem os três tipos básicos de hemoglobinas: embrionárias, fetais e adultas (MANIATIS e col. 1980).

A sequência específica dos aminoácidos das ca-deias polipeptídicas, conhecida por *estrutura primária*, consti-tui a determinante fundamental das propriedades das moléculas de proteínas. As estruturas primárias de todas as cadeias po-li-peptídicas das hemoglobinas humanas normais já são bem conhe-cidas. A configuração espacial das cadeias polipeptídicas que constituem a molécula de hemoglobina é denominada *estrutura se-cundária*. Cerca de dois terços dos resíduos de cada cadeia es-tão dispostos em estruturas enroladas — as α -hélices. A confor-mação tridimensional das cadeias polipeptídicas constitui a sua *estrutura terciária*. Estas estruturas das cadeias polipeptídi-cas tipo alfa e beta apresentam notável similaridade. Os aminoá-cidos que formam a superfície externa das cadeias polipeptídicas são predominantemente hidrofílicos, região polar, que favorece a solubilidade da molécula em água; o interior é composto de re-síduos que são quase que exclusivamente não-polares, constituin-do grupos hidrofóbicos. Uma força estabilizadora muito impor-tante na estrutura da cadeia é a presença do grupo heme, ligado covalentemente à cadeia através da Histidina proximal, embutido firmemente num bolsão. A Histidina distal, não se liga covalen-temente ao heme, mas a sua presença no bolsão é importante para a manutenção das relações espaciais. A natureza hidrofóbica do pacote heme é extremamente importante para a manutenção do fer-ro em seu estado reduzido (Fe^{++}), o qual é necessário para a oxigenação. A relação espacial das subunidades da molécula de hemoglobina, através dos contatos das cadeias componentes do tetrâmero, determina a sua *estrutura quaternária* (WINSLOW & ANDERSON, 1981).



Por meio de estudos cristalográficos, foi possível estabelecer as relações entre as quatro subunidades que constituem a molécula de hemoglobina humana. Duas delas, compostas por cadeias polipeptídicas do tipo alfa, foram denominadas α^1 e α^2 , e as outras duas do tipo beta, designadas β^1 e β^2 . Na configuração tetraédrica, da molécula de hemoglobina, ocorrem poucos contatos entre as cadeias iguais $\alpha^1\alpha^2$ ou $\beta^1\beta^2$, porém, entre os dímeros $\alpha^1\beta^1$ e $\alpha^2\beta^2$ existem muitos contatos. Os contatos $\alpha^1\beta^1$ (ou $\alpha^2\beta^2$) envolvem 34 resíduos, enquanto os $\alpha^1\beta^2$ (ou $\alpha^2\beta^1$) se realizam por 19 aminoácidos. As cadeias laterais dos aminoácidos responsáveis pelos contatos dos dímeros $\alpha^1\beta^1$ conferem pouco movimento entre as cadeias polipeptídicas alfa e beta, enquanto que os resíduos dos contatos $\alpha^1\beta^2$ favorecem os movimentos de deslizamento entre as cadeias alfa e beta, propiciando a oxigenação e a interação heme-heme. Os contatos entre as cadeias polipeptídicas $\alpha^1\alpha^2$ ocorrem somente na forma desoxiemoglobina, com importância na interação heme-heme, efeito Bohr e transporte de gás carbônico; os contatos $\beta^1\beta^2$ ocorrem tanto na forma oxi como na desoxiemoglobina. A fixação das moléculas de 2,3 difosfoglicerato se dá somente na forma desoxiemoglobina (LEHMANN & CARREL, 1969; PERUTZ, 1976).

A função da hemoglobina, de transportador respiratório dos eritrócitos dos vertebrados, depende de suas propriedades de solubilidade, afinidade ao oxigênio, cooperatividade e do efeito Bohr. Nas hemácias humanas, a hemoglobina está dissolvida no citossol aquoso numa concentração de 34%. Quando uma molécula de oxigênio se liga à primeira subunidade heme-polipeptídica da hemoglobina, as demais subunidades respondem aumentando fortemente a afinidade ao oxigênio. O sangue arterial, ao

deixar os pulmões, apresenta a hemoglobina com 96% de saturação de oxigênio e o sangue venoso, que retorna ao coração, tem a hemoglobina 64% saturada. Nos tecidos, que apresentam altas concentrações de gás carbônico, o pH decresce, a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio diminui e o mesmo é, então, liberado, ocorrendo o inverso nos pulmões (LEHMANN & CASEY, 1974).

II.2. Base Genética das Hemoglobinas Humanas

As hemoglobinas anormais estão entre as mais comuns alterações geneticamente determinadas e compreendem um grupo de considerável complexidade. Muitas hemoglobinas anormais são raras, mas são importantes sob o ponto de vista de sua qualificação bioquímica. Outras se caracterizam pela sua distribuição geográfica ou por suas manifestações fisio-patológicas (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974; LANG & LARKIN, 1976; WHO WORKING GROUP, 1982).

O desenvolvimento da genética molecular e da citogenética têm contribuído para o conhecimento e clareamento dos mecanismos de síntese protéica. Cada uma das cadeias polipeptídicas, que compõem a molécula de hemoglobina, é controlada por um ou mais genes estruturais. Os genes codificadores das cadeias tipo alfa estão localizados no cromossomo 16 (DEISSEROTH e col., 1977) e os genes que codificam as cadeias tipo beta no braço curto do cromossomo 11 (DEISSEROTH e col., 1978).

Os conhecimentos dos genes codificadores das cadeias polipeptídicas desenvolveram-se ao nível do RNA e da sequência do DNA, através dos estudos das sequências diretas de ambos e do uso de DNA recombinante clonado e também do mapeamento por endonuclease de restrição (vide referências em LEHMANN & CASEY, 1974).



Durante algum tempo foi apreciado que o tamanho do RNAm para as cadeias polipeptídicas alfa e beta excedia ao requerido para codificar a sequência de aminoácidos; é que o RNAm, produto da transcrição dos genes, em especial nos eucariotos, apresenta nas extremidades 5' e 3', sequências não traduzidas. Na extremidade 5' é adicionado um ácido guanílico metilado, denominado capuz e na extremidade 3', resíduos de ácido adenílico, que formam a cauda de poli-A. As sequências que codificam os aminoácidos da cadeia polipeptídica, chamadas *exons*, são interrompidas por duas sequências intercaladas, denominadas *introns*. O tamanho e o número de *introns* variam de acordo com a espécie estudada. Os maiores são cerca de 600 pares de bases: 0,6 kb do gene beta do coelho, 0,64 kb no gene beta do rato e 0,8-1,0 kb nos genes humanos beta, delta e gama. No homem, os *introns* estão situados entre os codons 31 e 32, apresentando 117 pares de bases e entre os codons 99 e 100, com 140 pares de bases, nos genes de cadeia alfa. Nos genes de cadeia beta, os *introns* se localizam entre os codons 30 e 31, com 130 pares de bases e entre os codons 104 e 105, com 850 pares de bases. O menor *intron* é 0,116kb, do gene beta do rato e se localiza entre os codons 30 e 31 (LEHMANN & CASEY, 1974).

O complexo gênico das cadeias polipeptídicas tipo alfa foi localizado na região 16 (p12 - pter), por meio das técnicas de hibridização celular somática ou hibridização *in situ* (BARG e col., 1982; BARTON e col., 1982) e o complexo gênico das cadeias tipo beta, na região distal do braço curto do cromossomo 11, região 11 (p 13 - pter), através das técnicas de homologia molecular e o emprego de enzimas de restrição (LEBO e col., 1979).

* (IVS Intervening Sequences = Introns)



No complexo gênico das cadeias polipeptídicas do tipo alfa (figura II.a) os *exons* dos dois genes das cadeias alfa (α_1 e α_2) têm seqüências idênticas. O primeiro *intron* de cada gene é idêntico, mas o segundo *intron* do gene α_1 apresenta nove bases a mais e difere em três bases em relação ao gene α_2 (LIEBHABER e col., 1980; MICHELSON & ORKIN, 1980; PROUDFOOT & MANIATIS, 1980). Apesar do alto grau de homologia entre os dois genes as seqüências divergem na região não traduzida 3', a 13 bases do codon terminal TAA. Essas diferenças oferecem uma oportunidade para avaliar o rendimento relativo dos dois genes alfa e parece que a produção do RNAm α_2 excede a produção do RNAm α_1 , por um fator de 1,5 a 3,0 (LIEBHABER & KAN, 1981; ORKIN & GOFF, 1981). Os genes ζ_1 e ζ_2 são também altamente homólogos. Os *introns* dos genes ζ são maiores que aqueles encontrados nos genes α e em contraste ao último, *IVS1** é maior que o *IVS2*. Em cada gene ζ , *IVS1* apresenta muitas cópias de uma única seqüência de pares de bases repetidas (14pb), que é similar às seqüências localizadas entre os dois genes ζ e próximo ao gene da insulina humana. Há troca de três bases na seqüência do código do primeiro *exon* ζ_1 , uma das quais dá origem a um codon terminalizador prematuro. Assim, parece que o ζ_1 é um pseudogene (PROUDFOOT e col., 1982).

A seqüência completa dos genes ϵ , γ , δ , e β (figura II.b.) do complexo gênico das cadeias polipeptídicas do tipo beta, está estabelecida (BARELLE e col., 1980; SLIGHTOM e col., 1980; SPRITZ e col., 1980). As distâncias intergênicas dos locos do complexo gênico do tipo beta são: 5,4 kb entre os locos β e δ , 7 kb entre δ e $\Psi\beta_1$, 5,9 kb entre $\Psi\beta_1$ e A_γ , 3,5 kb entre A_γ e G_γ , 13,3 kb entre G_γ e ϵ e 6-9 kb entre ϵ e $\Psi\beta_2$.

* (IVS Intervening Sequences = Introns)

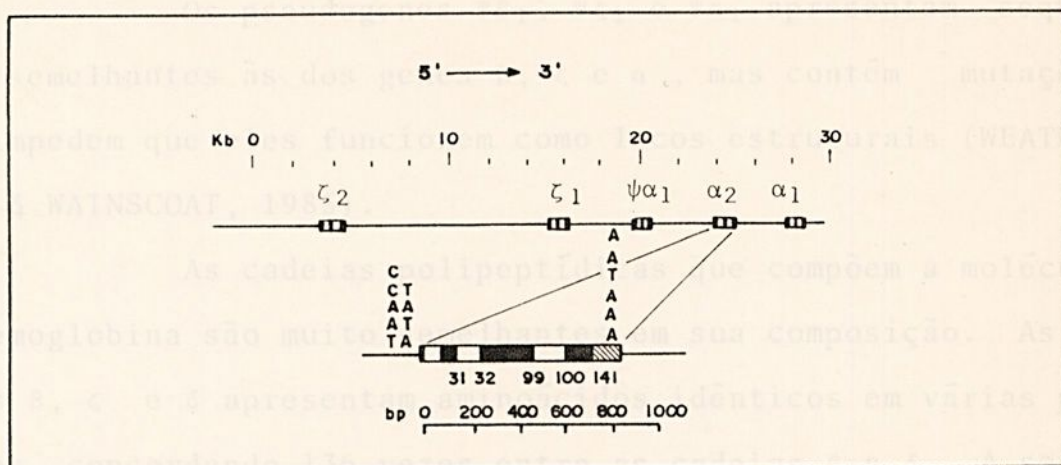


Figura II.a - Complexo gênico das cadeias polipeptídicas tipo alfa. O gene α_2 está ampliado para mostrar as regiões não traduzidas (hachuradas), os exons (escuras) e os introns (claras). Representação gráfica de WEATHERALL & WAINSCOT, 1985.

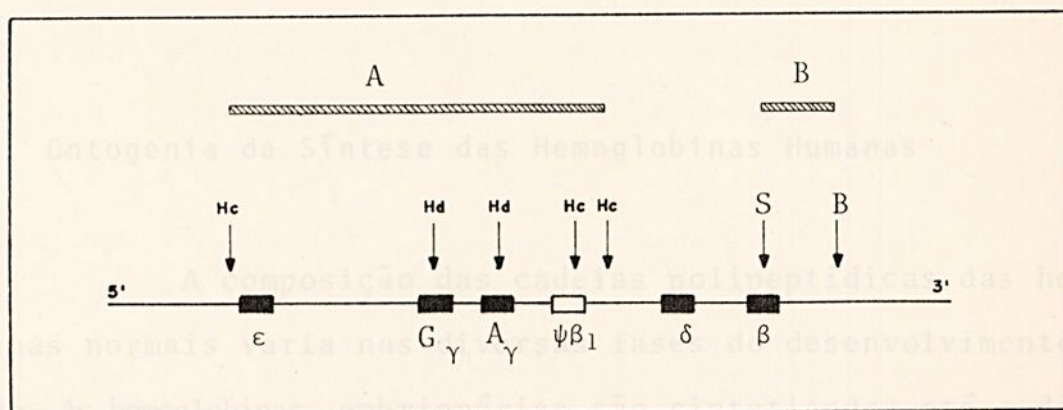


Figura II.b - Complexo gênico das cadeias polipeptídicas tipo beta, mostrando a posição de vários sítios polimórficos de endonuclease de restrição. Os sítios são reunidos nos grupos A e B, como mostram as áreas hachuradas. Representação gráfica de WEATHERALL & WAINSCOT, 1985.

(FRITSH e col., 1980).

Os pseudogenes $\Psi\beta_1$, $\Psi\zeta_1$ e $\Psi\alpha_1$ apresentam sequências semelhantes às dos genes β , ζ e α , mas contêm mutações que impedem que eles funcionem como locos estruturais (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

As cadeias polipeptídicas que compõem a molécula de hemoglobina são muito semelhantes em sua composição. As cadeias β , ζ e δ apresentam aminoácidos idênticos em várias posições, concordando 136 vezes entre as cadeias β e δ . A semelhança na composição das cadeias polipeptídicas sugere a ocorrência de uma evolução dos genes que comandam a produção de tais cadeias, a partir de um gene ancestral comum, que também teria originado o gene da mioglobina. Tal processo evolutivo teria ocorrido por meio de duplicação gênica, mutação e seleção (INGRAM, 1961-1962).

II.3. Ontogenia da Síntese das Hemoglobinas Humanas

A composição das cadeias polipeptídicas das hemoglobinas normais varia nas diversas fases do desenvolvimento humano. As hemoglobinas embrionárias são sintetizadas até a décima segunda semana do desenvolvimento intra-uterino. A primeira hemoglobina embrionária produzida é a Hb Gower 1, cuja composição ϵ_4 ou $\zeta_2\epsilon_2$ ainda é incerta e predomina nas quatro semanas iniciais. Os outros tipos de hemoglobinas presentes até a décima segunda semana são a Hb Portland 1 ($\zeta_2\gamma_2$), Hb Portland 2 (ζ_4) e Hb Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$). Após esse período não ocorre mais síntese das hemoglobinas embrionárias (WINSLOW & ANDERSON, 1981;

RAMALHO, 1986). Às vezes essas hemoglobinas podem continuar a ser sintetizadas em pequenas quantidades em recém-nascidos normais e em grandes quantidades em crianças com aberrações cromossômicas. São relatadas persistência de hemoglobinas embrionárias em crianças com trissomia do cromossomo 13 e outras aberrações cromossômicas (HUENS e col., 1964; HECHT e col., 1967; BOUSSIOS & BERTLES, 1982). As hemoglobinas fetais ($\alpha_2\gamma_2$) começam a ser sintetizadas ainda no período embrionário, antes do segundo mês de gestação (BERTLES, 1970) e aumentam progressivamente durante o desenvolvimento embrionário, substituindo praticamente as hemoglobinas embrionárias após o terceiro mês de gestação. A hemoglobina A_1 ($\alpha_2\beta_2$) começa a ser sintetizada a partir da décima semana, se mantendo em níveis não superiores a 10% até a trigésima semana. Logo após o nascimento, as hemoglobinas fetal e A_1 são cerca de 80% e 20%, respectivamente. A hemoglobina A_2 ($\alpha_2\delta_2$) atinge a quantidade padrão, próximo ao nascimento. A partir da quadragésima oitava semana, após o nascimento, os níveis das hemoglobinas A_1 , A_2 e Fetal se estabilizam, respectivamente, em concentrações de 96-98%, 2,5-3,8% e 0-1% (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974; WOOD e col., 1976-1978).

Há dois tipos de hemoglobina fetal: uma contém glicina (G_γ) e a outra apresenta alanina (A_γ), na posição 136 da cadeia gama. Ao nascer, a proporção dos dois tipos de hemoglobina fetal (G_γ e A_γ) é de 3:1. Após seis meses, a proporção atinge valores em torno de 2:3 (SCHROEDER e col., 1968-1971). Aproximadamente um terço dos indivíduos mantém a proporção do nascimento na vida adulta (HUISMAN e col., 1977).

O processo geral de síntese das hemoglobinas normais e das porcentagens relativas das diferentes hemoglobinas



humanas, nas diversas fases da vida está representado pelas figuras II.c e II.d (RAMALHO, 1986).

II.4. As Hemoglobinas Anormais

Há dois principais grupos de alterações de produção da hemoglobina. O primeiro é o das hemoglobinas variantes estruturais e o segundo é o das condições que resultam de uma redução da taxa de produção de um ou mais tipos de cadeias polipeptídicas, as talassemias (BANK e col., 1980; WHO WORKING GROUP, 1982).

II.4.1. Hemoglobinas Variantes

São causadas por uma variedade de eventos mutacionais, afetando um dado gene globínico. As hemoglobinas variantes mais comuns resultam da substituição de um único aminoácido da cadeia polipeptídica. A hemoglobina é certamente o exemplo mais conhecido de variação genética na estrutura proteica; a primeira variante humana, a hemoglobina S, foi identificada há cerca de quarenta anos atrás por meio da técnica de eletroforese (PAULING e col., 1949). Atualmente, são conhecidas mais de 300 variantes de hemoglobinas humanas e esse número tem aumentado constantemente. Embora essa variação genética não exista somente no homem, as variantes da hemoglobina humana são estudadas mais frequentemente. As variações que não causam nenhuma alteração nas propriedades da molécula, em uma parte não crítica da mesma, podem permanecer indetectadas pe-

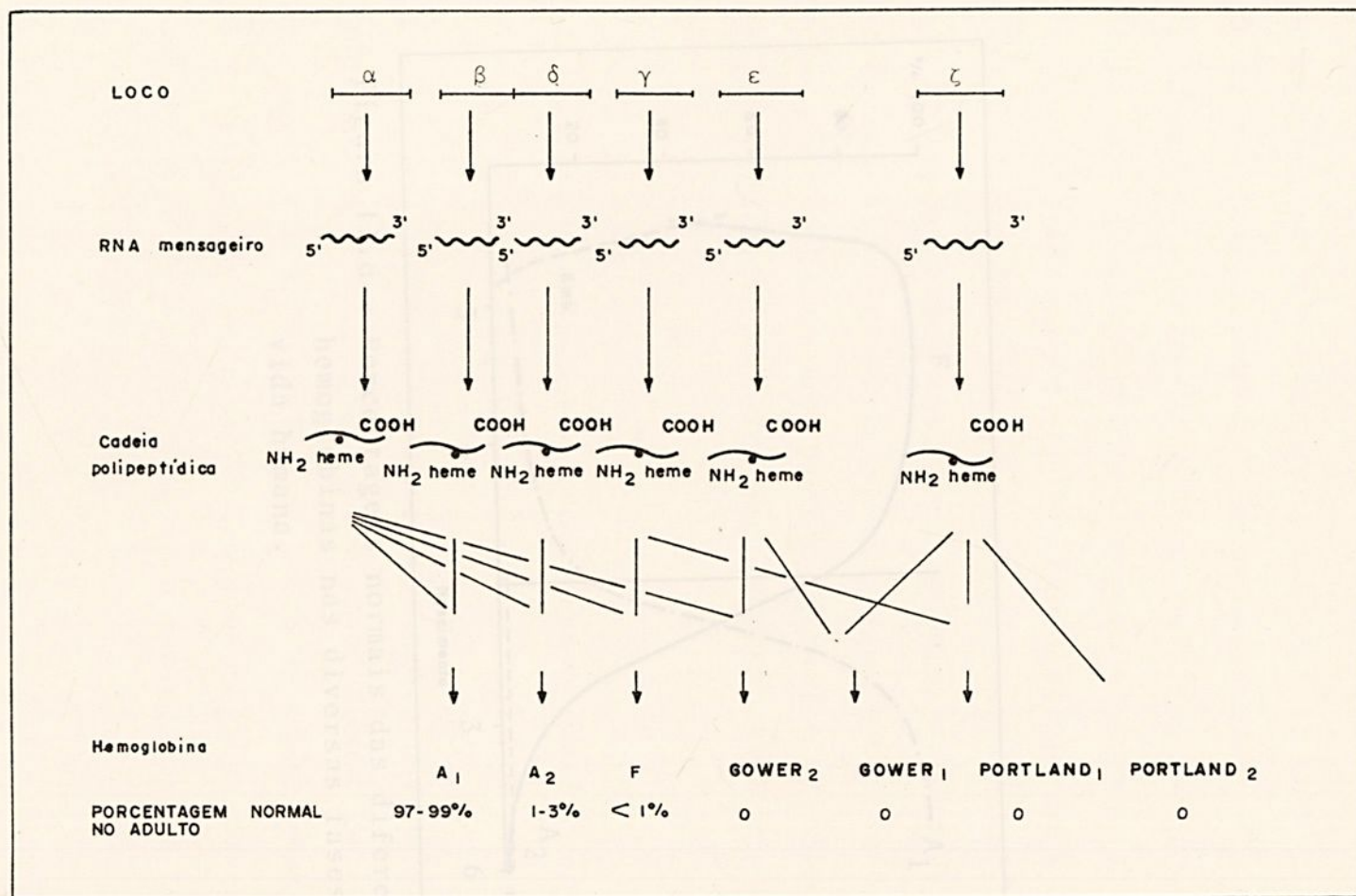


Figura II.c - Processo geral de síntese dos diversos tipos de hemoglobinas humanas normais.

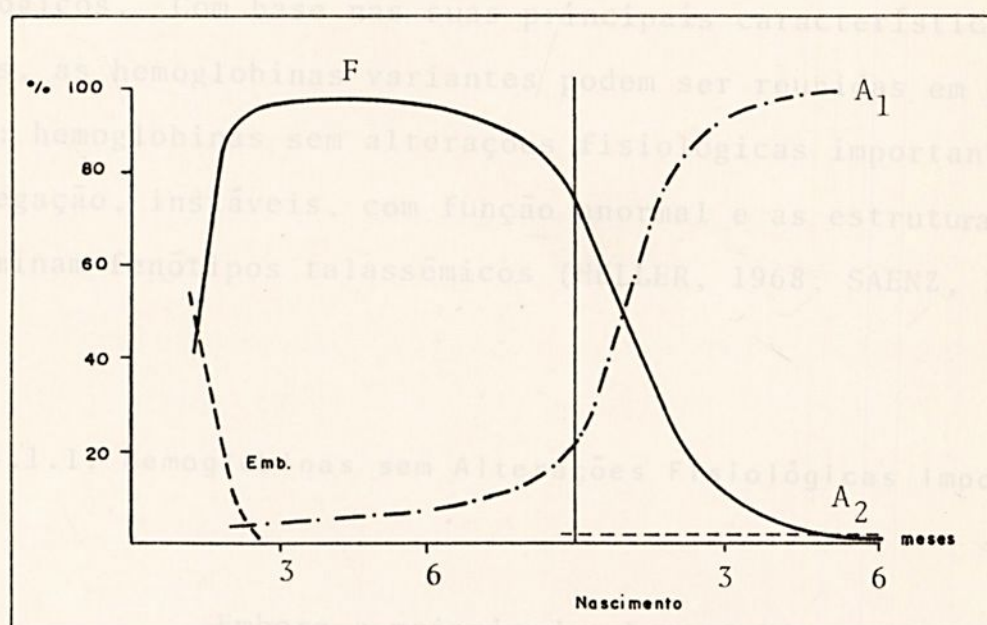


Figura II.d - Porcentagens normais das diferentes hemoglobinas nas diversas fases da vida humana.

11.4.1.2. Hemoglobinas de Agregação

A formação intraeritrocitária de cristais, pela

las técnicas de rotina. Entretanto, aquelas que determinam alterações na carga elétrica da superfície da proteína, como a substituição do ácido glutâmico pela valina, na hemoglobina S, são prontamente detectadas por técnicas eletroforéticas. Semelhantemente, outras variantes podem causar mudanças na estabilidade da molécula de hemoglobina ou afinidade pelo oxigênio e, conseqüentemente serem detectadas mais facilmente. Embora a maioria das variantes produzam pouca consequência fisiológica, elas são importantes em estudos bioquímicos, genéticos e antropológicos. Com base nas suas principais características funcionais, as hemoglobinas variantes podem ser reunidas em cinco grupos: hemoglobinas sem alterações fisiológicas importantes, de agregação, instáveis, com função anormal e as estruturais que determinam fenótipos talassêmicos (HELLER, 1968; SAENZ, 1978).

II.4.1.1. Hemoglobinas sem Alterações Fisiológicas Importantes

Embora a maioria das hemoglobinas variantes não produzam efeitos clínicos e alterações hematológicas significativos, elas são importantes do ponto de vista genético, bioquímico e antropológico. Pertencem a esse grupo cerca de 300 tipos diferentes de hemoglobinas que aparecem como variantes raras (HONIG & ADAMS III, 1986).

II.4.1.2. Hemoglobinas de Agregação

A formação intraeritrocitária de cristais, pela

hemoglobina C, e de tactóides pela hemoglobina S, determinam alterações fisiológicas de importância clínica e hematológica (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974).

A hemoglobina C se origina pela substituição de um único aminoácido: o ácido glutâmico é substituído pela lisina, na posição número seis, da cadeia polipeptídica beta e migra, na mesma posição da hemoglobina A₂, em eletroforese alcalina, constituindo cerca de 28-44% da hemoglobina total, no traço da hemoglobina C ou HbAC. Os indivíduos com o traço da hemoglobina C são assintomáticos, não têm anemia e não apresentam evidência de hemólise; o esfregaço sanguíneo pode mostrar aumento de células em alvo. As pessoas com a moléstia da hemoglobina C ou HbCC podem ser completamente assintomáticos, mas podem apresentar anemia hemolítica crônica moderada, esplenomegalia e, geralmente, sintomas clínicos suaves (vide referências em WILLIAMS e col., 1976).

A hemoglobina S resulta da substituição de um único aminoácido da cadeia polipeptídica beta na posição seis; o ácido glutâmico é substituído pela valina. Essa substituição na superfície externa, provoca uma reação anormal entre as moléculas de hemoglobina S, quando a tensão de oxigênio diminui. Com a desoxigenação, a baixa solubilidade da hemoglobina S permite uma polimerização anormal das moléculas, formando tactóides, com a alteração da hemoglobina S, do estado de sol ao gel, podendo provocar deformação dos eritrócitos, que atingem a forma de foice (NOGUCHI & SCHECHTER, 1985). O processo pode ser estudado, seguindo a geleificação da solução de hemoglobina. Uma solução de desoxiemoglobina S a 26%, geleifica a 37°C, mas torna-se homo-



gênea a 4°C. A falcização depende também do pH: a acidose acel^{er}a e a alcalose retarda o afoiçamento *in vivo*. Sabe-se que a hemoglobina S interage melhor com alguns tipos de hemoglobina que facilitam o empilhamento dos eritrócitos falcizados. Assim, parece que outros resíduos, além de $\beta 6$, precisam estar envolvidos nesse fenômeno. A hemoglobina S falciza bem, quando forma híbridos com as hemoglobinas variantes C, D e O Arábia. A hemoglobina variante Korle-Bu ($\beta 73$ ASP $\rightarrow$ ASN) protege a hemoglobina S, contra a falcização. A mais forte protetora do processo de afoiçamento da hemoglobina S é a hemoglobina fetal que não somente tem mais alta solubilidade que as hemoglobinas A_1 e S, mas também aumenta a sua solubilidade na mistura (vide referências em LEHMANN & CASEY, 1974). Em eletroforese alcalina ela migra em posição intermediária às frações das hemoglobinas adultas normais A_1 e A_2 . A hemoglobina SS ou anemia falciforme são termos que designam o estado homozigoto da hemoglobina S, enquanto traço falciforme ou HbAS indicam a forma heterozigota. A anemia falciforme é uma doença de sérias consequências fisio-patológicas, caracterizadas por crises dolorosas recorrentes, freqüentes infecções bacterianas, gradual deterioração das funções dos órgãos e uma expectativa de vida diminuída. O estado heterozigoto é benigno em condições fisiológicas normais, mas é importante do ponto de vista genético (BARNHART e col., 1976).

anose, devido à ausência da afinidade ao oxigênio. As hemoglobinas com alterações nas interações heme-heme podem ter uma afinidade ao oxigênio diminuída, mas sem metemoglobinemia. Como exemplo de hemoglobinas que apre-

sentam diminuição da afinidade ao oxigênio, temos as hemoglobinas Kansas e Titusville, cuja manifestação clínica principal

As substituições de aminoácidos, no interior da

molécula da hemoglobina, geralmente, resultam em modificações drásticas na sua estrutura e função, levando a uma instabilidade ou alteração da afinidade ao oxigênio. Mesmo na forma heterozigota, na qual tal mutação pode compreender somente uma pequena proporção do total de hemoglobina intracelular, tais alterações podem ter sérias consequências clínicas. As hemoglobinas instáveis têm uma ausência na afinidade entre as cadeias polipeptídicas e o grupo heme, o que provoca a sua precipitação, formando os corpos de Heinz. O calor e os agentes químicos favorecem a desnaturação das hemoglobinas instáveis, com a precipitação das cadeias polipeptídicas e o aparecimento dos corpos de Heinz nos eritrócitos. Neste grupo se encontram cerca de 80 diferentes tipos de hemoglobinas: Bibba, Hammersmith, Bristol, J. Rovigo, etc. (NAOUM, 1986).

II.4.1.4. Hemoglobinas com Funções Anormais

Constituem este grupo as seis hemoglobinas M (Boston, Iwate, Saskatoon, Hyde Park, Milwaukee e IM Osaka) e as hemoglobinas com afinidade aumentada ou diminuída ao oxigênio. As hemoglobinas M apresentam substituições de aminoácidos próximos à região heme, provocando a oxidação do ferro e, conseqüente produção de metemoglobina. A principal manifestação clínica das hemoglobinas M é a cianose, devido à ausência da afinidade ao oxigênio. As hemoglobinas com alterações nas interações heme-heme podem ter uma afinidade ao oxigênio diminuída, mas sem metemoglobinemia. Como exemplo de hemoglobinas que apresentam diminuição da afinidade ao oxigênio, temos as hemoglobinas Kansas e Titusville, cuja manifestação clínica principal



é a hemólise. As hemoglobinas com mutações nas interações $\alpha_1\beta_1$ (Hb Chesapeake), interfaces $\beta-\beta$ (Hb Hiroshima), no pacote heme (Hb Heatrow) e nos sítios de ligação do 2,3-DPG (Hb Rahere) apresentam uma maior afinidade ao oxigênio. Essa afinidade aumentada da hemoglobina leva a um decréscimo do oxigênio liberado aos tecidos, resultando em hipoxia; isso estimula a produção do hormônio eritropoietina, provocando uma policitemia (LEHMANN & CASEY, 1974; HONIG & ADAMS III, 1986)

II.4.1.5. Variantes Estruturais que originam Fenótipos Talassêmicos

Entre as variantes estruturais que originam fenótipos talassêmicos, a hemoglobina Lepore apresenta fenótipo talassêmico beta e a hemoglobina Constant Spring, fenótipo talassêmico alfa. É possível que a Hb Lepore se origine devido a um *crossing-over* desigual dos genes β e δ mal alinhados. O gene codificador da Hb Lepore começaria com um δ e terminaria com um β , o que resulta em uma deleção parcial de cada um dos genes. A hemoglobina Lepore tem um efeito deletério, com manifestações clínicas da talassemia beta (BAGLIONI, 1962). Uma mutação no codon de terminação, comprometendo a cadeia polipeptídica alfa, produz a hemoglobina Constant Spring. A cadeia variante tem 171 aminoácidos, devido à mutação puntiforme com a substituição de um aminoácido na posição 142 da cadeia polipeptídica alfa (CLEGG e col., 1971; WEATHERALL & CLEGG, 1979a).

II.4.2. Talassemias

As talassemias são caracterizadas pela redução da taxa de síntese de uma ou mais cadeias polipeptídicas; são classificadas nos tipos α , β , $\delta\beta$ e $\gamma\delta\beta$. As talassemias alfa e beta são, ainda, subdivididas nas formas α^0 e β^0 em que, respectivamente, nenhuma cadeia polipeptídica alfa e beta são produzidas e nas formas α^+ e β^+ em que as cadeias polipeptídicas são sintetizadas, mas em taxas reduzidas (SPRITZ & FORGET, 1983). O defeito da síntese de um dos pares de cadeias polipeptídicas do tetrâmero hemoglobínico conduz a um desbalanceamento entre os dímeros. As cadeias, em excesso relativo, precipitam-se e causam as anormalidades características de maturação e sobrevivência dos eritrócitos (WEATHERALL & CLEGG, 1979b-1982). Há, ainda, um grupo de mutações que provocam a continuação da síntese de hemoglobina fetal, em grande proporção, no adulto, que recebem o nome de persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF). Embora essas condições não tenham significado clínico, elas são interessantes modelos para o estudo das mudanças da regulação gênica que ocorrem nas etapas do desenvolvimento humano (CLEGG & WETHERALL, 1976). Assim, como em todas as classificações biológicas, essa tentativa em dividir as hemoglobinas anormais, não é inteiramente satisfatória. Por exemplo, algumas hemoglobinas variantes, sintetizadas numa taxa reduzida, produzem os fenótipos clínicos das talassemias, como são os casos da hemoglobina Lepore e a hemoglobina Constant Spring (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

II.4.2.1. Talassemias Alfa

Com o emprego de enzimas de restrição, foi determinado que na talassemia alfa há uma deleção genética que pode afetar a um, dois, três ou quatro genes, porque existem quatro locos gênicos, dois em cada um do par de homólogos, do cromossomo 16, que governam a síntese das cadeias polipeptídicas alfa (ORKIN & GOFF, 1981; MARTINEZ, 1985).

De acordo com os sintomas, as talassemias alfa podem ser classificadas nas formas grave e média. Até recentemente, a forma grave era denominada talassemia alfa-1 e a média por talassemia alfa-2. Porém, os recentes trabalhos em genética molecular revelaram que a talassemia alfa-1 é determinada pela completa ausência de síntese das cadeias polipeptídicas alfa, sendo lógico denominar essa condição por talassemia α^0 . Semelhantemente, visto que a talassemia alfa-2 é causada pela produção diminuída das cadeias polipeptídicas alfa, ela recebe a denominação talassemia α^+ . A talassemia α^0 é causada pela deleção dos genes alfa e apresenta a representação haplóide (--), enquanto a talassemia α^+ pode resultar da deleção ou mutação em que um dos genes alfa é inativo ($-\alpha$) ou, ainda, devido a um bloqueio apenas parcial, de um ($\alpha^T\alpha$) ou dos dois genes alfa ($\alpha^T\alpha^T$) do haplótipo (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

A interação desses genes produz uma variedade de formas clínicas de talassemia alfa. Visto que, as cadeias alfa de ambas as hemoglobinas, A_1 e Fetal, apresentam síntese diminuída, em tal controle genético, as talassemias alfa provo-

cam produções deficientes de HbA₁ e Hb Fetal. O excesso relativo das cadeias polipeptídicas beta ou delta, provocado pela síntese reduzida das cadeias polipeptídicas alfa, pode levar à tetramerização de moléculas com as fórmulas γ_4 e β_4 , denominadas, respectivamente, hemoglobina Bart e hemoglobina H (LEHMANN & CASEY, 1974).

No feto, a deficiência de cadeias alfa, conduz a um excesso de cadeias gama, com a formação do tetrâmero γ_4 (Hb Bart); no adulto, a deficiência de cadeias alfa, leva a um excesso relativo de cadeias beta, produzindo o tetrâmero β_4 (Hb H). Assim, a presença de Hb Bart ou de HbH é indicação de talassemia alfa. As hemoglobinas Bart e H são encontradas em altas concentrações nos indivíduos com a síndrome da hidropisia fetal e na doença de hemoglobina H, respectivamente (WHO WORKING GROUP, 1982).

A síndrome da hidropisia fetal provoca a morte no período de 28 a 40 semanas da vida intra-uterina, ou logo após o nascimento. A composição hemoglobínica é de aproximadamente 80% de Hb Bart e 20% de Hb Portland; não há HbA₁ nem Hb Fetal. É observada, frequentemente, no sudeste da Ásia e, ocasionalmente, nas populações do Mediterrâneo. Os heterozigotos apresentam, ao nascer, de 5 a 10% de Hb Bart (WHO WORKING GROUP, 1982; WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

A doença de hemoglobina H se caracteriza por anemia hemolítica crônica, com expressividade clínica variável. A hemoglobina anormal (HbH), de rápida mobilidade eletroforética, oscila de 5 a 30% do total e sob a ação de agentes oxidantes, como o azul-de-cresil-brilhante, se evidencia na forma de inclusões intraeritrocitárias, pela precipitação das cadeias

polipeptídicas beta tetramerizadas que se instabilizaram. Em muitos casos, a hemoglobina H é acompanhada de pequenas quantidades de hemoglobina Bart. Recém-nascidos tailandeses com a doença de HbH não mostram qualquer anormalidade, porém, apesar dos níveis de hemoglobina próximos do normal, a morfologia dos eritrócitos é característica, podendo apresentar cerca de 25% de Hb Bart e traços de HbH. Com o tempo, a hemoglobina H substitui gradualmente a hemoglobina Bart, aparecendo frequentemente no primeiro ano de vida o quadro típico da enfermidade (SAENZ & FERREIRA, 1980).

II.4.2.2. Talassemias Beta

As talassemias beta são mais heterogêneas do que as talassemias alfa, sendo que muitos tipos estão bem conhecidos ao nível molecular. Entretanto, para uma classificação atualizada, as talassemias beta são divididas em talassemia β^0 , na qual nenhuma cadeia polipeptídica beta é sintetizada, e em talassemia β^+ , motivada pela ocorrência de um grau reduzido de síntese de cadeias beta. Especificamente, a talassemia β^+ apresenta dois tipos distintos: o *Mediterrâneo* e o *Negro*. O tipo *Mediterrâneo* apresenta a síntese de aproximadamente 10% de cadeias polipeptídicas beta, enquanto o tipo *Negro* tem a produção de pelo menos 50% de cadeias polipeptídicas beta. O tipo *Negro* é menos grave que o *Mediterrâneo* e provoca manifestações clínicas e hematológicas moderadas, tendo sido detectado em africanos e negros americanos. Usualmente, os homozigotos para a talassemia β^0 e da forma β^+ *Mediterrâneo* ne-

cessitam de transfusões de sangue desde os primeiros anos de vida, mas alguns pacientes apresentam um curso de vida com manifestações clínicas e hematológicas intermediárias às formas homozigotas e heterozigotas e são classificados como portadores de talassemia beta intermediária. A tabela II.1. mostra os tipos mais comuns de talassemia beta (WHO WORKING GROUP, 1982).

Tanto a talassemia β^0 , com ausência total do RNAm para a cadeia polipeptídica beta, como a talassemia β^+ , com pequenas quantidades de RNAm para a cadeia polipeptídica beta, no estado homozigoto, determinam a talassemia beta maior, com anemia severa, hepatoesplenomegalia e alterações ósseas; o padrão eletroforético se caracteriza por quantidades elevadas de hemoglobina Fetal. Em heterozigose, apresentam elevação de hemoglobina A_2 e uma discreta anemia microcítica e são denominadas talassemia beta menor. As formas heterozigóticas das talassemias beta podem ser totalmente silenciosas com quantidades normais de HbA_2 e a única maneira de diagnosticá-las é mediante estudo familiar e da síntese de cadeias polipeptídicas *in vitro*, em reticulócitos, que demonstra o desequilíbrio entre as cadeias alfa e beta, com excesso relativo da primeira (NIENHUIS, 1982; MARTINEZ, 1985).

II.4.2.3. Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal

A persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) é um termo que cobre uma variedade de condições, todas associadas com a persistência da produção de hemoglobina fetal após o período neonatal. Presentes evidências sugerem que es-



TABELA II.1. Tipos mais comuns de Talassemia Beta.

Tipos de Talassemia Beta	Homozigotos	Heterozigotos
β^0	Talassemia maior Hb Fetal ~98% HbA ₂ N ou ↑	Talassemia menor HbA ₂ = 3,5-7,0% α/β = 2:1 *
β^+ <i>Mediterrâneo</i>	Talassemia maior Hb Fetal 20-80% HbA ₂ N ou ↑	Talassemia menor Hb A ₂ 3,5-7,0% α/β = 2:1 *
β^{++} <i>Negro</i>	Talassemia inter mediária Hb Fetal 20-40% HbA ₂ 2-5%	Talassemia menor HbA ₂ 3,5-7,0% α/β = 1,2-2,0:1*
β^+ HbA ₂ Normal, tipo 1 Silencioso	Talassemia Inter mediária branda Hb Fetal 10-30% HbA ₂ 5%	Normal HbA ₂ normal α/β = 1,2-1,5:1*
β^0 ou β^+ HbA ₂ Normal, tipo 2	Provavelmente Ta- lassemia maior	Talassemia menor HbA ₂ normal α/β = 2:1 *

N = concentração normal

↑ = concentração discretamente elevada

* = proporção de síntese de cadeias alfa e beta

sas anomalias são formas suaves de talassemia e na forma *Negro* de PHHF, os locos que comandam as sínteses das cadeias polipeptídicas beta e delta sofreram deleção (vide referências em LEHMANN & CASEY, 1974). Recentemente, demonstrou-se que as deleções que causam a PHHF estão situadas, no mínimo a 52-57 Kb da extremidade 3' (TUAN e col., 1983). Há formas de PHHF em que parece não haver nenhuma deleção no complexo gênico das cadeias polipeptídicas $\gamma\delta\beta$. Estudos genéticos mostraram que pelo menos três dessas condições, as PHHF grega e inglesa e a PHHF G_{β}^+ , resultam de lesões dentro do complexo gênico $\gamma\delta\beta$ ou próximo a ele. Outrossim, recentemente foi constatado que determinantes para algumas formas de não-deleção de PHHF não estão ligadas ao complexo gênico $\gamma\delta\beta$. Isso é a primeira indicação de que um loco gênico, fora do complexo gênico da cadeia polipeptídica, está envolvido na sua regulação (vide referências em WEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

II.4.3. Formas Interativas de Hemoglobinas Anormais

A presença concomitante de genes que determinam 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 a HbSC, HbSD, HbS/talassemia beta e outras (BARNHART e col., 1976).

A doença de hemoglobina SC é um estado duplo heterozigótico, no qual os portadores têm dois alelos anormais (S e C) e sintetizam somente cadeias beta-S e beta-C. Por essa razão, não produzem a hemoglobina normal A_1 . Os elementos clínicos

da moléstia de hemoglobina SC são menos graves que os dos homozigotos SS. Os sintomas caracterizados por dores ósseas, articulares, abdominais e hematúria ocorrem na primeira década de vida, mas alguns permanecem assintomáticos até a quarta década ou mais. Em indivíduos assintomáticos, sem complicações, não há anemia. O esfregaço sanguíneo mostra a combinação dessas duas hemoglobinas anormais, com a existência ocasional de hemácias afoiçadas devido à presença de hemoglobina S e o aumento de células em alvo, característico da hemoglobina C (WILLIAMS e col., 1976).

A interação das hemoglobinas S e D causa a doença de hemoglobina SD. Este estado duplo heterozigoto é caracterizado por um curso clínico relativamente suave; alguns indivíduos são totalmente assintomáticos. Os duplos heterozigotos SC e SD dão um quadro clínico com anemia hemolítica e esplenomegalia. Embora as hemoglobinas S e D migrem na mesma posição, em eletroforese alcalina, podendo dar a falsa impressão de homozigoto, elas podem ser separadas em eletroforese, em gel de ágar, pH ácido (BARNHART e col., 1976).

A interação da hemoglobina S/talassemia beta provoca uma anemia moderadamente severa e o quadro clínico próximo do verificado na anemia falciforme. Episódios vaso-oclusivos podem ser frequentes. Na eletroforese, a hemoglobina A₁ aparece em quantidades de 0 a 20% e, quando ela não é sintetizada, o quadro clínico é mais grave (BARNHART e col., 1976). A interação dos genes S e β^0 determina uma forma grave, conhecida como anemia microdrepanocítica, confundida frequentemente com a anemia falciforme; provoca anemia hemolítica, retardo de crescimento, crises de falcização e outros sintomas. A intera



ção dos genes S e β^+ produz uma forma branda de microdrepanocitose, raramente confundida com o traço falciforme (vide referências em RAMALHO, 1986).

II.5. Distribuição Geográfica das Hemoglobinas Anormais

Uma característica interessante das hemoglobinas é a sua distribuição heterogênea nas diferentes populações do mundo. Entre as hemoglobinas anormais variantes, destacam-se especialmente os tipos S, C, E e D. As hemoglobinas S e C são encontradas com maior frequência entre os negros africanos. A mais alta frequência de hemoglobina S ocorre em uma extensa área que vai da Costa Oeste à Costa Leste, no terço médio superior do continente africano. A frequência média, da forma heterozigota da hemoglobina S (HbAS), na África, é estimada em torno de 20%, sendo que em Uganda, essa frequência varia de 2,9-46%, nos diversos grupos étnicos. A presença do gene da hemoglobina C, tal como ocorre no Oeste da África, sugere, provavelmente, mútua exclusividade em relação ao gene da hemoglobina S. Quando aumenta a frequência do gene da hemoglobina C, diminui a frequência do gene S, como foi observado em populações analisadas de Gana. A hemoglobina E é mais comum na Ásia, sendo que as mais altas frequências (15-30%) são encontradas no Cambódia, Ceilão, Indonésia e Malásia; a hemoglobina D é comum na Índia e no Paquistão (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974; BARNHART, 1976; WINTER, 1980; VOGEL & MOTULSKY, 1982).

Entre as diferentes síndromes talassêmicas destacam-se particularmente as talassemias alfa e beta. As talas-

semias alfa são comuns entre os povos asiáticos, mediterrâneos e africanos. As diferentes formas de deleção das talassemias α^+ estão amplamente difundidas e são encontradas em cerca de 35% em algumas populações do Oeste da África e acima de 70-90% em populações de certas regiões da Índia e Melanésia (WEATHERALL & WAINSCOT, 1985). As talassemias beta são especialmente encontradas entre os povos mediterrâneos, mas apresenta ampla distribuição no mundo, o que tem sido motivo de várias hipóteses quanto à sua origem: alguns sugerem que ela surgiu nas populações do mediterrâneo e depois se espalhou para os outros povos, enquanto outros sustentam a hipótese de sua origem na China e levada pelos mongóis à Europa (LEHMANN & HUNSTMAN, 1974).

A população brasileira apresenta diversidade dos tipos de hemoglobinas anormais. A mais freqüente é a hemoglobina AS, representando 60,9% das *hemoglobinopatias*, seguida das talassemias alfa e beta (15,5%) e a hemoglobina AC (14,2%). As formas raras representam 9,2% das hemoglobinas anormais (NAOUM e col., 1986).

A população paulista que até o início do século XIX era constituída basicamente por portugueses colonizadores, escravos africanos e mestiços recebeu, no período de 1887-1932, cerca de 2,6 milhões de imigrantes, dos quais os italianos representavam 36%, os portugueses 15%, os espanhóis 14%, os japoneses 4%, alemães, árabes, austríacos, russos e poloneses 20% e os de outras nacionalidades 11%. Como esses grupos se dispersaram desigualmente pelas diferentes regiões econômico-demográficas, as freqüências das diversas formas de hemoglobinas anormais variam, dependendo da composição racial da sua popu



lação (NAOUM e col., 1984).

II.6. A Importância das Hemoglobinas Anormais para a Saúde Pública no Brasil

A população brasileira é constituída por indivíduos de várias procedências raciais. A nossa colonização se processou absorvendo gradualmente grande contingente de imigrantes que nos trouxeram a sua contribuição não só com o trabalho, mas também com a sua cultura e seus usos e costumes. O conjunto gênico da população brasileira apresenta genes oriundos de diversos grupos raciais. Os genes responsáveis por determinadas *anemias hereditárias* são encontrados em nossa população, às vezes, em frequências consideráveis. Entre eles destacam-se aqueles responsáveis pela hemoglobina S e pela talassemia beta. A detecção de indivíduos portadores das formas não graves das *anemias hereditárias*, ou seja, no estado heterozigoto, se reveste de importância para a Saúde Pública em nosso país, pois, esses além de representarem fonte de novos heterozigotos, podem, através de casamentos entre portadores, originar indivíduos homozigotos e duplos heterozigotos com a forma grave. Os homozigotos identificados previamente têm a chance de serem encaminhados para o tratamento médico adequado, embora esse seja, na maioria dos casos, apenas paliativo, atenuando as graves manifestações clínicas. Os levantamentos populacionais das hemoglobinas anormais apresentam interesse social, pois, por meio do aconselhamento genético, os portadores heterozigotos detectados podem decidir de maneira consciente e responsável sobre a sua futura

prole. Além disso, a detecção dos portadores de hemoglobinas anormais, em geral, favorece o direcionamento do procedimento médico. A melhor idade para tais levantamentos é discutível, necessitando de outros estudos para defini-la melhor. A população adolescente, entretanto, é mais acessível aos processos de detecção, de conscientização e de aconselhamento genético. Tais informações são relevantes para esse grupo, cujos componentes se encontram, muitas vezes, em idade pré-marital (BARNHART e col., 1976; SILVESTRONI e col., 1978).

Com o objetivo de conscientizar a população escolar das cidades de Barretos e Colina, para a pesquisa de hemoglobinas anormais adotou-se o título *Anemias Hereditárias* visando atingir de maneira eficaz os alunos das escolas estaduais de primeiro e segundo graus de ambas as cidades. O desenvolvimento prático desse processo obedeceu às seguintes fases:

1. *Conscientização dos Professores* - Foi promovida uma palestra aos professores de Ciências (primeiro grau) e Biologia (segundo grau) das escolas estaduais das cidades de Barretos e Colina. Essa atividade recebeu o apoio da Delegacia de Ensino de Barretos. Na oportunidade foram abordados os seguintes temas:

- a) principais componentes do sangue humano e suas respectivas funções;
- b) tipos de anemias e suas causas;
- c) anemias hereditárias - por hemoglobinas anormais;
- d) algumas noções hematológicas referentes a fisiopatologia dos glóbulos vermelhos;

III. MATERIAIS E MÉTODOS

III.1. Conscientização da População Estudada e Coleta das Amostras

III.1.1. População Escolar

Com o objetivo de conscientizar a população escolar das cidades de Barretos e Colina, para a pesquisa de hemoglobinas anormais adotou-se o título *Anemias Hereditárias* visando atingir de maneira eficaz os alunos das escolas estaduais de primeiro e segundo graus de ambas as cidades. O desenvolvimento prático desse processo obedeceu às seguintes fases:

1. *Conscientização dos Professores* - Foi promovida uma palestra aos professores de Ciências (primeiro grau) e Biologia (segundo grau) das escolas estaduais das cidades de Barretos e Colina. Essa atividade recebeu o apoio da Delegacia de Ensino de Barretos. Na oportunidade foram abordados os seguintes temas:

- a) principais componentes do sangue humano e suas respectivas funções;
- b) tipos de anemias e suas causas;
- c) *anemias hereditárias* por hemoglobinas anormais;
- d) algumas noções hematológicas referentes a fisio-patologia dos glóbulos vermelhos;



e) meios de detecção e identificação das hemoglobinas humanas normais e anormais;

f) importância das *anemias hereditárias* no desenvolvimento dos conhecimentos em Genética, Bioquímica e Saúde Pública.

2. *Repasse das Informações* - Em uma etapa posterior, os professores repassaram as informações obtidas aos seus respectivos alunos, durante as aulas normais.

3. *Mini-Palestras Precedendo a Coleta das Amostras* - Nessa etapa, visando reforçar as informações que os alunos receberam dos seus professores, realizou-se mini-palestras em cada uma das sessenta e três salas de aula visitadas (cinquenta e uma em Barretos e doze em Colina), enfatizando:

- a) o sangue: características principais, estrutura e função dos componentes sangüíneos;
- b) anemias adquiridas e hereditárias;
- c) alguns tipos de *anemias hereditárias*;
- d) providências que o portador deve tomar.

Durante as mini-palestras foram distribuídas cartilhas explicativas (anexo 1), elaboradas para esse fim, contendo os seguintes tópicos:

- a) o que é anemia;
- b) quais as causas de anemia;
- c) o que é *anemia hereditária*;
- d) como se transmite a *anemia hereditária*;
- e) o que deve fazer o portador de *anemia hereditária*.



4) *Reuniões de esclarecimentos aos Escolares Portadores de Hemoglobinas Anormais e seus Familiares* - Essas reuniões foram realizadas com o objetivo de promover esclarecimentos adequados aos indivíduos com *anemia hereditária* e seus familiares. Na oportunidade, receberam informações concernentes aos seguintes assuntos:

- a) causas das anemias;
- b) tipos de anemias;
- c) formas mais comuns de *anemias hereditárias*
- d) providências necessárias a serem tomadas pelos portadores.

Duas reuniões foram programadas para essa finalidade. Para a primeira reunião, os portadores e seus familiares receberam um convite para comparecerem a mesma, a fim de obterem esclarecimentos a respeito das *anemias hereditárias*. Visando aprimorar a comunicação, foram elaboradas cartas explicativas, específicas para as três formas mais comuns de hemoglobinas anormais encontradas na população pesquisada: HbAS, HbAC e talassemia beta heterozigota (anexos 2,3 e 4). Essas cartas passaram a acompanhar os convites para as reuniões de esclarecimentos.

As reuniões contaram com as participações do orientador dessa pesquisa, o professor Dr. Paulo Cesar Naoum, e do médico hematologista Dr. Ivan de Lucena Angulo que, juntamente com o autor desse trabalho, forneceram aos presentes informações médico-biológicas sobre:

- a) importância do conhecimento da forma de *anemia hereditária* detectada e os cuidados básicos aos portadores ;



b) direcionamento do tratamento médico adequado;

c) risco da progênie de pais portadores.

No final da reunião realizou-se a coleta de sangue dos presentes para as análises laboratoriais de detecção e identificação de hemoglobinas humanas. Os casos positivos foram notificados através de carta explicativa. Todos os portadores receberam uma carteira de identidade de *anemia hereditária*, específica para cada tipo, contendo informações gerais sobre o assunto (anexos 5, 6 e 7).

III.1.2. População do Tiro de Guerra de Barretos

Com o objetivo de conscientizar os jovens que serviram ao Tiro de Guerra no ano de 1985, na cidade de Barretos, foi realizada uma palestra sobre *anemias hereditárias*, precedendo a coleta das amostras que se deu da mesma forma utilizada em toda a população estudada. A abordagem compreendeu os mesmos temas das mini-palestras efetuadas aos escolares, utilizando, também, linguagem simples devido à heterogeneidade dos ouvintes, em relação ao nível de instrução. Aos presentes foram distribuídas cartilhas explicativas do programa *anemias hereditárias*.

A comunicação dos resultados se deu com a entrega das cartas explicativas. Nessa oportunidade, cada portador recebeu informações gerais dos mesmos temas da reunião com os escolares e seus familiares e a carteira de identidade de *anemia hereditária*.



III.1.3. População das Creches de Barretos

A coleta das amostras das crianças, das oito creches de Barretos que participaram dessa pesquisa, foi realizada por punção digital. Essa se verificou sem uma reunião prévia, com os pais ou responsáveis pelas crianças, para a orientação sobre o programa de *anemias hereditárias* devido à inviabilidade em reuni-los. As crianças foram informadas sobre a importância do exame e tranquilizadas a respeito da forma da coleta, antes da realização da mesma.

Os resultados foram entregues à direção de cada creche para o encaminhamento aos médicos responsáveis para as providências necessárias. As cartas explicativas e as carteiras de identidade de *anemia hereditária* foram enviadas aos pais ou responsáveis, por intermédio das direções das creches.

III.1.4. População do Posto de Saúde de Barretos

Ao comparecerem ao Posto de Saúde para receber as doses regulares de vacinas, os pais ou responsáveis pelas crianças receberam esclarecimentos verbais e cartilha simplificada (anexo 8) sobre as *anemias hereditárias* e logo após, foram realizadas as coletas das amostras por punção digital. Os resultados dos exames laboratoriais, acompanhados de carta explicativa individual e carteira de identidade de *anemia hereditária*, foram entregues ao médico-chefe do Posto de Saúde de Barretos para o encaminhamento aos pais ou responsáveis.

III.2. Coleta do Material; Identificação dos Indivíduos Participantes; Acondicionamento, Conservação e Transporte do Material; Exames Laboratoriais

Foram obtidas 2822 amostras de sangue venoso no período entre 10/9/84 a 07/4/86, sendo 2427 na cidade de Barretos e 395 na cidade de Colina (Figura III.a). As coletas das amostras se realizaram por punção digital, utilizando lancetas descartáveis e tubos heparinizados de microematócrito. De cada indivíduo coletou-se um tubo de sangue que foi acondicionado no respectivo compartimento da *bolacha plástica* (anexo 9) com capacidade para vinte e cinco tubos, identificados por um número correspondente.

Em folha suplementar (anexo 10) deu-se a identificação de cada indivíduo, iniciando com a numeração constante da *bolacha plástica* (de 1 a 25) no compartimento contendo o tubo com a amostra de sangue. O nome e o sobrenome foram anotados integralmente, seguidos da idade (id), sexo (sx) e da cor (cr). A cor da pele foi diferenciada em dois grupos: caucásios (c) e negróides (n). Foram considerados negróides os mulatos claros e escuros e aqueles com características típicas, como: formas dos lábios e nariz e o tipo de cabelo.

Inicialmente, após a coleta, as amostras foram acondicionadas em caixa de isopor, conservadas com gelo reciclável e enviadas num intervalo máximo de vinte e quatro horas, ao laboratório para as análises necessárias.

Na população escolar, as coletas foram efetuadas após cada mini-palestra. Nos indivíduos do Tiro de Guerra, as amostras foram obtidas, de uma só vez, sendo também precedidas

de uma palestra geral. Por outro lado, nas creches, as coletas se verificaram depois de uma breve explanação sobre a necessidade de se efetuar tal exame. No Posto de Saúde, as coletas foram precedidas de orientação aos pais ou responsáveis, pelas crianças, quando estes compareciam para vacinação regular.

Em todos os casos, antes da punção, foi feita a assepsia do dedo com algodão embebido em álcool etílico.

A quantidade de sangue obtida foi suficiente para as seguintes análises.

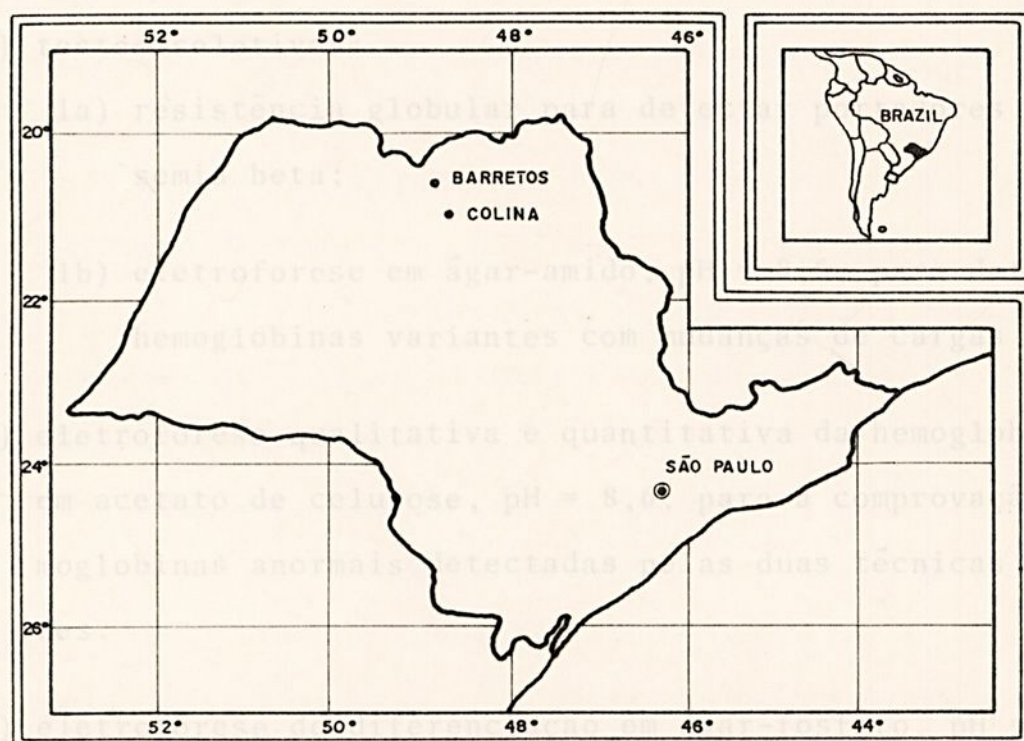


Figura III.a - Mapa do Estado de São Paulo, destacando, além da capital, as cidades de Barretos e Colina, de onde provieram as amostras de sangue para as análises dos tipos de hemoglobina.

de uma palestra geral. Por outro lado, nas creches, as coletas se verificaram depois de uma breve explanação sobre a necessidade de se efetuar tal exame. No Posto de Saúde, as coletas foram precedidas de orientação aos pais ou responsáveis, pelas crianças, quando estes compareciam para vacinação regular.

Em todos os casos, antes da punção, foi feita a assepsia do dedo com algodão embebido em álcool etílico.

A quantidade de sangue obtida foi suficiente para as seguintes análises.

1) testes seletivos:

1a) resistência globular para detectar portadores de talassemia beta;

1b) eletroforese em ágar-amido, pH = 8,6, para detectar as hemoglobinas variantes com mudanças de cargas elétricas;

2) eletroforese qualitativa e quantitativa da hemoglobina A₂, em acetato de celulose, pH = 8,6, para a comprovação das hemoglobinas anormais detectadas pelas duas técnicas anteriores.

3) eletroforese de diferenciação em ágar-fosfato, pH = 6,2, para as hemoglobinas lentas, que migram na mesma posição em pH alcalino, especialmente utilizada na comprovação das hemoglobinas S e C.

Estudos adicionais foram realizados, quando necessários, incluindo dosagem de hemoglobina fetal, pesquisa de hemoglobina fetal intraeritrocitária, pesquisa citológica de corpos de Heinz e de hemoglobina H e eletroforese de cadeias

polipeptídicas. Neste caso, nova coleta de sangue se fez necessária.

Exames Laboratoriais

Todas as amostras foram estudadas, inicialmente, pelos processos seletivos de resistência globular, em solução tamponada de cloreto de sódio a 0,36% e eletroforese em placas de ágar-amido, pH = 8,6, com capacidade para 80-100 aplicações. Aquelas que exibiram anormalidades por esses dois processos seletivos, foram submetidas à eletroforese qualitativa em acetato de celulose, pH = 8,6.

Para diferenciar as hemoglobinas S/D/G e C/E/O , que migram em posições similares em pH alcalino, foi utilizada a eletroforese em ágar-fosfato, pH = 6,2. A hemoglobina S foi confirmada, em todos os casos, mediante prova de falcização.

O estudo das hemoglobinas variantes raras deu-se com a utilização de técnicas específicas para a separação de cadeias polipeptídicas, por eletroforese em acetato de celulose, tampão TRIS-EDTA-BORATO-URÉIA, pH = 8,6, com incubação prévia do hemolisado em uma mistura de tampão/2-mercaptoetanol.

As determinações quantitativas, quando necessárias, foram realizadas por meio das seguintes técnicas:

a) dosagem de hemoglobina A_2 - utilizando a eletroforese quantitativa em acetato de celulose, pH = 8,6, seguida da leitura das densidades ópticas das frações das hemoglobinas A_1 e A_2 , eluídas em água destilada.

b) dosagem de hemoglobina fetal pelo teste de



resistência à desnaturação alcalina, em hidróxido de sódio, 1,2N.

Os casos de aumento da quantidade de hemoglobina fetal foram submetidos a exame da coloração intraeritrocitária da hemoglobina fetal, para diagnosticar portadores de persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF).

As pesquisas citológicas de corpos de hemoglobina H foram realizadas quando os processos eletroforéticos em pH alcalino mostravam uma fração mais rápida que a hemoglobina A₁, na posição da hemoglobina H ou nos casos em que a quantidade de hemoglobina A₂ estava diminuída.

É importante ressaltar que as amostras de sangue, após a coleta até a realização dos exames, se mantiveram sob refrigeração. Todos os procedimentos laboratoriais foram executados num intervalo de vinte e quatro horas após a coleta.

Os casos positivos de hemoglobinas anormais, da pesquisa realizada nas cidades de Barretos e Colina, bem como dos exames executados após as reuniões comunitárias de esclarecimentos, foram catalogados em uma ficha, idealizada para esse fim (anexo 11). Todas essas fichas se encontram arquivadas no Centro de Referência de Hemoglobinas.

III.3. Especificação das Técnicas Utilizadas

III.3.1. Testes Seletivos para a Detecção de Hemoglobinas Anormais

Esses testes, utilizados durante o desenvolvimento da presente pesquisa, permitem a triagem das amostras que acusam alterações para os procedimentos laboratoriais específicos

cos.

III.3.1.1. Prova de Resistência Globular para detectar Portadores da Talassemia Beta

Método de Silvestroni-Bianco, 1975.

a) PRINCÍPIO - As hemácias dos indivíduos portadores da talassemia beta são mais resistentes à hemólise, *in vitro*, quando em presença de solução hipotônica aquosa e tamporada de cloreto de sódio a 0,36%. Esse teste é positivo para 97% dos portadores da talassemia beta.

b) REAGENTES

b₁) Solução estoque (solução de cloreto de sódio a 10%, pH = 7,4).

cloreto de sódio	90 g
ortofosfato di-sódico	13,65 g
ortofosfato mono-sódico mono	
hidratado	2.82 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml

b₂) Solução trabalho (solução de cloreto de sódio 0,36%).

solução estoque	36 ml
água destilada q.s.p.	1.000 ml

Observação: A solução trabalho deve ser preparada recentemente, no máximo com uma semana de antecedência.



c) PROCEDIMENTO - Coloca-se 5 μl de sangue total em um tubo de ensaio contendo 1,5 ml de solução de cloreto de sódio a 0,36%. Agita-se suavemente por inversão, aguardando 10 minutos.

d) INTERPRETAÇÃO - O tubo de ensaio contendo a amostra de sangue, em presença da solução de cloreto de sódio 0,36%, é colocado a uma distância de 2,5 cm de uma folha branca, contendo uma linha horizontal negra. A presença de hemácias com resistência aumentada à hemólise confere à amostra, um aspecto embaciado e a linha negra não é visível. Essa característica não serve para diagnóstico, pois não é exclusiva dos portadores da talassemia beta, mas presta-se a triagem das amostras para os exames posteriores.

III.3.1.2. Eletroforese em ágar-amido , pH = 8,6

Método de NAOUM e col., 1980

a) PRINCÍPIO - Permite a análise de 80-100 amostras de sangue por vez. Separa-se as frações mais lentas e mais rápidas que a HbA₁ em pH alcalino. Detecta as alterações quantitativas de HbA₂ e de Hb Fetal e revela a presença de metemoglobina pela mudança de cor da hemoglobina, durante o processo eletroforético.

b) REAGENTES

b₁) Tampão Borato, pH = 8,6 (utilizado nos compartimentos eletrolíticos)



Solução estoque

ácido bórico	18,6	g
hidróxido de sódio	3,4	g
água destilada q.s.p.	1.000	ml

Solução trabalho

solução estoque	125	ml
água destilada	500	ml

b₂) Tampão Tris-EDTA-Borato (T.E.B.), pH = 8,8
(utilizado na composição do gel de ágar-amido)

Solução estoque

Tris-hidroximetil -aminometano	10,1	g
ácido etileno di-amino tetracético	1,0	g
ácido bórico	0,76	g
água destilada q.s.p.	100	ml

Solução trabalho

solução estoque	4	ml
água destilada q.s.p.	40	ml

b₃) Gel de Ágar-Amido

bacto-ágar	300	mg
arrozina	600	mg
maizena	600	mg
tampão T.E.B. (sol.trabalho)	40	ml

b₄) Corante de Piramido*Solução estoque (piramido 5%)*

piramido	5	g
álcool etílico	100	ml



Solução trabalho

solução estoque	5 ml
ácido acético	5 ml
peróxido de hidrogênio (10 vol.)	2 ml

c) PROCEDIMENTO - Colocar os componentes do gel de ágar-amido em um erlenmeyer de 250 ml e aquecê-los em bico de Bunsen até que haja dissolução de todo o material, requerendo para isso, ebulições suaves por três a quatro períodos de dez segundos. Distribuir todo o conteúdo na placa de gel, previamente fixada com garras, em um suporte. Esperar o resfriamento, para adquirir consistência, durante cerca de 15 minutos.

Aplicar as amostras, iniciando a 1,5 cm do câto do e 1,0 cm da extremidade esquerda da placa, transferidas diretamente do tubo de microematócrito para a lâmina de aplicação. A quantidade por amostra introduzida no gel é de aproximadamente 0,2 μ l. Após cada aplicação, limpar o aplicador por meio de papel absorvente e utilizá-lo para a amostra seguinte.

Transferir a placa para a cuba de eletroforese e conectá-la aos compartimentos eletrolíticos, contendo tampão, com *Perfex* triplo.

Passar 300 volts (50 mA) por 45 minutos, à temperatura ambiente.

Remover a placa e analisar, as posições das hemoglobinas, sem ser submetida à coloração.

Corar com o piramido (solução trabalho) e verificar se há frações alteradas.

Identificar os tubos cujos sangue apresentarem frações com alterações qualitativas ou quantitativas.



d) INTERPRETAÇÃO - Consultar o mapa de disposi
ção de hemoglobinas em eletroforese alcalina (figura III.b)

III.3.2. Métodos eletroforéticos para qualificação e quantificação de hemoglobinas

A qualificação e quantificação das hemoglobinas anormais, previamente detectadas pelos testes seletivos, foram realizadas por meio de processos eletroforéticos e dosagem bioquímica de Hb Fetal.

III.3.2.1. Eletroforese qualitativa de hemoglobinas em acetato de celulose, pH = 8,6

Método de MARENGO-ROWE, 1965

a) PRINCÍPIO - Este método qualifica e quantifica hemoglobinas normais e grande parte das anormais. As diferentes mobilidades encontradas em hemoglobinas anormais são originadas por alterações de cargas elétricas, causadas por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoeletricos (pI). Existem, entretanto, hemoglobinas anormais oriundas de mutações que não envolvem mudanças de cargas elétricas, portando-se em eletroforese com mobilidade idêntica à da hemoglobina A₁. A ocorrência de hemoglobinas anormais que apresentam semelhantes mobilidades eletroforéticas em pH 6,6 a 9,0, pode ser geralmente detectada por outros processos eletroforéticos.



RELATIVE MOBILITIES OF HEMOGLOBINS ON CELLULOSE ACETATE (T.E.B.pH 8.6)

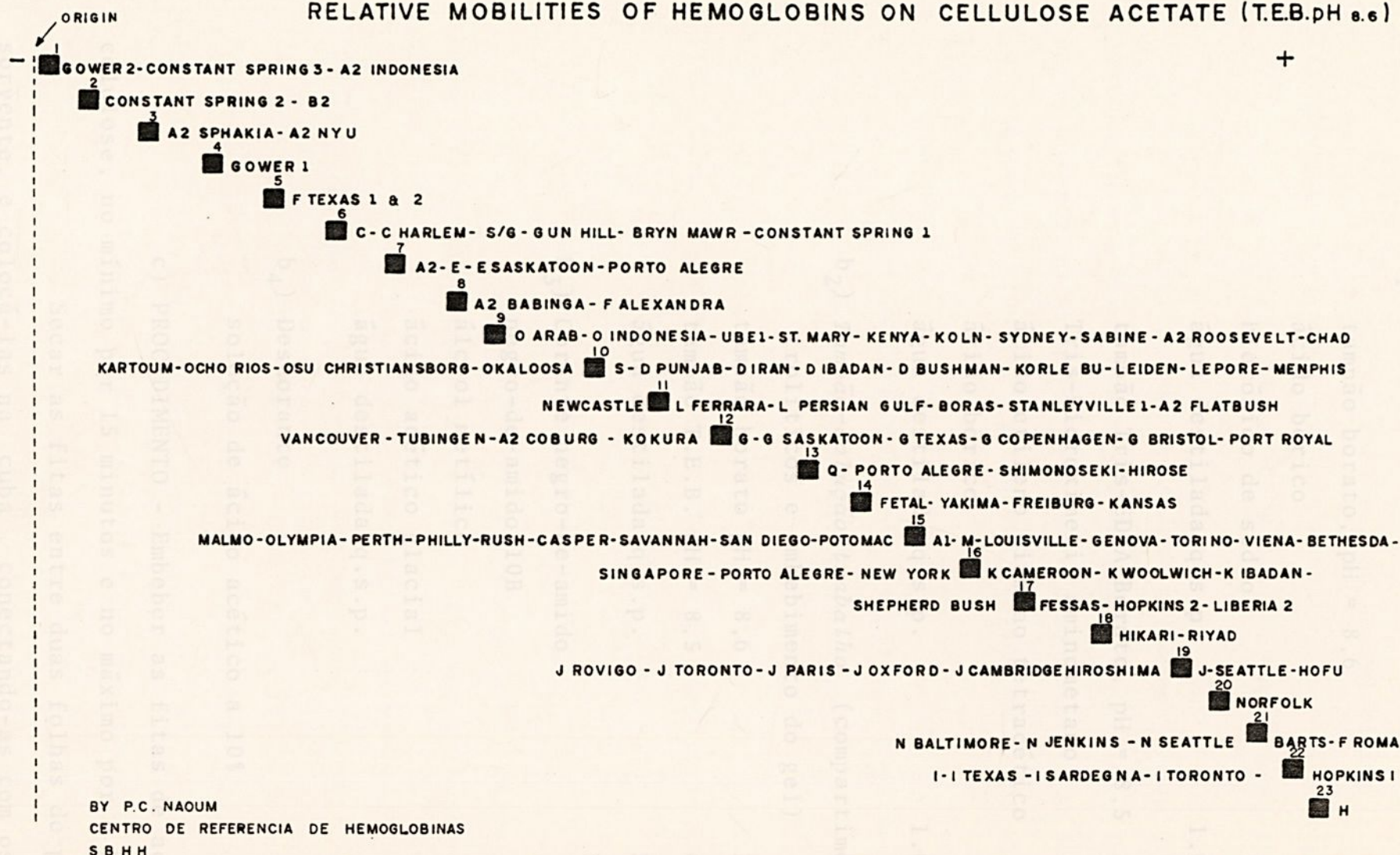


Figura III.b - Mobilidades relativas de 118 tipos de hemoglobinas humanas em eletroforese alcalina (T.E.B., pH = 8,6) em ágar-amido e acetato de celulose (NAOUM, 1979).

b) REAGENTES

b₁) *Tampões (soluções estoque)*

tampão borato, pH = 8,6	
ácido bórico	18,6 g
hidróxido de sódio	3,4 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml
tampão Tris-EDTA-Borato, pH = 8,5	
Tris-Hidroximetil aminometano	10,2 g
ácido etileno diamino tetracético	0,6 g
ácido bórico	3,2 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml

b₂) *Tampão-solução trabalho (compartimentos eletrolíticos e embebedimento do gel)*

tampão borato pH = 8,6	100 ml
tampão T.E.B. pH = 8,5	400 ml
água destilada q.s.p.	500 ml

b₃) *Corante negro-de-amido*

negro-de-amido 10B	0,6 g
álcool metílico	45,0 ml
ácido acético glacial	5,0 ml
água destilada q.s.p.	45,0 ml

b₄) *Descorante*

solução de ácido acético a 10%

c) PROCEDIMENTO - Embeber as fitas de acetato de celulose, no mínimo por 15 minutos e no máximo por 6 horas.

Secar as fitas entre duas folhas de papel absorvente, e colocá-las na cuba, conectando-as com os compar



timentos eletrolíticos com tiras de papel de filtro ou *perfix*.

Aplicar as amostras de hemoglobina a 1,0 cm da extremidade da fita que está em contato com o pólo negativo.

Passar 200 a 300 volts, durante cerca de 60 minutos.

Analisar as frações, inicialmente sem corar e posteriormente corar com negro de amido, embebendo as fitas no mesmo durante 15 minutos. Para descorar embebê-las na solução de corante por 30 minutos, agitando a vasilha em intervalos de 10 minutos.

d) INTERPRETAÇÃO - Consultar o mapa de disposição de hemoglobinas em eletroforese alcalina (figura III-b).

III.3.2.2. Eletroforese quantitativa em acetato de celulose , pH = 8,6 (dosagem de hemoglobina A₂)

Método de MARENGO-ROWE, 1965

a) PRINCÍPIO - O aumento de hemoglobina A₂, geralmente está relacionado à talassemia beta menor (heterozigota).

b) REAGENTES - Utilizam-se os mesmos reagentes da eletroforese qualitativa em acetato de celulose.

c) PROCEDIMENTO - Aplicar em fitas de acetato de celulose, de 5,7 cm de largura, 20 µl de solução de hemoglobina com concentração variável entre 8 e 12 g %.

Passar 200 a 300 volts por 60 minutos. Após a separação das frações de HbA₁ e HbA₂, recortá-las com tesoura e eluí-las em tubos de ensaio contendo 3 ml de água destilada (HbA₂) e 15 ml de água destilada (HbA₁). Deixar eluindo de 2



a 6 horas. Ler as densidades ópticas (D.O.) em 415 nm, usando como branco, a água destilada.

Cálculo:

$$\% \text{ HbA}_2 = \frac{\text{D.O. HbA}_2 \times 100}{\text{D.O. HbA}_1 \times 5 + \text{D.O. HbA}_2}$$

d) INTERPRETAÇÃO - Os valores de hemoglobina A₂ superiores a 4%, foram considerados como suspeita de talassemia beta heterozigota.

III.3.3. Eletroforese de Diferenciação em Ágar-Fosfato,

pH = 6,2

Método de VELLA, 1968

a) PRINCÍPIO - O emprego de eletroforese em gel de ágar-fosfato, pH = 6,2 é específico para diferenciar alguns tipos de hemoglobinas mais lentas que a hemoglobina A₁, como por exemplo: HbS e HbD; HbC e HbE, que migram em posições semelhantes em eletroforeses alcalinas. Por esse método, as HbS e HbC se separam da hemoglobina A₁, enquanto que as HbD e HbE migram na mesma posição da hemoglobina A₁. A utilização desse sistema propicia também a caracterização semi-quantitativa de hemoglobina fetal.

b) REAGENTES

b₁) Tampão fosfato, pH = 6,2 (compartimentos eletrolíticos e gel de ágar-fosfato)



ortofosfato di-sódico	2,02 g
ortofosfato mono-sódico mono-hidratado	7,66 g
água destilada q.s.p.	1000 ml

b₂) Gel de ágar-fosfato

ágar (DIFCO)	200 mg
tampão fosfato, pH = 6,2	20 ml

c) PROCEDIMENTO - Levar ao fogo os componentes do gel de ágar-fosfato, em um erlenmeyer de 250 ml até a dissolução, sendo para isso necessárias duas ou três ebulições suaves.

Colocar por meio de pipeta 3,5 ml do gel em cada lâmina de microscópio. Deixar gelificar à temperatura ambiente.

Aplicar as amostras próximo à porção média da lâmina. Utilizar folha dupla de papel de filtro para fazer as conexões entre o gel e os compartimentos eletrolíticos.

Passar 100 a 200 volts por 15 minutos.

Analisar, inicialmente sem corar. Para a melhor interpretação das frações, utilizar o corante negro-de-amido.

d) INTERPRETAÇÃO - Consultar o mapa de diferenciação das disposições de hemoglobinas em eletroforese ácida (figura III.c).

III.3.4. Método de confirmação da hemoglobina S

Um outro método utilizado na presente pesquisa,



para a confirmação dos casos suspeitos de hemoglobina S, nos processos eletroforéticos, foi o da falcização eritrocitária induzida por droga redutora.

Teste de Falcização Eritrocitária

Método de DALAND & CASTLE, 1948

RELATIVE MOBILITIES OF SOME HEMOGLOBINS ON PHOSPHATE AGAR

pH 6.2

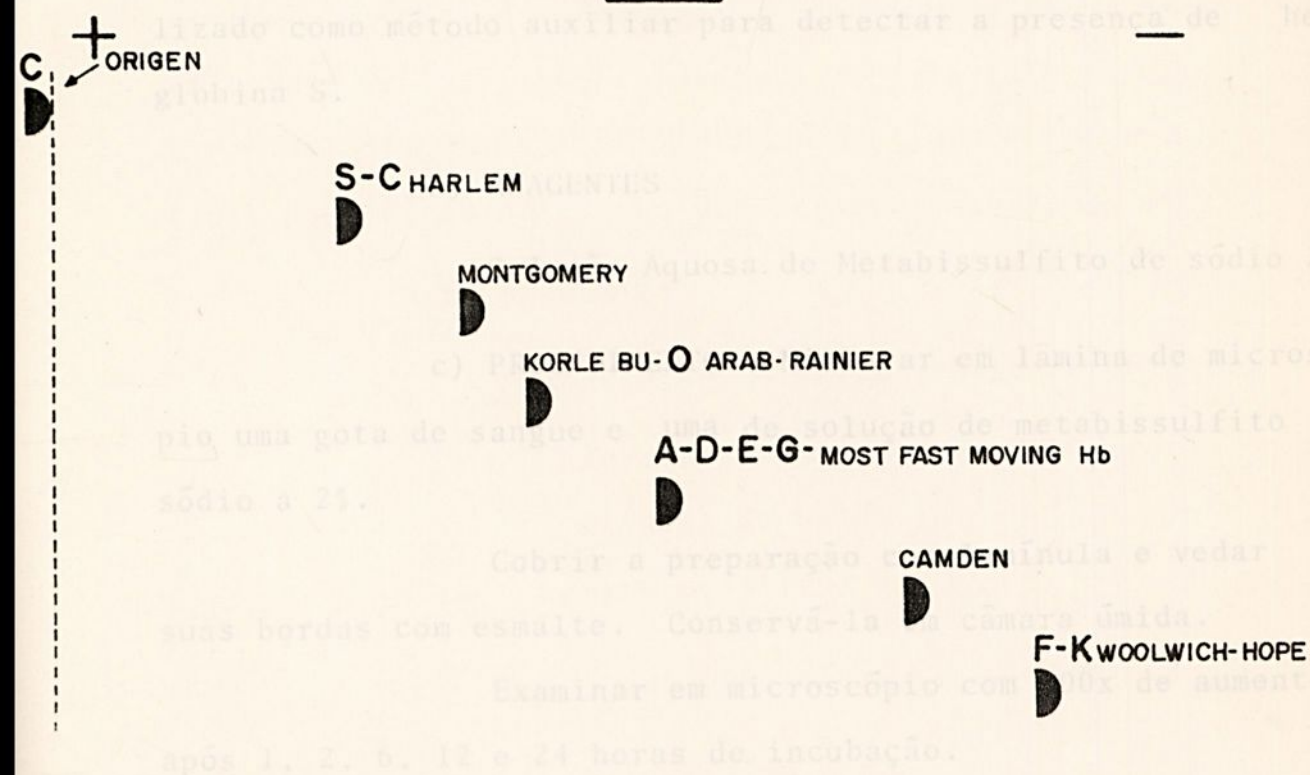


Figura III.c - Mobilidades relativas dos tipos de hemoglobinas humanas que são diferenciáveis por eletroforese ácida, em ágar-fosfato, pH = 6,2 (NAOUM, 1979).

para a confirmação dos casos suspeitos de hemoglobina S nos processos eletroforéticos, foi o da falcização eritrocitária induzida por droga redutora.

Teste de Falcização Eritrocitária

Método de DALAND & CASTLE, 1948

a) PRINCÍPIO - Esse método provoca a desoxigenação da hemoglobina por meio de substâncias redutoras. É utilizado como método auxiliar para detectar a presença de hemoglobina S.

b) REAGENTES

Solução Aquosa de Metabissulfito de sódio 2%

c) PROCEDIMENTO - Misturar em lâmina de microscópio uma gota de sangue e uma de solução de metabissulfito de sódio a 2%.

Cobrir a preparação com lamínula e vedar as suas bordas com esmalte. Conservá-la em câmara úmida.

Examinar em microscópio com 400x de aumento após 1, 2, 6, 12 e 24 horas de incubação.

d) INTERPRETAÇÃO - Os eritrócitos contendo a hemoglobina S alteram a forma discóide, tornando-se afoiçados ou alongados.



III.3.5. Dosagem de Hemoglobina Fetal

Método de BETKE e col., 1959

a) PRINCÍPIO - A hemoglobina fetal é resistente a soluções alcalinas, enquanto que as hemoglobinas A_1 , A_2 e os tipos anormais são facilmente desnaturáveis por álcalis.

Esse método é muito sensível para detectar pequenas variações de hemoglobina fetal. Geralmente, quantidades acima de 1% refletem um aumento de hemoglobina fetal. Em sangue de cordão umbilical a quantidade de hemoglobina fetal é aproximadamente 70 a 90%. Em indivíduos com talassemia maior (anemias de Cooley e Ferrara) a hemoglobina fetal oscila entre 70 a 98%; em interação talassemia / anemia falciforme, o valor é variável entre 0,5 a 21,2% (média 5%). Em talassemia minor a hemoglobina fetal pode estar normal ou discretamente acima de 1%.

b) REAGENTES

b₁) Solução de ferricianeto de potássio

ferricianeto de potássio	0,20 g
cianeto de potássio	0,20 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml

b₂) Solução de hidróxido de sódio 1,2 N

hidróxido de sódio	48,0 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml

b₃) solução saturada de sulfato de amônio

sulfato de amônio	1.000 g
água destilada q.s.p.	1.000 ml

c) PROCEDIMENTO - Colocar 0,4 ml da solução



de hemoglobina (hemolisado) em um tubo (tubo A) contendo 8,0 ml de solução de ferricianeto. Agitar por inversão. Transferir 2,8 ml da solução do tubo A para outro tubo (tubo B).

Ao tubo A adicionar 0,4 ml da solução de hidróxi-
do de sódio 1,2 N. Agitar levemente. Exatamente dois minu-
tos após ter colocado a solução de hidróxido de sódio, acres-
centar 4 ml de solução saturada de sulfato de amônio. Agitar
por inversão e deixar em repouso por cinco minutos. Filtrar o
conteúdo do tubo A em papel Toyo ou similar (Whatman ou MM).
Nesse tubo será medida a hemoglobina álcali-resistente. Ao
tubo B acrescentar 0,2 ml de água destilada e 2 ml de solução
saturada de sulfato de amônio. Ler as densidades ópticas dos
tubos A e B em 540 nm, tomando a solução de ferricianeto de po-
tássio como branco.

Cálculo:

$$\% \text{ Hb Fetal} = \frac{\text{D.O. Tubo A}}{\text{D.O. Tubo B} \times 10} \times 100$$

d) INTERPRETAÇÃO - Os valores entre 0 e 1% são considerados normais.

III.3.6. Coloração Intraeritrocitária de Hemoglobina Fetal

Método de KLEIHAUER, 1974

a) PRINCÍPIO - Esse método é baseado na diferença que existe na capacidade de dissociação das subunidades entre as hemoglobinas A₁ e fetal, em pH abaixo de 4,0. A hemoglobina



fetal é ácido-resistente e por isso não é eluída nas células , corando-se facilmente com eritrosina ou similar, enquanto que outros tipos de hemoglobinas por serem eluídas não fixam o corante.

b) REAGENTES

b₁) Tampão citrato-fosfato, pH = 3,3

ácido cítrico 0,1M 100 ml

ortofosfato di-sódico mono hidra
tado 0,2M 30 ml

b₂) solução aquosa de eritrosina a 0,1%

b₃) solução de etanol a 80%

c) PROCEDIMENTO - Fazer esfregaços finos, obtidos de sangue sem anticoagulante, e fixá-los com etanol a 80% por cinco 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 cinco minutos. Lavar com água corrente e secar ao ar.

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

Examinar ao microscópio com aumento de 400X.

d) INTERPRETAÇÃO - Os eritrócitos contendo a hemoglo
bina fetal aparecem corados internamente, enquanto que os outros que não a contém permanecem sem coloração interna.

A coloração é homogênea quando todos os eritróci
tos aparecem uniformemente corados e são encontrados em sando



gue 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.

III.3.7. Pesquisa Citológica de Corpos de Hemoglobina H

Método de DACIE e col., 1964

a) PRINCÍPIO - O sangue de portadores de hemoglobinas instáveis, quando incubado com um corante redox, como o azul-de-cresil-brilhante, apresenta precipitação das mesmas, sob a forma de um difuso pontilhado nas hemácias.

b) REAGENTES

Solução de azul-de-cresil-brilhante a 1%

azul-de-cresil-brilhante	1 g
citrato de sódio monohidratado	0,4 g
cloreto de sódio	0,85g
água destilada q.s.p.	100 ml

c) PROCEDIMENTO - Incubar uma gota de sangue total em uma gota de solução de azul-de-cresil-brilhante, rigorosamente a 37°C, em banho maria, durante 10, 20 e 30 minutos. Fazer o esfregaço e examinar ao microscópio, sob a objetiva de imersão.

d) INTERPRETAÇÃO - A lâmina de 10 minutos é um con



trole do número de reticulócitos existentes. O aumento da reação corante nas lâminas de 20 e 30 minutos provavelmente deverá ser causado pelas hemoglobinas instáveis que precipitaram. A hemoglobina H mostra-se distribuída uniformemente de maneira difusa, 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.

III.3.8. Eletroforese de Cadeias Polipeptídicas

Método de SCHNEIDER, 1974

O emprego deste método tem sido útil no diagnóstico de diversos tipos de hemoglobinas variantes raras.

a) PRINCÍPIO - As cadeias polipeptídicas migram em regiões, num suporte de acetato de celulose em $\text{pH} = 8,6$, quando submetidas a um campo elétrico. Esta eletroforese é seguida da prévia separação dos grupos heme das cadeias polipeptídicas da hemoglobina, pela adição de 2-mercaptoetanol e a separação das cadeias tipo alfa e tipo beta, pela adição da uréia.

b) REAGENTES

b₁) Tampão TRIS-EDTA-BORATO, $\text{pH} = 8,5$

tris-hidroximetil-aminometano	10,2 g
ácido etileno di-amino tetracético	0,6 g
ácido bórico	3,2 g
água destilada q.s.p.	1000 ml

b₂) Corante

Ponceau S	0,5 g
ácido tricloroacético (5%)	100 ml

b₃) Descorante

ácido acético (5%)

b₄) Uréiab₅) 2-mercaptoetanol

c) PROCEDIMENTO - No dia do teste, preparar a solução tampão trabalho, adicionando a proporção de 36 g de uréia para 70 ml do tampão TRIS-EDTA-BORATO (144 g de uréia e 280 ml do tampão, para os dois compartimentos da cuba eletrolítica e recipiente de embebedimento). Agitar até que a mistura se dissolva.

Juntar 50 μl da solução trabalho do tampão, 50 μl do mercaptoetanol e 50 μl do hemolisado num pequeno tubo de ensaio, homogeneizar e incubar à temperatura ambiente por 30 minutos.

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

Verter 50 ml de tampão em cada compartimento da cuba eletrolítica.

Secar as fitas de acetato de celulose entre duas folhas de papel absorvente (guardanapo de papel), conectá-las aos compartimentos da cuba eletrolítica, usando triplo papel de filtro Whatman 1,0 mm ou similar (*Perfex*).

Aplicar as amostras na região central das fi



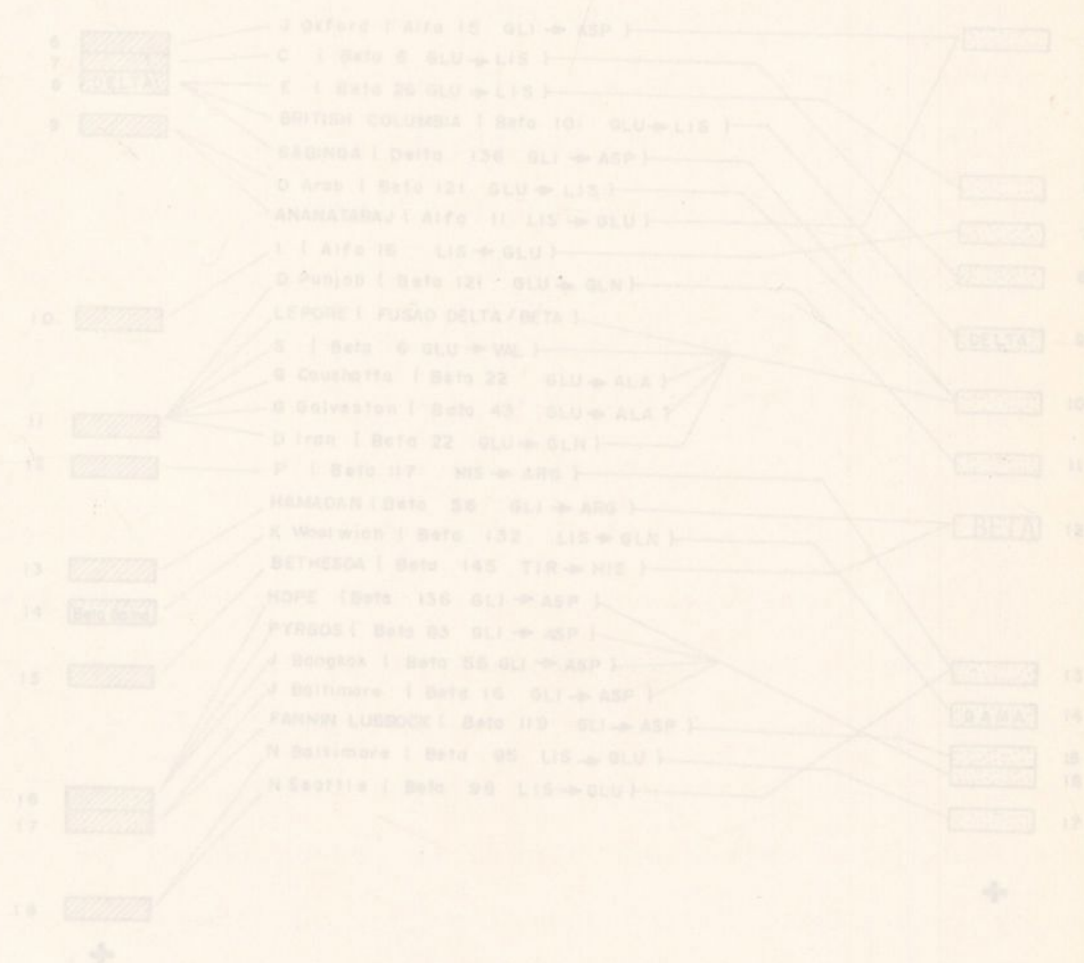
tas.

Realizar a corrida eletroforética sob a diferença de potencial de 200 volts, durante 2 hora.

Retirar as fitas da cuba e corâ-las em Ponceau S 0,5%, no mínimo por 15 minutos.

Descorar em ácido acético 5%.

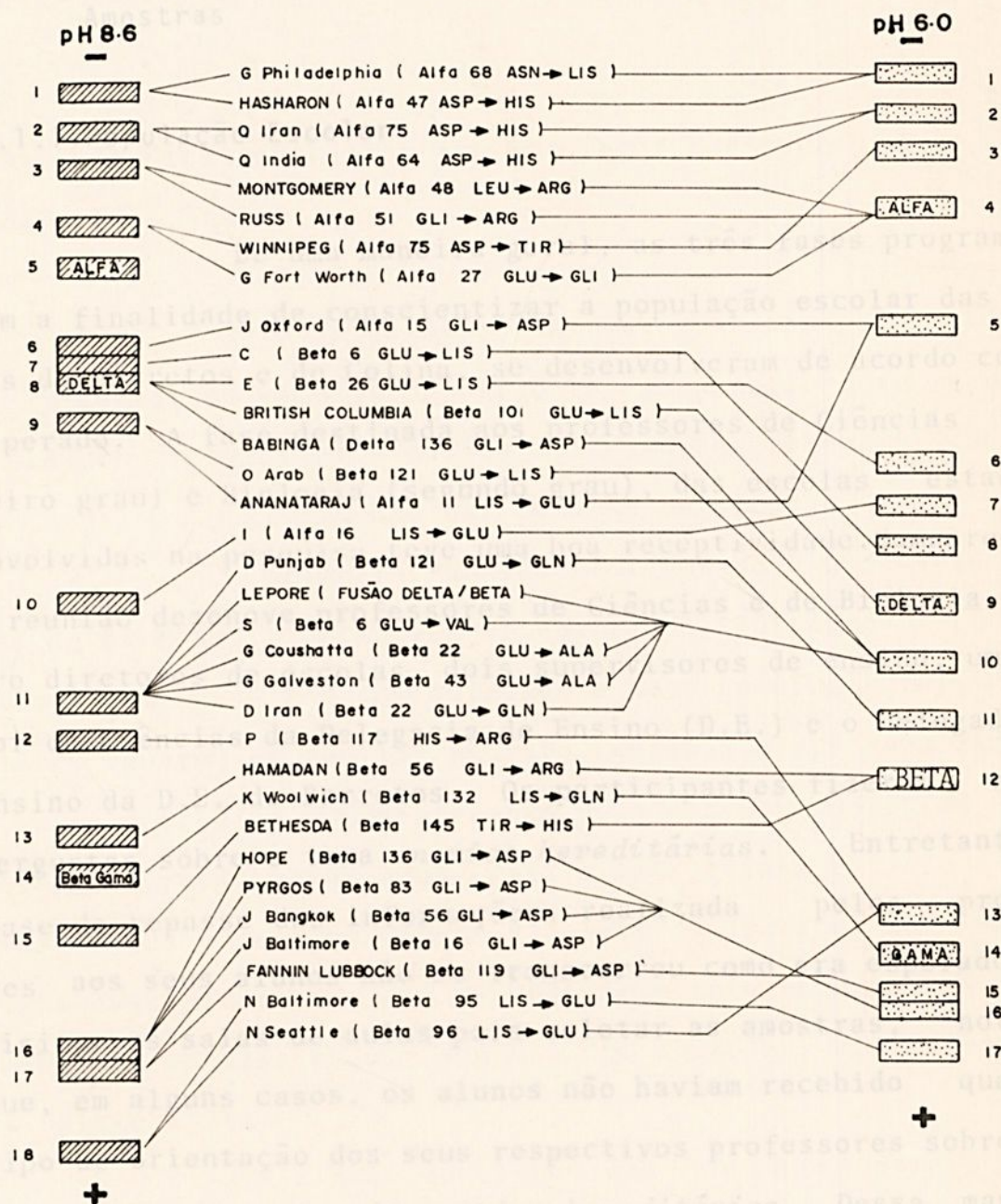
d) INTERPRETAÇÃO - Consultar o mapa do padrão de migração eletroforética das cadeias polipeptídicas em pH alcalino (figura III.d).



Por PAULO CESAR NAUM

Figura III.d - Mobilidades das cadeias polipeptídicas (alfa, beta, gama e delta) por eletroforese em acetato de celulose, pH = 6 e 8,6 (condensado de SCHNIDER, 1974-1978; SCHNIDER & BROSTICUS, 1974).

ELETROFORESE DE CADEIAS POLIPEPTÍDICAS



Por PAULO CESAR NAUOM

Figura III.d - Mobilidades das cadeias polipeptídicas (alfa, beta, gama e delta) por eletroforese em acetato de celulose, pH = 6 e 8,6 (condensado de SCHNEIDER, 1974-1978; SCHMIDT & BROSIUS, 1974).

IV. RESULTADOS

IV.1. Conscientização da População Estudada e Coleta das Amostras

IV.1.1. População Escolar

De uma maneira geral, as três fases programadas com a finalidade de conscientizar a população escolar das cidades de Barretos e de Colina, se desenvolveram de acordo com o esperado. A fase destinada aos professores de Ciências (primeiro grau) e Biologia (segundo grau), das escolas estaduais envolvidas na pesquisa teve uma boa receptividade. Compareceram à reunião dezenove professores de Ciências e de Biologia, quatro diretores de escolas, dois supervisores de ensino, um monitor de Ciências da Delegacia de Ensino (D.E.) e o delegado de ensino da D.E. de Barretos. Os participantes fizeram várias perguntas sobre o tema *anemias hereditárias*. Entretanto, a fase de repasse das informações, realizada pelos professores aos seus alunos não se transcorreu como era esperado. Ao visitar as salas de aulas para coletar as amostras, notou-se que, em alguns casos, os alunos não haviam recebido qualquer tipo de orientação dos seus respectivos professores sobre o programa de pesquisa de *anemias hereditárias*. Dessa maneira, as mini-palestras planejadas para o reforço de informações adquiriu grande importância para a divulgação do projeto sobre hemoglobinas anormais. As mesmas se processaram, invariavelmente, com muito interesse dos alunos, com a abordagem dos te

mas com linguagem compatível ao nível de conhecimentos de cada grau escolar. Especialmente os alunos do segundo grau, que apresentavam conhecimentos básicos de genética, se interessaram nas relações entre os pais portadores de *anemias hereditárias* e a sua progênie.

Reuniões de Esclarecimentos aos Escolares Portadores de Hemoglobinas Anormais

As duas reuniões de conscientização, realizadas para orientar os escolares portadores de hemoglobinas anormais, das cidades de Barretos e Colina, tiveram boa receptividade, comprovada pelo comparecimento das pessoas convidadas.

A primeira reunião destinou-se a dezesseis escolares de Barretos, portadores de *anemias hereditárias* (8 com Hb AS, 3 com Hb AC e 5 com talassemia beta heterozigota). Cada um deles recebeu um convite escrito, extensivo aos seus familiares, para a reunião. Compareceram doze dos portadores de hemoglobinas anormais convidados (75%) e mais trinta e cinco familiares. Após a reunião deu-se a coleta de amostras de sangue de dezessete presentes, que se mostraram interessados, cujos exames detectaram três casos, sendo 1 com Hb AS e 2 com talassemia beta heterozigota.

Pelo fato de alguns dos convidados para a primeira reunião não se encontrarem em seus domicílios, por ocasião da entrega dos convites, foram confeccionadas cartas explicativas, específicas para cada tipo de *anemia hereditária*, para acompanhar os convites para a reunião seguinte. O objetivo des

sas cartas foi dar explicações básicas sobre o tipo de hemoglobina anormal.

A segunda reunião destinou-se aos quarenta e oito escolares portadores de hemoglobinas anormais das cidades de Barretos e Colina (27 com Hb AS, 7 com Hb AC, 12 com talassemia beta heterozigota, 1 com persistência hereditária de hemoglobina fetal - PHHF e 1 com talassemia alfa-Doença de Hb H). Desse total, quarenta compareceram acompanhados de cento e onze familiares. O comparecimento entre os escolares de Barretos foi de 77,77%, enquanto que entre os de Colina foi de 90,47%. Durante a reunião, cada portador de hemoglobina anormal presente recebeu a sua carteira de identidade de *anemias hereditárias*. Após a conscientização, realizou-se a coleta das amostras de sangue de noventa e oito familiares; os exames apontaram vinte casos de hemoglobinas anormais, a saber: 1 associação entre a Hb S e beta talassemia, 14 Hb AS, 1 Hb AC, 3 beta talassemia heterozigota e 1 de PHHF.

Os casos positivos encontrados, entre os familiares de portadores presentes às reuniões, foram notificados por meio de carta explicativa, acompanhada da respectiva carteira de identidade de *anemias hereditárias*. O caso de associação de Hb S e talassemia beta foi encaminhado ao ambulatório de hematologia da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, para as providências necessárias.

Ambas as reuniões se realizaram no auditório da Escola Estadual de Primeiro Grau "Mário Vieira Marcondes", em Barretos.

Ressalta-se que a Prefeitura Municipal de Coli



na cedeu um ônibus para transportar os colinenses presentes à reunião de esclarecimentos (Colina dista 16 km de Barretos).

IV.1.2. População do Tiro de Guerra de Barretos

A palestra de conscientização contou com a presença de cento e trinta e dois indivíduos que receberam exemplares da cartilha explicativa do programa *anemias hereditárias*. Todos acompanharam com interesse a exposição.

Os três portadores de hemoglobinas anormais detectados foram notificados por meio de carta explicativa, complementada por orientação verbal, dada individualmente. Nessa ocasião, eles receberam a carteira de identidade de *anemias hereditárias*.

IV.1.3. População das Creches de Barretos

A proposta de uma reunião inicial com os pais ou responsáveis das crianças das creches foi afastada pelas direções das creches, pela impossibilidade dos mesmos comparecerem. Na mesma ocasião, os diretores e assistentes sociais das oito creches, assumiram a responsabilidade de transmitir as informações aos pais ou responsáveis das crianças portadoras, bem como encaminhá-las aos médicos que atendem cada uma das mesmas. Os resultados, acompanhados de cartas explicativas e carteiras de identidade de *anemias hereditárias*, foram entregues à direção de cada creche para o encaminhamento necessário.

IV.1.4 População do Posto de Saúde de Barretos

Os pais ou responsáveis pelas crianças que procuraram o Posto de Saúde para a vacinação regular foram informados sobre o programa de *anemias hereditárias* e se mostraram interessados na realização dos exames. Muitos deles, inicialmente, pensavam tratar-se de exames para anemia por deficiência alimentar, mas após a leitura das informações contidas na cartilha explicativa simplificada, tal confusão foi desfeita.

As coletas de sangue se processaram normalmente e os portadores tomaram conhecimento dos resultados pelas assistentes sociais e visitadoras sanitárias do Posto de Saúde que receberam prévia conscientização sobre os objetivos do programa.

IV.2. Prevalências das Hemoglobinas Anormais

A análise de 2822 amostras de sangue de indivíduos provenientes das cidades de Barretos e Colina, Estado de São Paulo, demonstrou que 99 (3,51%) apresentavam hemoglobinas anormais, desdobradas em variantes (2,73%) e talassemias (0,78%) e a diferença entre estas frequências é estatisticamente significativa ($\chi^2_{0,95;1} = 30,54$). A tabela IV.a. mostra a discriminação mais pormenorizada desses resultados. Em termos gerais, os 77 casos de hemoglobinas variantes detectadas incluíram os quatro seguintes genótipos: AS, AC, AJ tipo Baltimore ($\beta 16 \text{ Gli} \rightarrow \text{Asp}$) e AN tipo Baltimore ($\beta 95 \text{ Gli} \rightarrow \text{Glu}$), conforme mostram as fotos 1 e 2. Os vinte e dois casos de talassemias distribuíram-se nos tipos alfa, beta e PHHF (persistência hereditária de hemoglobina

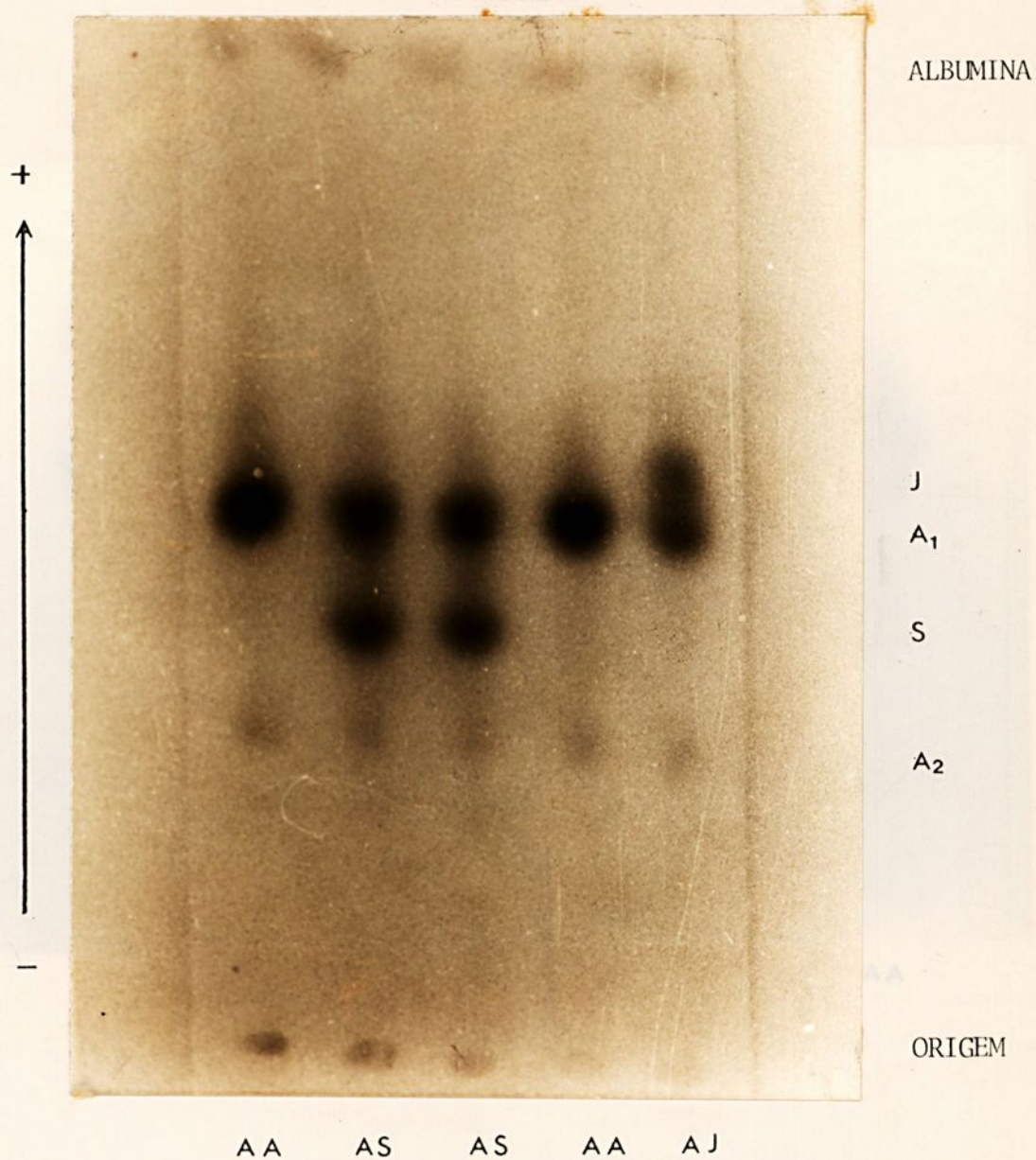


FOTO 2 - Eletroforese alcalina em acetato de celulose (pH = 8,6). Hemoglobina normal AA e Hemoglobinas variantes AC e AN.

FOTO 1 - Eletroforese alcalina em acetato de celulose (pH = 8,6). Hemoglobina normal AA e Hemoglobinas variantes AS e AJ.

TABELA IV.a - Genótipos de hemoglobinas anormais (variantes e talassemias) detectadas em 2822 indivíduos examinados nas cidades de Barretos e Colina, Estado de São Paulo.

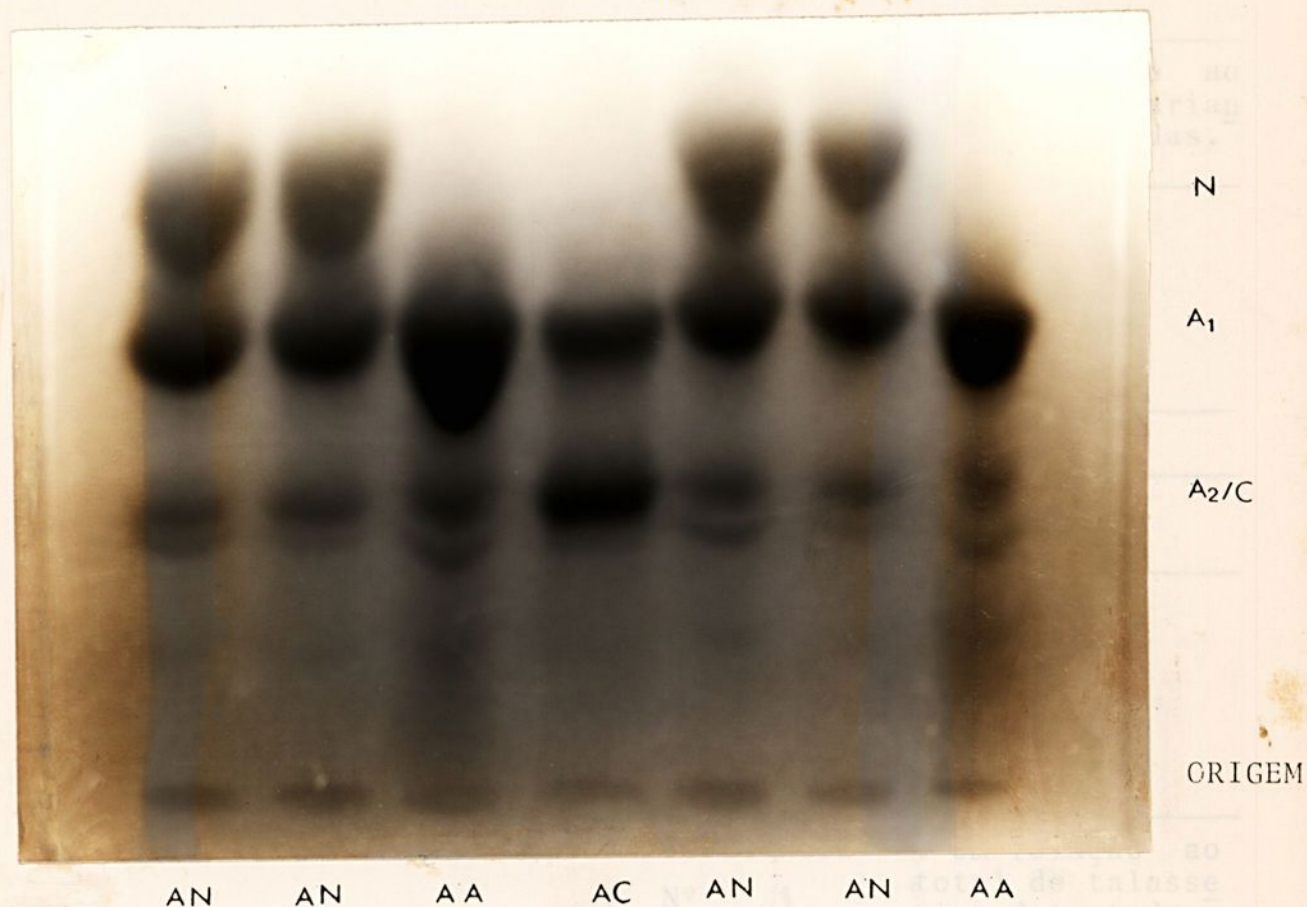


FOTO 2 - Eletroforese alcalina em acetato de celulose (pH = 8,6). Hemoglobina normal AA e Hemoglobinas variantes AC e AN.

Beta heterozigota	AA aumentado	19	0,67	86,36
F50*	AF aumentado	2	0,07	9,09
				4,55

SUB TOTAL	22	0,78	100
-----------	----	------	-----

TOTAL	99	3,51
-------	----	------

* Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal

TABELA IV.a - Genótipos de hemoglobinas anormais (variantes e talassemias) detectadas em 2822 indivíduos examinados nas cidades de Barretos e Colina, Estado de São Paulo.

Hemoglobinas variantes	Genótipo	Prevalência		% em relação ao total de variantes detectadas.
		Nº	%	
S	AS	60	2,12	77,92
C	AC	15	0,53	19,48
J tipo Baltimore	AJ	1	0,04	1,3
N tipo Baltimore	AN	1	0,04	1,3
SUB TOTAL		77	2,73	100
Talassemias	Genótipo	Prevalência		% em relação ao total de talassemias detectadas
		Nº	%	
Beta heterozigora	AA ₂ aumentado	19	0,67	86,36
PHHF*	AF aumentado	2	0,07	9,09
Alfa	AH	1	0,04	4,55
SUB TOTAL		22	0,78	100
TOTAL		99	3,51	

* Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal

fetal). Entre as hemoglobinas anormais a HbAS foi a mais frequente (60,5%). seguida da talassemia beta heterozigota (19,2%) e da HbAC (15,2%). As outras formas: HbAJ tipo Baltimore, HbAN tipo Baltimore, PHHF e talassemia alfa (doença de HbH), constituíram, em conjunto, 5,1% das hemoglobinas anormais. A análise estatística mostrou que são significativas as diferenças entre a frequência de HbAS, quando comparada com as hemoglobinas AC, AJ tipo Baltimore, AN tipo Baltimore e com as talassemias. As outras diferenças estatísticas entre os tipos de hemoglobinas anormais podem ser observadas no quadro que segue:

Valores de $\chi^2_{(0,95; 1)}$

	AC	AJ	AN	Tal. β Het.	PHHF	Tal. α (HbH)
AS	*27	*57,06	*57,06	*21,26	*54,24	*57,06
AC		*12,25	*12,25	0,47	*9,94	*12,25
AJ				*16,2	0,32	
AN				*16,2	0,32	
Tal β Het					*13,76	*16,2
PHHF						0,32

* valores estatisticamente significativos

As hemoglobinas anormais obtidas na população total analisada, foram mais prevalentes entre os negróides (7,2%) do que entre os caucasóides (2,3%); esse resultado mostrou um valor cerca de três vezes maior entre os negróides, dessas alterações hereditárias, quando comparado com os caucasóides e essa diferença é estatisticamente significativa ($\chi^2_{0,95;1} = 37,7$). Por outro lado, essa mesma relação se manteve ao comparar separadamente os dois grupos raciais das cidades de Colina ($\chi^2_{0,95;1} = 6,66$) e de Barretos ($\chi^2_{0,95;1} = 31,76$). Entretanto, quando se confrontam os resultados obtidos dentro de um mesmo grupo racial, a frequência de hemoglobinas anormais é maior na cidade de Colina do que na de Barretos, mas esses resultados não são estatisticamente significativos ($\chi^2_{0,95;1} = 3,02$ para os caucasóides e $\chi^2_{0,95;1} = 2,03$ para os negróides).

As tabelas IV.b e IV.c apresentam a distribuição das prevalências dos genótipos das hemoglobinas encontradas nas cidades de Barretos e Colina, respectivamente. Entre as hemoglobinas anormais a HbAS foi a mais prevalente entre os negróides do que entre os caucasóides e essa diferença é estatisticamente significativa ($\chi^2_{0,95;1} = 59,91$). A HbAC também foi mais prevalente entre os negróides enquanto que a talassemia beta heterozigota, apresentou maior prevalência entre os caucasóides. As formas HbAJ tipo Baltimore e a PHHF foram encontradas somente em negróides e a HbAN tipo Baltimore e a talassemia alfa (doença de HbH) em caucasóides. Com exceção da HbAS, todas as outras diferenças entre as prevalências das hemoglobinas anormais nos grupos caucasóides e negróides não são estatisticamente significativas.

A tabela IV.d discrimina os locais onde as



TABELA IV.b - Prevalência de genótipos de hemoglobinas obtidas nas amostras de 2427 indivíduos da cidade de Barretos, Estado de São Paulo

Ordem	Genótipos	Caucasóides		Negróides		Total	
		Número	%	Número	%	Número	%
1	AA	1766	98,0	583	93,28	2349	96,78
2	AS	14	0,78	34	5,44	48	1,98
3	AC	8	0,44	5	0,8	13	0,54
4	AJ tipo Baltimore	-	-	1	0,16	1	0,04
5	AN tipo Baltimore	1	0,06	-	-	1	0,04
6	AF (PHHF)	-	-	1	0,16	1	0,04
7	Talassemia β Heterozigota	12	0,66	1	0,16	13	0,54
8	Talassemia α (doença de HbH)	1	0,06	-	-	1	0,04
TOTAL		1802	100	625	100	2427	100



TABELA IV.d - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 2427 indivíduos estudados por classificação racial

TABELA IV.c - Prevalência de genótipos de hemoglobinas obtidas nas amostras de 395 indivíduos da cidade de Colina, Estado de São Paulo.

Ordem	Procedência da amostra	Total da amostra		Total		Caucasóides		Negróides		Total	
		Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Ordem	Genótipos			Número	%	Número	%	Número	%		
1	EEPG "Cel. Silvestre de Lima"	361	14,87								
1	EEPG "Cel. Almeida" AA	156	6,43	308	96,25	66	88,0	374	94,68		
2	Colégio Nemeleini AS	44	1,81	5	1,56	7	9,34	12	3,04		
3	Del. Pusino de Barreiros AC	19	0,78	2	0,63	-	-	2	0,51		
4	EEPSG "Cel. Raphael" AF (PHHF)	270	11,12	-	-	1	1,33	1	0,25		
5	EEPSG "Cab. Maciel" Talassemia β Heterozigota	212	8,74	5	1,56	1	1,33	6	1,52		
	Tiro de	92	3,8								
	Creche Lar das Crianças	51	2,1								
	Creche D. José de Matos	62	2,55								
	Educandário Sagrados Corações	52	2,14								
	Creche Bom Jesus	71	2,93								
	Creche Los Angeles	55	2,27								
	Creche André Luiz	71	2,93	320	100	75	100	395	100		
	Creche L.B.V.	30	1,24								
	Educandário S. Benedito	131	5,4								
	Posto de Saúde	197	8,11								
	TOTAL	2427	100	78	3,21	182	36	625	42		

TABELA IV.d - Prevalência de Hemoglobinas anormais, observadas em 2427 indivíduos estudados por classificação racial e procedência da amostra, na cidade de Barretos - Estado de São Paulo.

Ordem	Procedência da amostra	Total	% da amostra em rel. total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
						Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%	Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%
1	EEPG "Cel. Silvestre de Lima"	361	14,87	12	3,32	275	7	2,54	86	5	5,81
2	EEPSG "Prof. Aymoré do Brasil"	276	11,37	7	2,54	254	6	2,36	22	1	4,54
3	EEPG "Cel. Almeida Pinto"	156	6,43	5	3,2	138	4	2,89	18	1	5,55
4	Colégio Nomelini	4	0,16	-	-	4	-	-	-	-	-
5	EEPG "Mário Vieira Marcondes"	44	1,81	-	-	42	-	-	2	-	-
6	Del. Ensino de Barretos	19	0,78	-	-	18	-	-	1	-	-
7	EEPSG "Cel. Raphael Brandão"	270	11,12	8	2,96	234	7	2,99	36	1	2,77
8	EEPSG "Emb. Macedo Soares"	212	8,74	4	1,89	190	2	1,05	22	2	9,09
9	EEPG "Dr. Antonio Olympio"	141	5,81	5	3,55	133	3	2,25	8	2	25,0
10	EEPG "Prof. Fausto Lex"	92	3,8	2	2,17	88	1	1,13	4	1	25,0
11	Tiro de Guerra de Barretos	132	5,44	3	2,27	102	2	1,96	30	1	3,33
12	Creche Lar das Crianças	51	2,1	4	7,84	19	-	-	32	4	12,5
13	Creche D. José de Matos	62	2,55	2	3,23	22	-	-	40	2	5,0
14	Educandário Sagrados Corações	52	2,14	2	3,85	12	-	-	40	2	5,0
15	Creche Bom Jesus	71	2,93	2	2,82	10	-	-	61	2	3,27
16	Creche Los Angeles	55	2,27	3	5,45	29	-	-	26	3	11,53
17	Creche André Luiz	71	2,93	7	9,86	33	-	-	38	7	18,42
18	Creche L.B.V.	30	1,24	2	6,66	19	-	-	11	2	18,18
19	Educandário S. Benedito	131	5,4	3	2,29	30	-	-	101	3	2,97
20	Posto de Saúde	197	8,11	7	3,55	150	4	2,0	47	3	6,38
TOTAL		2427	100	78	3,21	1802	36	1,99	625	42	6,72

amostras foram coletadas, por grupo racial, na cidade de Barretos. Apesar das coletas terem sido feitas em vinte diferentes lugares, foi possível reuni-las em quatro grupos de procedência: a) população escolar, b) população de Tiro de Guerra, c) população de creche e d) população de Posto de Saúde. Dessa forma, a análise dos agrupamentos expostos na tabela IV.e mostrou que a frequência de hemoglobinas anormais é maior nas amostras obtidas nas populações de creche (4,78%), seguida da população de Posto de Saúde (3,55%), população escolar (2,73%) e do Tiro de Guerra (2,27%). Entretanto, as análises estatísticas mostraram que os resultados são significativos somente entre as populações de creche e a escolar ($\chi^2_{0,95;1} = 4,62$). As frequências de hemoglobinas anormais são maiores entre os negróides de todas as procedências, em relação aos caucasóides e essas diferenças são significativas nas populações escolar ($\chi^2_{0,95;1} = 10,82$) e de creche ($\chi^2_{0,95;1} = 10,54$). Especificamente dentro de um mesmo grupo racial (caucasóide e negróide), as diferenças observadas entre os vários grupos de coleta não foram significativas. As amostras da cidade de Colina apresentaram uma única procedência (escolar) e considerações, como as feitas com os grupos de coleta de Barretos, não foram traçadas. Entretanto, foi possível comparar os dados obtidos dos exames realizados nas amostras de escolares de Barretos e de Colina (tabelas IV.e IV.f). Esses resultados evidenciaram maior frequência de hemoglobinas anormais em escolares de Colina e essa diferença entre as populações escolares totais das duas cidades analisadas, é significativa ($\chi^2_{0,95;1} = 5,92$), porém dentro de cada grupo racial (caucasóides $\chi^2_{0,95;1} = 2,04$ e negróides $\chi^2_{0,95;1} = 1,53$) as diferenças não foram significativas.

TABELA IV.e - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 2427 indivíduos estudados por classificação racial e procedência (Grupo) da amostra, obtida na cidade de Barretos - Estado de São Paulo.

Ordem	Procedência da amostra (Grupos)	Total	% da amostra em relaç. ao total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
						Nº ana lisado	Hb anormal Nº %		Nº ana lisado	Hb anormal Nº %	
1	Escolas de Barretos	1575	64,9	43	2,73	1376	30 2,18		199	13 6,53	
2	Tiro de Guerra	132	5,44	3	2,27	102	2 1,96		30	1 3,33	
3	Creches	523	21,55	25	4,78	174	- -		349	25 7,16	
4	Posto de Saúde	197	8,11	7	3,55	150	4 2,66		47	3 6,38	
TOTAL		2427	100	78	3.21	1802	36 1,99		625	42 6,72	



TABELA IV.f - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 395 indivíduos estudados por classificação racial e procedência da amostra, obtida na cidade de Colina - Estado de São Paulo.

Ordem	Procedência da amostra	Total	% da amostra em relaç. ao total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
						Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%	Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%
1	EEPSG "Lamounier de Andrade"	335	84,81	17	5,07	268	11	4,10	67	6	8,95
2	EEPG "Cel. José Venâncio Dias"	60	15,19	4	6,66	52	1	1,92	8	3	37,5
TOTAL DE ESCOLARES		395	100	21	5,32	320	12	3,75	75	9	12,0

As amostras foram separadas em cinco faixas etárias, a saber: a) 0 a 7 anos, b) 8 a 14 anos, c) 15 a 20 anos, d) 21 a 50 anos e e) mais de 50 anos. As tabelas IV.g a IV.j apresentam as distribuições das prevalências das hemoglobinas anormais, por faixa etária, nas diversas populações das cidades de Barretos e Colina, classificadas por grupos raciais. Os resultados indicaram maior frequência de hemoglobinas anormais na faixa etária de 0 a 7 anos, na população total das duas cidades - tabela IV.g, seguida da faixa de 15 a 20 anos, de 8 a 14 anos e mais de 50 anos. A menor frequência foi obtida na faixa de 21 a 50 anos. As análises estatísticas indicaram diferença significativa somente entre as frequências das faixas etárias de 0 a 7 anos e 21 a 50 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 4,486$). Em todos os grupos de idade, a prevalência de hemoglobinas anormais foi mais alta entre os negróides do que entre os caucasóides e esses resultados foram significativos para as faixas de 0 a 7 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 8,53$) e 15 a 20 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 9,71$). Em relação à população total de cada cidade, considerada separadamente, mas agrupada por faixas etárias, os resultados foram os seguintes: na cidade de Colina, pela inexistência de amostras de indivíduos de 0 a 7 anos e apenas duas acima de 50 anos, consideraram-se somente três grupos. A maior prevalência de hemoglobinas anormais verificou-se na faixa de 8 a 14 anos, seguida de 15 a 20 anos, enquanto a menor prevalência ocorreu na faixa de 21 a 50 anos. Nenhuma dessas diferenças obtidas se mostrou significativa ao nível $\alpha = 5\%$. Entre os indivíduos de 21 a 50 anos, a frequência de hemoglobinas anormais foi maior entre os caucasóides que os negróides, enquanto nas duas outras faixas etárias as frequências foram mais altas entre os negróides, sen



TABELA IV.g - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 2822 indivíduos estudados por classificação racial e da faixa etária da amostra, obtida nas cidades de Barretos e Colina, Estado de São Paulo

Faixa Etária	Total	% da amostra em relação ao total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
					Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%	Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%
0 a 7 anos	468	16,58	24	5,13	243	5	2,05	225	19	8,44
8 a 14 anos	803	28,45	25	3,11	582	10	1,71	221	15	6,78
15 a 20 anos	1169	41,42	42	3,6	972	27	2,77	197	15	7,61
21 a 50 anos	348	12,33	7	2,01	293	5	1,71	55	2	3,64
mais de 50 anos	34	1,21	1	2,94	32	1	3,12	2	-	-
TOTAL	2822	100	99	3,51	2122	48	2,26	700	51	7,28



TABELA IV.h - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 2427 indivíduos estudados por classificação racial e faixa etária da amostra obtida, na cidade de Barretos, Estado de São Paulo.

Faixa Etária	Total	% da amostra em relação ao total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
					Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%	Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%
0 a 7 anos	468	19,3	24	5,13	243	5	2,05	225	19	8,44
8 a 14 anos	681	28,1	17	2,5	480	5	1,04	201	12	5,97
15 a 20 anos	946	39,0	31	3,28	801	22	2,75	145	9	6,21
21 a 50 anos	300	12,4	5	1,66	248	3	1,21	52	2	3,85
mais de 50 anos	32	1,32	1	3,12	30	1	3,33	2	-	-
TOTAL	2427	100	78	3,21	1802	36	1,99	625	42	6,72

TABELA IV.i - Prevalência de hemoglobinas anormais, observadas em 395 indivíduos estudados por classificação racial e faixa etária da amostra obtida, na cidade de Colina - Estado de São Paulo

Faixa Etária	Total	% da amostra em relação ao total	Total Hb anormal	% Hb anormal	Caucasóides			Negróides		
					Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%	Nº ana lisado	Hb anormal Nº	%
0 a 7 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8 a 14 anos	122	30,9	8	6,56	102	5	4,9	20	3	15
15 a 20 anos	223	56,4	11	4,93	171	5	2,92	52	6	11,54
21 a 50 anos	48	12,1	2	4,17	45	2	4,44	3	-	-
mais de 50 anos	2	0,51	-	-	2	-	-	-	-	-
TOTAL	395	100	21	5,32	320	12	3,75	75	9	12



TABELA IV.j - Prevalência de hemoglobinas anormais observadas em 2427 indivíduos estudados pela classificação racial, distribuídos de acordo com a procedência e faixa etária da amostra, obtida na cidade de Barretos, Estado de São Paulo

Procedência	Faixa etária	AS		AC		AJ		AN		Tal.β het.		Tal. α (doença HbH)		PIHF		Caucasóides			Negróides			Total analisado
		Cor cauc.neg.		Cor cauc.neg.		Cor cauc.neg.		Cor cauc.neg.		Cor cauc.neg.		Cor cauc. neg.		Cor cauc.neg.		Total analisado	Hb anormal Nº	%	Total analisado	Hb anormal Nº	%	
Escolas	0 a 7 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	7	1	14,29	-	-	-	7
	8 a 14 anos	3	4	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	421	5	1,19	61	4	6,56	482
	15 a 20 anos	10	5	5	2	-	-	-	-	4	1	1	-	-	-	697	20	2,87	107	8	7,48	804
	21 a 50 anos	-	1	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	225	3	1,33	31	1	3,22	256
	mais de 50 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	26	1	3,85	-	-	-	26
SUB TOTAL		13	10	6	2	-	-	-	-	10	1	1	-	-	-	1376	30	2,18	199	13	6,53	1575
Tiro de Guerra	15 a 20 anos	-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	100	2	2,0	29	1	3,45	129
	21 a 50 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	3
SUB TOTAL		-	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	102	2	1,96	30	1	3,33	132
Creches	0 a 7 anos	-	14	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	103	-	-	183	16	8,74	286
	8 a 14 anos	-	7	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43	-	-	135	8	5,92	178
	15 a 20 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	9	-	-	13
	21 a 50 anos	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21	-	-	20	1	5,0	41
	mais de 50 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	2	-	-	5
SUB TOTAL		-	22	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	174	-	-	349	25	7,16	523
Posto de Saúde	0 a 7 anos	1	1	2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	133	4	3,0	42	3	7,14	175
	8 a 14 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	-	-	5	-	-	21
	15 a 20 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	21 a 50 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	mais de 50 anos	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1
SUB TOTAL		1	1	2	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	150	4	2,66	47	3	6,38	197

do estatisticamente significativa somente na faixa de 15 a 20 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 4,61$). Na cidade de Barretos, a maior prevalência observada, ocorreu na faixa etária de 0 a 7 anos, seguida das faixas etárias de 15 a 20 anos, mais de 50 anos e de 8 a 14 anos. A menor frequência foi constatada no grupo etário de 21 a 50 anos. Esses resultados são significativos somente entre as seguintes faixas etárias: 0 a 7 e 8 a 14 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 4,845$); 0 a 7 e 21 a 50 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 5,113$). As análises das prevalências de hemoglobinas anormais, especificamente para cada faixa etária, comparando os grupos raciais estudados, indicaram o predomínio das frequências do grupo negróide sobre os caucasóides, em todas as faixas. Não se considerou a faixa acima dos 50 anos devido ao pequeno número de amostras analisadas. Foram consideradas significativas as diferenças nos grupos etários de 0 a 7 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 8,526$), 8 a 14 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 12,185$).

Ao se comparar as prevalências de hemoglobinas anormais entre os grupos etários correspondentes das cidades de Barretos e de Colina, verificou-se que elas são sempre maiores em Colina, sendo estatisticamente significativa na faixa de 8 a 14 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 4,39$).

IV.3. Análise Estrutural das Hemoglobinas Variantes Raras:

J tipo Baltimore e N tipo Baltimore

As hemoglobinas variantes dos tipos J Baltimore ($\beta 16 \text{ Gli} \rightarrow \text{Asp}$) e N Baltimore ($\beta 95 \text{ Lis} \rightarrow \text{Glu}$) foram detectada



das, inicialmente, por eletroforese em Ágar-amido, pH = 8,6 e identificadas a seguir, por eletroforese em acetato de celulose, pH = 8,6. Ambas as variantes se apresentaram em heterozigose com a hemoglobina A₁ e se moveram com maior rapidez no campo elétrico, durante os processos de eletroforese alcalina (foto 3).

A dosagem da fração J, da hemoglobina AJ, mostrou uma concentração de 28%, enquanto que a fração N, da hemoglobina AN foi de 36%. Em ambas as amostras, submetidas a eletroforese, não se observou nenhum outro componente menor, além da hemoglobina A₂; esse fato sugeriu a hipótese de que as hemoglobinas J e N poderiam ser mutantes de cadeia polipeptídica beta. A eletroforese de cadeias polipeptídicas, realizada após a adição da solução tampão TEB-URÉIA-2MERCAPTOETANOL aos hemolisados previamente preparados, mostrou que as posições de migração das cadeias polipeptídicas beta da hemoglobina J e da hemoglobina N eram do tipo das variantes raras J Baltimore e N Baltimore (foto 3).

AJ AC AN AA

FOTO 3 - Eletroforese de cadeias em acetato de celulose (pH = 8,6). Hemoglobina normal AA e Hemoglobinas variantes de cadeia beta AC, AJ tipo Baltimore e AN tipo Baltimore.

V. DISCUSSÃO

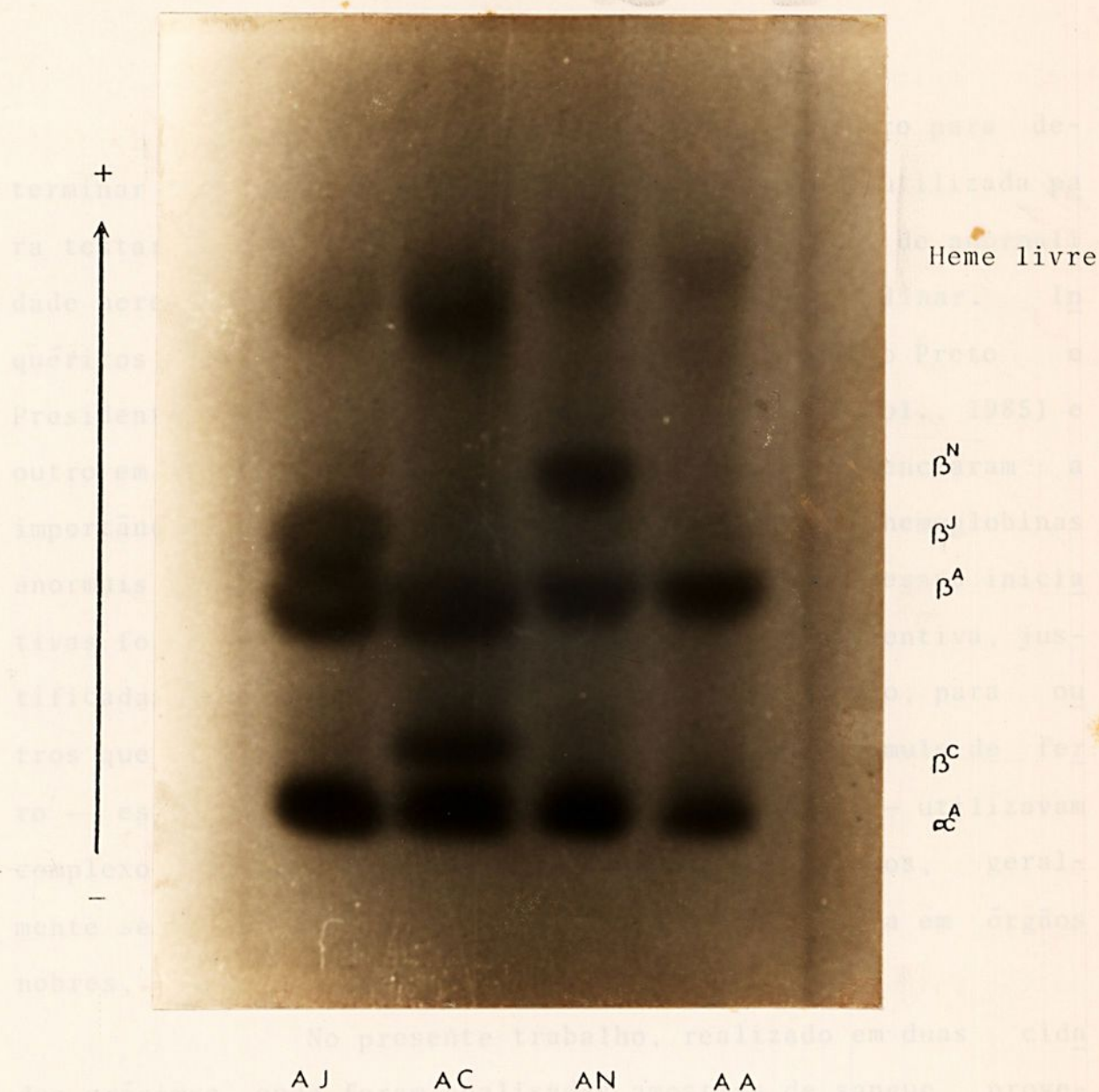


FOTO 3 - Eletroforese de cadeias em acetato de celulose (pH = 8,6). Hemoglobina normal AA e Hemoglobinas variantes de cadeia beta AC, AJ tipo Baltimore e AN tipo Baltimore.

V. DISCUSSÃO

A realização de um estudo científico para determinar o polimorfismo de hemoglobinas foi também utilizada para testar formas de conscientização sobre um estudo de anormalidade hereditária de característica inter-disciplinar. Inquéritos populacionais realizados em São José do Rio Preto e Presidente Prudente, Estado de São Paulo (NAOUM e col., 1985) e outro em Brasília (TAVARES-NETO e col., 1986), evidenciaram a importância da conscientização de portadores de hemoglobinas anormais. Nesses casos, inclusive, as respostas a essas iniciativas foram consideradas de grande importância preventiva, justificadas para aqueles em fase pré-marital, ou então, para outros que desconhecendo os efeitos deletérios do acúmulo de ferro — especialmente nas talassemias heterozigotas — utilizavam complexos vitamínicos com sulfato ferroso e derivados, geralmente sem sucesso e com o risco de sobrecarga futura em órgãos nobres, como o coração e o fígado.

No presente trabalho, realizado em duas cidades próximas, onde foram analisadas amostras de sangue provenientes de escolares, de crianças que frequentavam creches e Posto de Saúde e de jovens que atuavam no Tiro de Guerra, a análise polimórfica das hemoglobinas, associada ao processo de conscientização — onde foram testadas diversas formas de comunicações — mostrou a importância das informações científicas e tecnológicas para a comunidade estudada. É evidente que esse processo foi difícil, pois, as formas de divulgação variaram de acordo com os níveis de conhecimentos daqueles testados. Apesar dessas



dificuldades, a receptividade ao processo de conscientização foi considerada válida. Entretanto, há que se destacar a ocorrência de algumas falhas, notadamente em relação à conscientização dos professores de Ciências e de Biologia. Esses profissionais, receberam informações detalhadas e completas do programa, com o objetivo de repassá-las aos seus alunos. Apesar do interesse natural, demonstrado por meio de perguntas, a fase de repasse mostrou-se deficiente, uma vez que alguns professores não conscientizaram previamente os seus alunos. Assim, houve a necessidade de realizar, constantemente, *mini-palestras* para cada classe escolar, antes da coleta das amostras de sangue. Esse fato foi importante para chamar a atenção ao processo de conscientização e permitiu concluir que tanto as informações aos professores, como as *mini-palestras* aos alunos devem continuar a serem realizadas. Outro aspecto que deve ser ressaltado se refere à necessidade de relacionar o bom conhecimento da causa científica com a linguagem apropriada às platéias heterogêneas de diferentes graus de escolaridade. O processo de conscientização no Tiro de Guerra obteve o sucesso esperado, especialmente, devido à utilização de formas de informações acessíveis e de fácil entendimento. Com relação às creches, o processo de conscientização foi realizado para os dirigentes das mesmas, devido a inviabilidade de reunir os pais ou responsáveis pelas crianças. Concernente ao Posto de Saúde os acompanhantes das crianças, para o processo de vacinação, receberam as informações do programa de *anemias hereditárias*. Os pais ou responsáveis pelas crianças das creches e do Posto de Saúde, portadoras de hemoglobinas anormais, foram comunicados através de carta, contendo orientações básicas sobre o tipo específico de *anemia hereditária*.

O sucesso do programa pode ser avaliado pelas reuniões de esclarecimentos médicos e biológicos, realizadas aos portadores de *anemias hereditárias*. O índice de comparecimento de 80% dos portadores detectados em Barretos e de 90% daqueles identificados em Colina, atestaram a importância social do presente trabalho.

O processo de conscientização prévia à detecção de hemoglobinas anormais, executado em grande escala e envolvendo enorme contingente populacional teve o seu início em 1983 e foi executado em escolares de São José do Rio Preto (NAOUM e col., 1985). No presente trabalho foi utilizada essa infra-estrutura, associada à introdução de folhetins explicativos, para cada tipo de hemoglobina anormal e que foram os casos da talassemia beta heterozigota, falcemia heterozigota e da hemoglobina AC. Esse processo facilitou a divulgação do tipo específico de *anemia hereditária* aos portadores, seus familiares e amigos.

A conscientização e detecção de *anemias hereditárias*, especialmente as talassemias têm sido efetuadas na Itália (SCHILIRÓ, 1978; SILVESTRONI e col., 1978). enquanto que sobre a prevenção das falcemias destaca-se, entre outrosso trabalho realizado nos Estados Unidos (MORAN, T.J., 1972). O presente trabalho promoveu esses processos com maior abrangência destacando, inclusive, noções básicas sobre as causas das anemias, com enfoque especial para os três tipos de hemoglobinas anormais mais prevalentes na população brasileira (NAOUM e col., 1986). Os resultados do processo de conscientização realizado com os escolares mostraram que eles assimilaram os conceitos básicos do relacionamento genético dessa alteração hereditária. Os escolares, de um modo geral, mostraram-se receptivos ao programa de



anemias hereditárias; os portadores se empenharam no comparecimento, juntos aos familiares, nas reuniões comunitárias de esclarecimentos. Além disso, os escolares em idade pré-marital, recebendo as orientações dos riscos em relação à prole de pais portadores de hemoglobinas anormais, poderão decidir livremente, porém, de maneira responsável sobre a sua futura progênie. Entretanto, isso não desconsidera o sucesso obtido nos programas de conscientização realizados com os pais ou responsáveis pelas crianças durante a vacinação no Posto de Saúde e com os jovens do Tiro de Guerra. Em relação às creches, a conscientização ficou prejudicada, pela ausência de contato direto com os pais ou responsáveis pelas crianças.

A análise de 2822 pessoas, durante o período de dezenove meses, permitiu o estabelecimento de condições básicas ao processo de conscientização e também ao desenvolvimento técnico e científico. Sob esse último aspecto, o trabalho tornou possível estabelecer a prevalência das hemoglobinas anormais nas populações das duas cidades estudadas. No cômputo geral, observou-se que as hemoglobinas variantes são mais frequentes que as talassemias, na região de onde se obteve as amostras e essa diferença é estatisticamente significativa. Esse resultado mostrou que entre as dezenove cidades analisadas no Estado de São Paulo (NAOUM e col., 1984), a região onde se situam as cidades de Barretos e de Colina é a segunda de maior prevalência de portadores talassêmicos (0,78%), superada somente pela cidade de Presidente Prudente (1,47%) (NAOUM e col., 1985).

Entre as variantes identificadas foi possível caracterizar quatro genótipos, dois dos quais muito comuns e que foram os casos das hemoglobinas AS e AC. Os outros dois fo



ram as hemoglobinas AN tipo Baltimore ($\beta 95 \text{ Lis} \rightarrow \text{Glu}$) e AJ tipo Baltimore ($\beta 16 \text{ Gli} \rightarrow \text{Asp}$), determinados por meio de estudos de cadeias polipeptídicas, cujas posições padrão permitiram suas identificações (SCHNEIDER, 1974-1978), dispensando, no caso, as análises estruturais de p $\acute$ eptidos. Desses quatro genótipos as hemoglobinas AS e AC têm sido descritas em todas as populações estudadas de nosso país (SALZANO & TONDO, 1982; ZAGO e col., 1983; NAOUM e col., 1986); a hemoglobina AN tipo Baltimore foi descrita inicialmente em um escolar de São José do Rio Preto - (NAOUM e col., 1986), sendo este o segundo caso descrito na população brasileira; a hemoglobina AJ tipo Baltimore, está sendo descrita pela primeira vez em nosso país, apesar de outras variantes da hemoglobina J terem sido identificadas em diferentes regiões do Estado de São Paulo: AJ Rovigo em São Paulo (ARAUJO, 1980) e Sorocaba (NAOUM e col., 1984), AJ Oxford em Araçatuba, Campinas, Guaratingueta, Presidente Prudente, Ribeirão Preto, Santos, São José dos Campos e São José do Rio Preto (NAOUM e col., 1984).

As formas talassêmicas detectadas foram classificadas nos tipos beta heterozigota, alfa (doença de HbH) e persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF). Antes de considerar suas prevalências, torna-se necessário discutir a metodologia empregada para a sua identificação. A maioria dos trabalhos efetuados em inquéritos populacionais, anteriormente a esse, foram realizados utilizando apenas a eletroforese alcalina para a triagem e identificação de hemoglobinas anormais (CAMPOS, 1962; ARAUJO, 1971; RAMALHO, 1976; SALZANO & TONDO, 1982; NAOUM, 1984; SALZANO, 1985). A inclusão da técnica de resistência globular em solução tamponada de cloreto de sódio a



0,36%, como teste seletivo para a talassemia beta heterozigota, permitiu uma forma mais segura, comprovada posteriormente, pela dosagem da hemoglobina A_2 . Todos os casos com a HbA_2 aumentada foram classificados como sugestivos de talassemia beta heterozigota e encaminhados aos exames clínicos e hematológicos; dos dezenove casos com suspeita, quinze foram examinados e todos comprovados como portadores dessa síndrome. Os dois casos de persistência hereditária de hemoglobina fetal (PIHf), um identificado em uma estudante negróide com quinze anos de idade e outro em uma criança caucasóide de creche com cinco anos de idade, foram diagnosticados pelo aumento de hemoglobina fetal e sua distribuição homogênea no interior dos eritrócitos. O único caso de talassemia alfa, em uma estudante caucasóide, teve a sua caracterização pela presença de hemoglobina H, na eletroforese alcalina e também pelos agregados intraeritrocitários típicos dessa hemoglobina, com posterior comprovação clínica da doença de HbH.

Na análise geral das prevalências observou-se que 3,51% ou uma entre cada vinte e oito pessoas testadas, apresentaram-se como portadoras de hemoglobinas anormais. Dos noventa e nove casos obtidos nesse levantamento científico e comunitário, o genótipo AS foi o mais frequente, seguido da talassemia beta heterozigota e posteriormente da hemoglobina AC. Estatisticamente, a alta prevalência da hemoglobina AS diferiu significativamente de todos os outros genótipos, ao nível de $\alpha = 5\%$. A prevalência do genótipo AC, por sua vez, diferiu de todos os outros com exceção da talassemia beta menor (ou heterozigota). Esses resultados podem ser explicados com base na colonização regional efetuada nos municípios de Barretos e de Colina. Ine



gavelmente a contribuição negróide na Zona Mogiana — classificação zonal efetuada por levantamento econômico-demográfico (MILLIET, 1938) — foi bastante intensa, conforme os recenseamentos realizados nos anos de 1836, 1840 e 1950 (CAMARGO, 1952). Em 1836, 80% da população na zona Mogiana — atual VI Região Administrativa do Estado de São Paulo, onde estão incluídas as cidades de Barretos e de Colina — era constituída por negróides e esse fato é relevante para explicar a predominância do genótipo AS entre as hemoglobinas anormais. Por outro lado, o genótipo AC, cuja distribuição tem sido razoavelmente homogênea nas populações analisadas do Estado de São Paulo, excetuando-se a cidade de Araçatuba cuja prevalência observada de 1,02% pode ser relacionada com os grupos africanos que eram trazidos em lotes para o trabalho nas lavras da terra (NAOUM e col., 1984). Assim, alguns grupos que provavelmente apresentassem vários indivíduos com a hemoglobina AC, poderiam ser a causa da maior dispersão desse genótipo em cidades como Araçatuba, quando a prevalência média dessa hemoglobina variante é de 0,42% no Estado de São Paulo. No caso da região de Barretos e Colina a situação é similar a da maioria das cidades estudadas no Estado de São Paulo (NAOUM e col., 1984-1985). A alta prevalência das talassemias nas cidades de Barretos e de Colina pode ser explicada pela contribuição dada por colonizadores italianos que em 1920 constituíram cerca de 60% dos estrangeiros na Zona Mogiana (ELLIS JUNIOR, 1936; CAMARGO, 1952; NAOUM, 1984).

As análises das prevalências de hemoglobinas anormais verificadas entre os caucasoídes e os 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 das regiões brasileiras (CAMPOS, 1962; ARAUJO, 1971; QUEIROZ, 1982; NAOUM e col., 1984; SALZANO & TONDO, 1982; SALZANO, 1985; RAMALHO, 1986). Essa predominância se deve principalmente à presença da somatória dos genes S e C, comuns entre os negróides. Entretanto, há que 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). Atualmente, nessa mesma linha de raciocínio sabe-se da presença de talassemias entre os indivíduos de várias regiões da África e que por isso são denominadas talassemias tipo *Negro* (WHEATHERALL & CLEGG, 1979b; WHEATHERALL & WAINSCOT, 1985).

As amostras da cidade de Barretos procederam de vinte locais diferentes, dos quais dez foram escolas (1575 indivíduos), oito creches (523 indivíduos), um Posto de Saúde (197 indivíduos) e o Tiro de Guerra (132 indivíduos). Os resultados das prevalências de hemoglobinas anormais variaram entre os diferentes locais de origem das amostras, porém, somente entre as populações de creche e escolar se obteve diferenças estatisticamente significativas. Por outro lado, a análise dos genótipos das hemoglobinas, relacionados com os locais de coleta, forneceu informações importantes, especialmente em relação a prevalência da hemoglobina AS. Nesse enfoque específico entre as hemoglobi

nas anormais da população de creche, 88% era constituída por hemoglobina AS, enquanto nas escolas a prevalência desse genótipo declinou para 53,5%, no Tiro de Guerra 33,3% e no Posto de Saúde 28,5%. Essa evidente diferença entre os diversos locais de coleta pode ser explicada pelo representativo número de indivíduos negróides na constituição populacional das creches analisadas e que foi cinco vezes maior, proporcionalmente, ao da população escolar e quase três vezes maior que nas populações do Tiro de Guerra e do Posto de Saúde. Assim, esses resultados sugerem que para as análises populacionais as amostras devem ser preferencialmente, de diversas procedências.

As observações a seguir, sobre a relação entre as hemoglobinas anormais e as faixas etárias, referem-se as tabelas IV.7 a IV.10. Foram consideradas as classes etárias de 0 a 7 anos de idade para as crianças em idade pré-escolar e de primeira série do primeiro grau, de 8 a 14 anos para a população infantil do primeiro grau escolar, de 15 a 20 anos para os adolescentes do segundo grau escolar, de 21 a 50 anos para os adultos e acima de 50 anos para a população senil. Os resultados mostraram que na análise da população total das duas cidades estudadas, a maior prevalência se verificou na faixa etária de 0 a 7 anos (5,13%), seguida da faixa de 15 a 20 anos (3,60%), de 8 a 14 anos (3,11%), mais de 50 anos (2,94%) e de 21 a 50 anos (2,01%). Essas diferenças se mostraram estatisticamente - significativas apenas entre as faixas etárias de 0 a 7 anos e 21 a 50 anos, ao nível de $\alpha = 5\%$.

Os confrontos entre as prevalências de hemoglobinas anormais dos grupos raciais caucasóides e negróides, em cada faixa etária considerada, mostraram que elas são diferentes



e significativas nas faixas etárias de 0 a 7 anos, 8 a 14 anos e 15 a 20 anos. Assim, esses resultados, obtidos nas populações analisadas das cidades de Barretos e de Colina, evidenciam que os grupos etários, previamente estabelecidos, pelos critérios acima expostos, representam importância na realização de estudos populacionais devido a diferença estatisticamente significativa entre as faixas etárias de 0 a 7 anos e 21 a 50 anos.

globo. A importância social devida ao aspecto preventivo relativa à sua propagação, bem como aos estudos realizados por meio de pesquisas de conscientização e aconselhamento genético. Embora laborioso, o presente estudo mostrou-se exequível, com possibilidades de ser realizado nos locais distantes de centros especializados, desde que se disponha de intercâmbio com esses centros.

O processo de conscientização se desenvolveu com a realização de palestras gerais, contatos individuais e distribuição de cartilhas explicativas com informações sobre as doenças hereditárias. Os portadores das hemoglobinas anormais, juntamente com os seus familiares, foram convidados para reuniões de esclarecimentos médico-biológicos e os índices de comparecimento em torno de 80% para Barretos e de 90% para Colina atestam o interesse despertado pelo programa.

A população de Posto de Saúde pela sua diversidade de origem étnica-cultural e oportunidade de contato direto com os pais ou responsáveis, que acompanharam as crianças para a vacinação e a população da comunidade escolar que pela sua receptividade e grau de instrução, além do interesse daqueles que se encontram em idade pré-nupcial, em relação aos aspectos de aconselhamento genético, representam amostras de con-

VI. RESUMO E CONCLUSÕES

Além das características genéticas, hematológicas, bioquímicas e antropológicas, já consagradas por inúmeros trabalhos realizados no estudo das hemoglobinas humanas, as pesquisas populacionais para a detecção das prevalências das hemoglobinas anormais apresentam importância social devido ao aspecto preventivo relativo à sua propagação, bem como aos esclarecimentos realizados por meio de processos de conscientização e aconselhamento genético. Embora laborioso, o presente estudo mostrou-se exequível, com possibilidades de ser realizado mesmo em locais distantes de centros especializados, desde que se disponha de intercâmbio com esses centros.

O processo de conscientização se desenvolveu com a realização de palestras gerais, contatos individuais e distribuição de cartilhas explicativas com informações sobre as *anemias hereditárias*. Os portadores das hemoglobinas anormais, juntamente com os seus familiares, foram convidados para reuniões de esclarecimentos médico-biológicos e os índices de comparecimento em torno de 80% para Barretos e de 90% para Colina atestam o interesse suscitado pelo programa.

A população de Posto de Saúde pela sua diversidade de sócio-econômica-cultural e oportunidade de contato direto com os pais ou responsáveis, que acompanharam as crianças para a vacinação e a população de procedência escolar que pela sua receptividade e grau de instrução, além do interesse daqueles que se encontram em idade pré-matrimonial, em relação aos aspectos de aconselhamento genético, representam amostras de consi



derável importância para estudos populacionais.

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 de resistência globular em solução de cloreto de sódio 0,36% e eletroforese em gel de ágar-amido, pH = 8,6. Os processos seletivos favoreceram a triagem dos casos positivos para os exames complementares de identificação de hemoglobinas anormais e de caracterização estrutural das variantes raras.

Considerando a população total estudada das cidades de Barretos e Colina, foram detectados 99 tipos de hemoglobinas anormais, distribuídas em 77 casos de hemoglobinas variantes e 22 casos de talassemias. Do total de indivíduos portadores de hemoglobinas variantes, a hemoglobina AS representou 77,9% e a hemoglobina AC 19,5% sendo que os tipos raros que caracterizaram a hemoglobina AJ tipo Baltimore e hemoglobina AN tipo Baltimore corresponderam a 2,6%. Entre as talassemias a predominância foi da forma beta heterozigota com 86,4%; os outros tipos detectados foram a PHHF com 9,1% e a talassemia alfa (doença de HbH) com 4,5% das formas talassêmicas.

A prevalência das hemoglobinas anormais na população total estudada das duas cidades foi maior entre os negróides em cerca de três vezes daquela observada entre os caucásoides. A mesma relação se manteve ao comparar os dois grupos raciais nas populações de cada uma das cidades. As hemoglobinas AS e AC mostraram-se mais prevalentes nos negróides, representando 70% dos casos de hemoglobina AS ($\chi^2_{0,95;1} = 62,46$) e



60% dos casos de hemoglobina AC. A talassemia beta heterozigota apresentou-se com maior prevalência entre os caucasóides com cerca de 90% dos casos daquelas classificadas como talassemias. As demais formas distribuíram-se assim: a hemoglobina AJ tipo Baltimore (1 caso) e PHHF (2 casos), encontradas em indivíduos negróides enquanto que a hemoglobina AN tipo Baltimore (1 caso) e a doença de HbH (1 caso), detectadas em caucasóides.

Considerando as faixas etárias estudadas, os resultados indicaram maior frequência de hemoglobinas anormais na faixa de 0 a 7 anos, tomando-se a população geral pesquisada das duas cidades. Para a população da cidade de Barretos, tal relação foi mantida e mostrou diferença estatisticamente significativa quando comparada com a faixa etária de 21 a 50 anos ($\chi^2_{0,95;1} = 4,48$). Na amostra total das cidades de Barretos e Colina, em todas as faixas etárias consideradas, as hemoglobinas anormais mostraram-se mais prevalentes entre os negróides.

Das hemoglobinas variantes detectadas, os genótipos AS e AC são comuns na maioria das populações estudadas. O único caso de HbAJ tipo Baltimore, na população brasileira, está sendo descrita pela primeira vez, nesse trabalho enquanto que a hemoglobina AN tipo Baltimore corresponde à segunda descrição. A predominância das hemoglobinas AS e AC entre as variantes, bem como a sua maior prevalência entre os negróides, podem ser explicadas com base na colonização dos municípios de Barretos e Colina, que tiveram inegável contribuição dos negros africanos, representando 80% da população da Zona Mogiana, em 1836. Entre as formas talassêmicas detectadas, a população total estudada apresentou-se como a de segunda maior prevalência (0,78%), entre as várias cidades pesquisadas no Estado de São Paulo, superada so

VII. SUMMARY

mente pela população de Presidente Prudente (1,47%). Considerando a população de Colina, separadamente, verificou-se que ela mostrou a maior prevalência de talassêmicos em nosso estado (1,77%). Isso pode estar relacionado com a contribuição dos colonizadores italianos, que em 1920 representavam 60% dos estrangeiros da Zona Mogiana.

All samples were examined through selective processes of globular resistance to sodium chloride solution at 0.36% and alkaline electrophoresis in agar-starch gel. The positive cases were submitted to other laboratory procedures for determining the type of abnormal hemoglobin.

The collections of samples were preceded by informative talks on hereditary anemias and their carriers were invited, along with their families, to the meetings of medical and biological explanations.

Ninety-nine cases of abnormal hemoglobins, corresponding to 3,51% of the total population of both towns, were detected: 77 were variants (2,73%) and 22 thalassemias (0,78%). Among the variants, hemoglobins AS (2,12%) and AC (0,53%) were the most prevalent, whereas the rare forms of HbAJ Baltimore and HbAN Baltimore presented a frequency of 0,04% each. Hemoglobins AS proved to be more prevalent among

VII. SUMMARY

negroids, which represented 70% of the cases ($\chi^2_{0.95,1} = 04.67$); the same occurred with hemoglobin AC, 60% of the cases. As to thalassemias, hemoglobin AS was the most prevalent, 2,12%.

A study of abnormal hemoglobins was performed at the towns of Barretos and Colina, State of São Paulo, from 10 September 1984 to 7 April 1986, whereby 2822 blood samples were analyzed. To facilitate interpretation the individuals were put into two groups: caucasoids (75,2%) and negroids (24,8%). The total population was divided into four origin groups: school, day nursery, military training school, and health service station; they were classified according to age: 0-7, 8-14, 15-20, 21-50, and over 50.

All samples were examined through selective processes of globular resistance to sodium chloride solution at 0,36% and alkaline electrophoresis in agar-starch gel. The positive cases were submitted to other laboratory procedures for determining the type of abnormal hemoglobin.

The collections of samples were preceded by informative talks on *hereditary anemias* and their carriers were invited, along with their families, to the meetings of medical and biological explanations.

Ninety-nine cases of abnormal hemoglobins, corresponding to 3,51% of the total population of both towns, were detected: 77 were variants (2,73%) and 22 thalassemias (0,78%). Among the variants, hemoglobins AS (2,12%) and AC (0,53%) were the most prevalent, whereas the rare forms of HbAJ Baltimore and HbAN Baltimore presented a frequency of 0,04% each. Hemoglobins AS proved to be more prevalent among



negroids, which represented 70% of the cases ($X^2_{0,95;1} = 64,67$); the same occurred with hemoglobin AC, 60% of the cases. As to thalassemias, beta heterozygote form was the most frequent (0,67%); PHHF (0,07%) and thalassemia alfa (HbH disease - with 0,04%) forms were also detected. Beta heterozygote thalassemia, among thalassemic forms, presented more prevalence among caucasoids with 89,5% of the cases. Caracas, Karger Ed., 1971.

p. 26-31.

ARAUJO, J.T.; PLOWMAN, D.; ARAUJO, R.A.T.; SOUZA, L.P. & LEHMANN, H. Hemoglobin J Rovigo S3 alpha (E-2) ASP by ALA. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 13:37-39, 1980.

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

BANK, A.; MEARS, J.G. & RAMIREZ, F. Disorders of hemoglobin. *Science*, 227:486-493, 1980.

BARELLE, F.E.; SHOULDERS, C.C. & PROUDFOOT, N.J. The primary structure of human α -globin gene. *Cell*, 27:621-626, 1980.

BARG, R.; BARTON, P.; CAINE, A.; CLEMENTS, R.L.; FERGUSON-SMITH, M.A.; MALCON, S.; MORRISON, N. & MURPHY, C.S. Regional localization of the human α -globin gene to the short arm of chromosome 16(16 p13-pter) using both somatic cell hybrids and *in situ* hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.* 38:252, 1982.

BARNHART, M.I.; HENRY, R.L. & LUSHER, S.M. *Sickle cell*. Michigan, U.S.A., Scope, 1976. 93p.



VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, 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. p. 26-31.
- ARAÚJO, J.T.; PLOWMAN, D.; ARAÚJO, R.A.T.; SOUZA, L.F. & LEHMANN, H. Hemoglobin J Rovigo 53 alpha (E-2) ASP by ALA. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 13:37-39, 1980
- BAGLIONI, C. The fusion of two polypeptide chains in hemoglobin Lepore and its interpretation as a genetic deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 48:1880-1885, 1962.
- BANK, A.; MEARS, J.G. & RAMIREZ, F. Disorders of hemoglobin. *Science*, 207:486-493, 1980.
- BARELLE, F.E.; SHOULDERS, C.C. & PROUDFOOT, N.J. The primary structure of human ϵ -globin gene. *Cell*, 21:621-626, 1980.
- BARG, R.; BARTON, P.; CAINE, A.; CLEMENTS, R.L.; FERGUSON-SMITH, M.A.; MALCON, S.; MORRISON, N. & MURPHY, C.S. Regional localization of the human α -globin gene to the short arm of chromosome 16(16 p12-pter) using both somatic cell hybrids and *in situ* hybridization. *Cytogenet. Cell Genet.*, 32:252, 1982.
- BARNHART, M.I.; HENRY, R.L. & LUSHER, S.M. *Sickle cell*. Michigan, U.S.A., Scope, 1976. 98p.

BARTON, P.; MALCOLM, S.; MURPHY, C. & FERGUSON-SMITH, M.A.

Localization of the human α -globin gene cluster to the short arm of chromosome 16(p12-pter) by hybridization *in situ*. *J. Mol. Biol.*, 156:269-278, 1982.

BERTLES, J.F. The occurrence and significance of fetal hemoglobins. In: GORDON, A.S. (ed). *Regulation of hematopoiesis*. Appleton, Century-Crofts, 1970. p. 315-338.

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

BOUSSIOS, T. & BERTLES, J.F. Simultaneous expression of globin genes for embryonic and adult hemoglobins during mammalian ontogeny. *Science*, 218: 1225-1227, 1982.

CAMARGO, J.F. *Crescimento da população no Estado de São Paulo e seus aspectos econômicos*, São Paulo, USP Boletim 153, 1952. 298 p.

CAMPOS, J.O. *Hemoglobinas Anormais em 1000 pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da U.M.G.* Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1962. 105 p.

CLEGG, J.B.; WEATHERALL, D.J. & MILNER, P.F. Haemoglobin Constant Spring. *Nature*, 243: 337, 1971.

CLEGG, J.B. & WEATHERALL, D.J. Molecular basis of thalassemia. *Br. Med. Bull.*, 32: 262, 1976.

DACIE, J.V.; GRIMES, A.J.; MEISLER, A.; STEIGOLD, L.; HEMSTED, E.H.; BEAVEN, G.H. & WHITE, J.C. Hereditary Heinz body anaemia. A report of studies of five patients with mild anaemia. *Brit. J. Haemat.*, 10: 388-390, 1964.



- DALAND, G.A. & CASTLE, W.B. "A simple and rapid method for demonstrating sickling of the red blood cells: the use of reducing agents". *J. Lab. Clin. Med.*, 33:1082, 1948.
- DEISSEROTH, A.; NIENHUIS, A.; TURNER, P.; VELEZ, R.; ANDERSON, W.F.; RUDDLE, F.; LAWRENCE, J.; CREAGAN, R. & KUCHERLAPATI, R. Localization of the human alpha-globin structural gene to chromosome 16 in somatic cell hybrids by molecular hybridization assay. *Cell*, 12: 205-218, 1977.
- DEISSEROTH, A.; NIENHUIS, A.; LAWRENCE, J.; GILES, R.; TURNER, P. & RUDDLE, F.H. Chromosomal localization of human β globin gene on human chromosome 11 in somatic cell hybrids. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 75: 1456-1460, 1978.
- ELLIS JUNIOR, A. *Os primeiros troncos paulistas*. São Paulo, Nacional Ed., 1936. 331 p.
- 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.
- HECHT, F.; JONES, R.T. & KOLER, R.D. Newborns infants with Hb Portland 1 an indicator of alpha chain deficiency. *Ann. Hum. Genet.* 31: 215, 1967.
- HELLER, P. Hemoglobinopathic dysfunction of the red cell. *Am. J. Med.* 41: 799-802, 1968.
- HONIG, G.R. & ADAMS III, J.G. *Human Hemoglobin Genetics*. Wien, Springer-Verlag, 1986. 452 p.
- HUEHNS, E.R.; HECHT, F.; KEIL, J.V. & MOTULSKY, A.G. Developmental hemoglobin anomalies in a chromosomal triplication: D_1 trisomy syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 51: 89, 1964.

- HUISMAN, T.H.J.; HARRIS, H.; GRAVELY, M.; SCHROEDER, W.A.;
SHELTON, J.R.; SHELTON, J.B.; EVANS, L. The chemical heterogeneity of the fetal hemoglobin in normal newborn infants and the adults. *Molec. Cell. Biochem.* 17: 45-55, 1977.
- INGRAM, V.M. Gene evolution and the hemoglobins. *Nature*, 189: 704, 1961.
- INGRAM, V.M. The evolution of a protein. *Fed. Proc.*, 21: 1053, 1962.
- KLEIHAUER, E. 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.
- LANG, A. & LARKIN, P.A. Genetics of human haemoglobins. *Br. Med. Bull.*, 32: 239, 1976.
- LEBO, R.V. ; CARRANO, A.V.; BURKHART-SCHULTZ, K.; DOZY, A.M.; YU, L.C. & KAN, Y.W. Assignment of human ϵ^- β^- γ^- and δ^- globin genes to the short arm of chromosome 11 by chromosome sorting and DNA restriction enzyme analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 76: 5804-5808, 1979.
- LEHMANN, H. & CARREL, R.W. Variation in the structure of human haemoglobin. *Brit. Med. Bull.* 25: 14-19, 1969.
- LEHMANN, H. & CASEY, R. Human haemoglobin. In: LEHMANN, H. & HUNTSMAN, R.G. (ed). *Man's haemoglobin*. Amsterdam, North Holland Publ., 1974. p. 347-417.
- LEHMANN, H. & HUNTSMAN, R.G. *Man's haemoglobins*. Amsterdam, North Holland Publ., 1974. 478 p.
- LEHNINGER, A.L. *Princípios de bioquímica*. São Paulo, Sarvier Ed., 1984. 725 p.



- LIEBHABER, S.A.; GOOSSENS, M.J. & KAN, Y.W. Cloning and complete nucleotide sequence of human 5'- α -globin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 77: 7054-7058, 1980.
- LIEBHABER, S.A. & KAN, Y.W. Differentiation of the mRNA transcripts originating from the α_1 - and α_2 -globin loci in normals and α -thalassemics. *Journal of clinical investigations*, 68: 439-446, 1981.
- MANIATIS, T.; FRITSCH, E.F.; LAUER, J. & LAWN, R.M. The molecular genetics of human hemoglobins. *Ann. Rev. Genet.*, 14:145-178, 1980.
- MARENGO-ROWE, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *J. Clin. Pathol.*, 18: 790-792, 1965.
- MARTINEZ, A.V. Talasemia: concepto y base molecular. *An. Med. Intern.*, 6: 257-259, 1985.
- MICHELSON, A.M. & ORKIN, S.H. The 3' untranslated regions of duplicated human α -globin genes are unexpectedly divergent. *Cell*, 22: 371-377, 1980.
- MILLIET, S. *Roteiro do café: Análise histórico-geográfica da expansão cafeeira no Estado de São Paulo*. São Paulo, Estudos Paulistas I, 1938. 244p.
- MORAN, T.J. S Hemoglobinopathy in a Community Hospital : incidence and control. *JAMA*, 219: 204-205, 1972.
- NAOUM, P.C. Investigação laboratorial das hemoglobinopatias. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, 12:213-221, 1979.

- NAOUM, P.C. Anemias imigrantes: origem das anemias hereditárias no Brasil. *Ciência Hoje*, 3: 58-64, 1984.
- NAOUM, P.C. *Diagnóstico das Hemoglobinopatias*. São Paulo, Sarvier Ed., 1986. 450p. (no prelo).
- NAOUM, P.C. ; MOURA CAMPOS, M.C.R.; PARENTI, M.F. & SYZMANSKI, A.M. An improved eletrophoretic method for a screening program for haemoglobinopathies. *Experientia*, 36:875-876, 1980.
- NAOUM, P.C.; MATTOS, L.C. & CURI, P.R. Prevalence and geographic distribution of abnormal hemoglobins in the state of São Paulo, Brazil. *Bull. Pan. Am. Health Organ.* 18:127-138, 1984.
- NAOUM, P.C.; ANGULO, I.L.; BRANDÃO, A.C.; GRACIANO, R.A.S.; SPIR, M.; MOURA, E. & ANJOS, I.D. Detecção e conscientização de portadores de hemoglobinopatias nas regiões de São José do Rio Preto e Presidente Prudente, SP. (Brasil). *Rev. Saúde Publ. São Paulo*, 19: 364-373, 1985.
- NAOUM, P.C.; ALVARES FILHO, F.; FERRARI, F.; MOREIRA, H.W. & SAMPAIO, Z.A. Hemoglobinas anormais no Brasil. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 1986 (no prelo).
- NIENHUIS, A.W.; LEY, T.; PEPE, G.; TAM, J. & KANTOR, J. Molecular defects in Thalassemia. In: CAO, A. & CARCASSI, V. (eds). *Thalassemia. Recent Advances in detection and treatment*. New York, U.S.A., Alan R. Liss. Inc., 1982. p. 69-79.
- NOGUCHI, C.T. & SCHECHTER, A.N. Sickle hemoglobin polymerization in solution and in cells. *Ann. Biophys. Chem.*, 14: 239-263, 1985.



- ORKIN, S.H. & COFF, S.C. The duplicated human α -globin genes. Their relative expression as measured by RNA analysis. *Cell*, 24:345-351, 1981.
- PAULING, L.; ITANO, H.A.; SINGER, S.J. & WELLS, I.C. "Sickle-cell anemia - molecular disease". *Science*, 110:543, 1949.
- PERUTZ, M.F. Structure and mechanism of haemoglobin. *Brit. Med. Bull*, 32: 195-208, 1976.
- PROUDFOOT, N.J. & MANIATIS, T. The structure of a human α -globin pseudogene and its relationship to α -globin gene. *Cell*, 21: 537-544, 1980.
- PROUDFOOT, N.; GIL, A. & MANIATIS, T. The structure of the human zeta-globin gene and a closed linked, nearly identical pseudogene. *Cell*, 31: 553-563, 1982.
- QUEIROZ, R.M. *Estudos Genéticos e dados clínicos e laboratoriais em indivíduos Beta Talassêmicos na População do Estado do Rio Grande do Sul*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1982. 89 p.
- RAMALHO, A.S. Investigação genético-epidemiológica das talassemias beta e delta-beta no Estado de São Paulo. *Rev. Paul. Med.*, 88: 68-71, 1976.
- RAMALHO, A.S. *As hemoglobinopatias hereditárias. Um problema de saúde pública no Brasil*. Ribeirão Preto, São Paulo, Rev. Brasil. Genet. 1986. 160 p.
- SAENZ, G.F. Hemoglobinopatias y transtornos afines. *Sangre*, 23: 358-368, 1978.



- SAENZ, G.F. & FERREIRA, J.M. *Manual latinoamericano: Laboratorio hemoglobinopatias*. San Jose, CIHATA, 1980. 155p.
- SALZANO, F.M. Incidence, effects, and management of sickle cell disease in Brazil. *The American Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 7: 240-244, 1985.
- SALZANO, F.M. & TONDO, C.V. Hemoglobin types in Brazilian Populations. *Hemoglobin*, 6: 85-97, 1982.
- SCHILIRO, G. Sicily: the world reservoir for thalassemias and haemoglobinopathies. *Nature*, 276: 761, 1978.
- SCHMIDT, R.M. & BROSIOUS, E.M. *Basic Laboratory Methods of Hemoglobinopathy detection*. Atlanta, H.E.W. Publ., 1974. 111p.
- SCHNEIDER, R.G. Differentiation of electrophoretically hemoglobins - such as S, D, G and P or Λ_2 , C, E and O - by electrophoresis of the globin chains. *Clinical Chemistry*, 20: 1111-1115, 1974.
- SCHNEIDER, R.G. Methods for detection of hemoglobin variants and hemoglobinopathies in the routine clinical laboratory. *CRC Critical Reviews in Clin. Lab. Sci.*, 11: 243-271, 1978.
- SCHROEDER, W.A.; HUISMAN, T.H.J.; SHELTON, J.B.; KLEIHAUER, E.F.; DOZY, A.M. & ROBERTSON, B. Evidence for multiple structural genes for the gamma-chain of human fetal hemoglobin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 60: 537-544, 1968.
- SCHROEDER, W.A.; HUISMAN, T.H.J.; BROWN, A.K.; Uy, R.; BOUVER, N.G.; LERCH, P.O.; SHELTON, J.R.; SHELTON, J.B. & APELL, G. Postnatal changes in the chemical heterogeneity of human fetal hemoglobin. *Pediat. Res.*, 5: 493-499, 1971.
- 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.

- SILVESTRONI, E.; BIANCO, I.; GRAZIANI, B.; CARBONI, C. & D'ARCA, S.U. First premarital screening of thalassaemia carriers in intermediate schools in Latium. *J. Med. Genet.* 15: 202-207, 1978.
- SLIGHTOM, J.L.; BLECHL, A.E. & SMITHIES, O. Human fetal G_{γ} - and A_{γ} - globin genes: Complete nucleotide sequences suggest that DNA can be exchanged between those duplicated genes. *Cell*, 21: 627-638, 1980.
- SPRITZ, R.A.; DERIEL, J. K.; FORGET, B.G. & WEISSMAN, S.M. Complete nucleotide sequence of the human δ -globin gene. *Cell*, 21: 639-646, 1980.
- SPRITZ, R.A. & FORGET, B.G. The thalassemias: molecular mechanisms of human genetic disease. *Am. J. Hum. Genet.*, 35: 333-361, 1983.
- TAVARES-NETO, J.; NAOUM, P.C.; ADORNO, J.; AZEVEDO, P.; BRITO, F.; CALDAS, M.; COUTO, M.; COSTA, K.; MARTINELLI, C.; GONZALEZ, A.; ASSAD, A.; MORTOZA, L.; REIS, F.; SILVA, M.M.C. ; SILVA, P. & VIEIRA, M. Hemoglobinopatias no Distrito Federal, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 19: 13-19, 1986.
- TUAN, D.; FEINGOLD, E. NEWMAN, M.; WEISSMAN, S.M. & FORGET, B.G. Different 3' end point deletions causing $\delta\beta$ -thalassemia and hereditary persistence of fetal hemoglobin: implications for the control of γ - globin gene expression in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80: 6937-6941, 1983.
- VELLA, F. "Acid agar-gel electrophoresis of human hemoglobins". *Am. J. Clin. Path.*, 49: 440, 1968.

- VOGEL, F. & MOTULSKY, A.G. *Human Genetics*. Berlin, Springer-Verlag, 1982, 700p. 282-287, 1976.
- WEATHERALL, D.J. & CLEGG, J.B. The alpha chain termination mutants and their relationship to alpha thalassemia. *Philos. Trans. R. Soc. London*, 271: 411-415, 1979a. 437-446, 1978.
- WEATHERALL, D.J. & CLEGG, J.B. *The thalassemia syndromes*. Oxford, England, Blackwell Sci. Publ., 1979b. 444p. 88, 191, 1983.
- WEATHERALL, D.J. & CLEGG, J.B. Thalassemia revisited. *Cell*, 29: 7-9, 1982.
- WEATHERALL, D.J. & WAINSCOT, J.S. The molecular pathology of thalassaemia. In: HOFFBRAND, A.V. (ed). *Recent Advances in Haematology*. Oxford, Englands, Churchill Livingstone, 1985. p. 63-88.
- WHO WORKING GROUP. Hereditary anaemias: genetic basis, clinical features, diagnosis and treatment. *Bulletin of the World Health Organization*, 60: 643-660, 1982.
- WILLIAMS, W.J.; BEUTLER, E.; ERSLEV, A.J. & RUNDIES, R.W. *Haematologia*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1976. 1160p.
- WINSLOW, R.M. & ANDERSON, W.F. As Hemoglobinopatias. In: STANBURY, J.B.; WYNGAARDEN, J.B. & FREDDRICKSON, D.S. (eds). *Bases Metabólicas das Doenças Hereditárias*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1981. p. 1520-1566.
- WINTER, W.P. Geographic and ethnic distribution of human hemoglobin variants. *Texas Reports on Biology and Medicine*, 40: 179-190, 1980.

WOOD, W.G. Haemoglobin synthesis 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.; COSTA, F.F.; ISMAEL, S.J. & BOTURA, C. Enfermidades drepanociticas en una poblacion brasileira. *Sangre*: 28, 191, 1983.



VOCE TEM ANEMIA HEREDITARIA?

O Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP) e a Faculdade Regional de Medicina, de São José do Rio Preto, estão empenhados 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, etc. 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

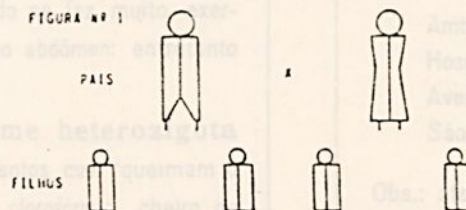
duas formas: a imperceptível e a perceptível. Na forma imperceptível, também chamada de heterozigota, a anemia está presente sem que a pessoa a perceba, pois quase não há sinais de anemia. Na forma perceptível, também chamada de homozigota, a anemia é facilmente percebida, e a pessoa além de ter muita 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 ?

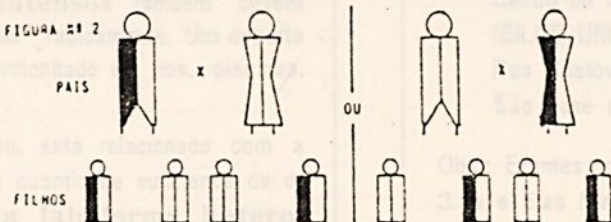
As figuras a seguir representam famílias com os pais e quatro filhos. A figura nº 1 mostra uma situação em que o pai e a mãe não tem anemia hereditária e, conseqüentemente, os filhos também não apresentarão essa anemia.

FIGURA Nº 1



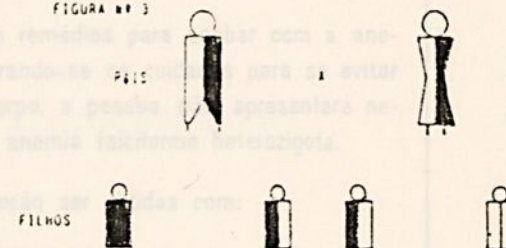
A figura nº 2 mostra duas situações que podem ocorrer: um dos pais tem a anemia hereditária imperceptível e, nesse caso, os filhos gerados têm a probabilidade de 50% de herdar a forma imperceptível transmitida por um dos pais.

FIGURA Nº 2



A figura nº 3 mostra uma família em que tanto o pai quanto a mãe são portadores da 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%.

FIGURA Nº 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.

Esse programa de conscientização de anemia hereditária oferece aos portadores atendimento gratuito no ambulatório de hematologia do Hospital de Base de São José do Rio Preto.

Informações adicionais poderão ser obtidas no Centro de Referência de Hemoglobinas, do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas de São José do Rio Preto, com Prof. Paulo Cesar Naoum, e no Hospital de Base com o Dr. Ivan de Lucena Angulo e Prof. Luiz Carlos de Mattos.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Prezado

Venho por meio desta informá-lo que, durante as análises efetuadas em seu sangue, observamos um tipo de anemia hereditária imperceptível, ou seja, uma forma de anemia que a pessoa tem mas não a percebe.

A anemia hereditária que identificamos em você é conhecida por anemia **falciforme heterozigota**, também denominada por **hemoglobina AS**.

Essa anemia não é observada em exames de sangue (hemograma). Somente com métodos especiais é possível identificá-la.

A pessoa que tem essa anemia é normal. Não afeta o desenvolvimento físico, nem o intelectual e nem o sexual. Em determinadas ocasiões, especialmente quando se faz muito exercício físico, podem ocorrer algumas dores no abdômen: entretanto após o repouso, essas dores desaparecem.

O portador de **anemia falciforme heterozigota** não deve fazer uso de drogas ou medicamentos que "queimam o oxigênio", por exemplo inalação de éter e cloroformio, cheiro de lança-perfume, anestesia geral sem oxigenação durante e após a cirurgia.

Os exercícios físicos **muito intensos** também devem ser evitados, pois "queimam o oxigênio" rapidamente. Um esporte que deve ser evitado é o mergulho prolongado em rios, piscinas, lagos ou mar.

Tudo isso, como você observou, está relacionado com a falta de oxigênio. Assim, quando falta quantidade suficiente de oxigênio em pessoa que tem **anemia falciforme heterozigota**, os glóbulos vermelhos se deformam, passando da forma de "disco" para a forma de "foice" (daí o nome falciforme). Na forma de foice esses glóbulos apresentam muita facilidade de se agruparem, formando pelotas de glóbulos que entopem as pequenas veias, causando trombose e dores, principalmente, no abdômen. Quando a falta de oxigênio é muito intensa, essas trombozes podem ser perigosas, e as dores muito mais agudas.

Outro fato muito importante é o seguinte: quando você for se casar ou optar por ter filhos, há necessidade que seu noivo ou noiva faça esse exame para saber se ele ou ela é portador de anemia hereditária imperceptível. No caso dos dois terem esse tipo de anemia, existe a possibilidade de nascer uma criança que poderá receber as partes anêmicas do pai e da mãe e assim aparecerá uma anemia muito grave.

Finalmente, não existem remédios para acabar com a anemia hereditária, porém, observando-se os cuidados para se evitar a "queima do oxigênio" do corpo, a pessoa não apresentará nenhum problema causado pela anemia falciforme heterozigota.

Outras informações poderão ser obtidas com:

1. DR. IVAN DE LUCENA ANGULO

Ambulatório de Hematologia
Hospital de Base - Faculdade de Medicina
Avenida Faria Lima, 5400
São José do Rio Preto

Obs.: atendimento pelo INAMPS, no próprio ambulatório, às 3.as e 5.as feiras.

2. PROF. PAULO CÉSAR NAOUM

Centro de Referência de Hemoglobina
IBILCE/UNESP
Rua Cristóvão Colombo, 2265
São José do Rio Preto - Fone 32-4966

Obs.: Exames gratuitos nos familiares (pais, irmãos e avós, às 3.as e 5.as feiras).

Atenciosamente

Prof. Paulo César Naoum

São José do Rio Preto

Prezado

Venho por meio desta Informá-lo que, durante as análises efetuadas em seu sangue, observamos um tipo de anemia hereditária imperceptível, ou seja, uma forma de anemia que a pessoa tem mas não a percebe. A anemia que identificamos em você é conhecida por HEMOGLOBINA C.

Essa anemia não é observada em exames de sangue (hemograma). Somente com métodos especiais é possível identificá-la.

A pessoa que tem essa anemia é NORMAL. Não afeta o desenvolvimento físico, nem o mental e nem o sexual.

Não há nenhuma proibição à prática de esportes, alimentação ou medicamento para quem tem esse tipo de anemia. Só uma coisa é importante: quando você for se casar é importante que se realize esse exame para saber se o seu futuro marido (ou mulher) é portador de anemia hereditária. Isso é importante, pois, no caso do seu noivo (ou noiva) ter anemia hereditária, existe a possibilidade de um dos seus filhos ter uma anemia grave, proveniente da combinação da parte anêmica do pai com a parte anêmica da mãe.

ANEXO 3

PARA QUALQUER ESCLARECIMENTO PROCURE:

DR. IVAN DE LUCENA ANGULO

Ambulatório de Hematologia
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto
Avenida Faria Lima, 5400
Obs. Atendimento gratuito às terças e quintas-feiras pelo INAMPS, no próprio ambulatório.

DR. PAULO CÉSAR NAOUM

Centro de Referência de Hemoglobinas
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas
Rua Cristóvão Colombo, 2265 - São José do Rio Preto
Obs.: Exames gratuitos nos familiares (pai, mãe, irmão e avós)
Terças e quintas-feiras de manhã.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

Prezado

Venho por meio desta informá-lo que, durante as análises efetuadas em seu sangue, observamos um tipo de anemia hereditária imperceptível, ou seja, uma forma de anemia que a pessoa tem mas não a percebe.

A anemia hereditária que identificamos em você é conhecida por **talassemia heterozigota** (forma beta)

Essa anemia não é observada em exames de sangue (hemograma). Somente com métodos especiais é possível identificá-la.

A pessoa que tem essa anemia é normal. Não afeta o desenvolvimento físico, nem o intelectual e nem o sexual. Em determinadas ocasiões, porém a pessoa sente algum cansaço, principalmente após exercícios físicos, longas caminhadas, muito serviço, etc... Nessas ocasiões podem ocorrer dores musculares nas pernas. Entretanto, após o repouso, essas disposições desaparecem.

O portador de **talassemia heterozigota** não deve tomar remédios e nem vitaminas que contenham ferro ou sais ferrosos, pois o sangue de quem tem talassemia sempre apresenta quantidades suficiente de ferro. Assim, ao ser tomado, o ferro do medicamento vai para o sangue, aumentando a sua quantidade. O ferro em excesso no sangue é muito perigoso, pois se deposita em determinados órgãos (ex.: fígado, baço, coração), nas veias e nos tecidos, alterando-lhes as funções e, como passar do tempo, pode provocar outras doenças. Recomendamos que você informe os médicos, por ocasião das consultas, sobre esse tipo de anemia hereditária que você tem.

Outro fato muito importante é o seguinte: quando você for se casar ou optar por ter filhos há necessidade que seu noivo ou noiva faça esse exame para saber se ele ou ela é portador de anemia hereditária imperceptível. No caso dos dois terem esse tipo de anemia, existe a possibilidade de nascer uma criança que poderá receber as partes anêmicas do pai e da mãe e assim aparecerá uma anemia muito grave.

Finalmente, não existe remédio para acabar com a anemia hereditária. Para **talassemia heterozigota** existem medicamentos que são usados, quando o médico achar necessário e conveniente.

Baseando-nos em recomendações médicas sugerimos o seguinte:

- 1 — Evitar medicamentos que contenham ferro.
- 2 — Repousar ao sentir-se cansado.
- 3 — Alimentação sadia; alimentos ricos em ferro (carne, ovos, etc.) podem ser ingeridos à vontade.
- 4 — Evitar bebidas alcoólicas.
- 5 — Continuar praticando os esportes preferidos, sem exagerar.

Outras informações poderão ser obtidas com:

1. DR. IVAN DE LUCENA ANGULO

Ambulatório de Hematologia
Hospital de Base - Faculdade Regional de Medicina-FARME
Avenida Faria Lima, 5400
São José do Rio Preto

Obs.: atendimento pelo INAMPS, no próprio ambulatório, às 3.as e 5.as feiras.

2. PROF. PAULO CÉSAR NAOUM

Centro de Referência de Hemoglobinas
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas - UNESP
Rua Cristovão Colombo, 2265
São José do Rio Preto - Fone 32-4966

Obs.: Exames gratuitos nos familiares (pais, irmãos e avós, às 3.as e 5.as feiras).

Atenciosamente

Prof. Paulo César Naoum

IDENTIDADE DE ANEMIA HEREDITARIA

nome _____

idade _____ data do diagnóstico _____ / _____ / _____

tipo de anemia FALCIFORME HETEROZIGOTA

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas - IBILCE

CENTRO DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINAS

15.100 São José do Rio Preto SP

O portador de **anemia falciforme heterozigota** não deve fazer uso de drogas ou medicamentos que "queimam o oxigênio", por exemplo inalação de éter e clorofórmio, cheiro de lança-perfume, anestesia geral sem oxigenação durante e após a cirurgia. Os exercícios físicos **multo intensos** também devem ser evitados, pois "queimam o oxigênio" rapidamente. Um esporte que deve ser evitado é o mergulho prolongado em rios, piscinas, lagos ou mar.

ANEXO 5

IDENTIDADE DE ANEMIA HEREDITARIA

nome _____

idade _____ data do diagnóstico _____ / _____ / _____

tipo de anemia _____

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas - IBILCE

CENTRO DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINAS

15.100 São José do Rio Preto SP

ANEXO 6

IDENTIDADE DE ANEMIA HEREDITARIA

nome _____

idade _____ data do diagnóstico _____ / _____ / _____

tipo de anemia TALASSEMIA HETEROZIGOTA

Universidade Estadual Paulista - UNESP

Instituto de Biociências, Letras e Ciências
Exatas - IBILCE

CENTRO DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINAS

15.100 São José do Rio Preto SP

O portador da **talassemia heterozigota** não deve tomar remédios e nem vitaminas que contenham ferro ou sais ferrosos, pois o sangue de quem tem talassemia sempre apresenta quantidade suficiente de ferro. Assim, ao ser tomado, o ferro do medicamento vai para o sangue, aumentando a sua quantidade. O ferro em excesso no sangue é muito perigoso, pois se deposita em determinados órgãos (ex.: fígado, baço, coração), nas veias e nos tecidos, alterando-lhes as funções e, com o passar do tempo, pode provocar outras doenças. Recomendamos que você informe os médicos, por ocasião das consultas, sobre esse tipo de anemia hereditária que você tem

ANEXO 7



ANEMIAS HEREDITÁRIAS

Existem várias formas de ANEMIA. Algumas são ADQUIRIDAS, devido à perda de sangue, *verminose*, alimentação deficiente, etc.. Outras são HEREDITÁRIAS, ou seja, transmitidas de pai para filho.

As ANEMIAS HEREDITÁRIAS podem se apresentar nas formas *GRAVE* e *NÃO GRAVE*. A forma *GRAVE* é muito rara. Quase todos os casos de ANEMIAS HEREDITÁRIAS se apresentam na forma *NÃO GRAVE* que não é considerada doença, porque não manifesta sintomas. Mesmo assim, é importante que os portadores da forma *NÃO GRAVE* saibam principalmente que:

1º) Ao contrário da *ANEMIA COMUM*, as *ANEMIAS HEREDITÁRIAS*, geralmente, não reagem aos remédios que apresentam FERRO. Tomar este tipo de medicamento, além de não resolver, pode provocar uma *intoxicação* do organismo pelo excesso de ferro.

O portador de ANEMIA HEREDITÁRIA deve procurar a orientação de um médico.

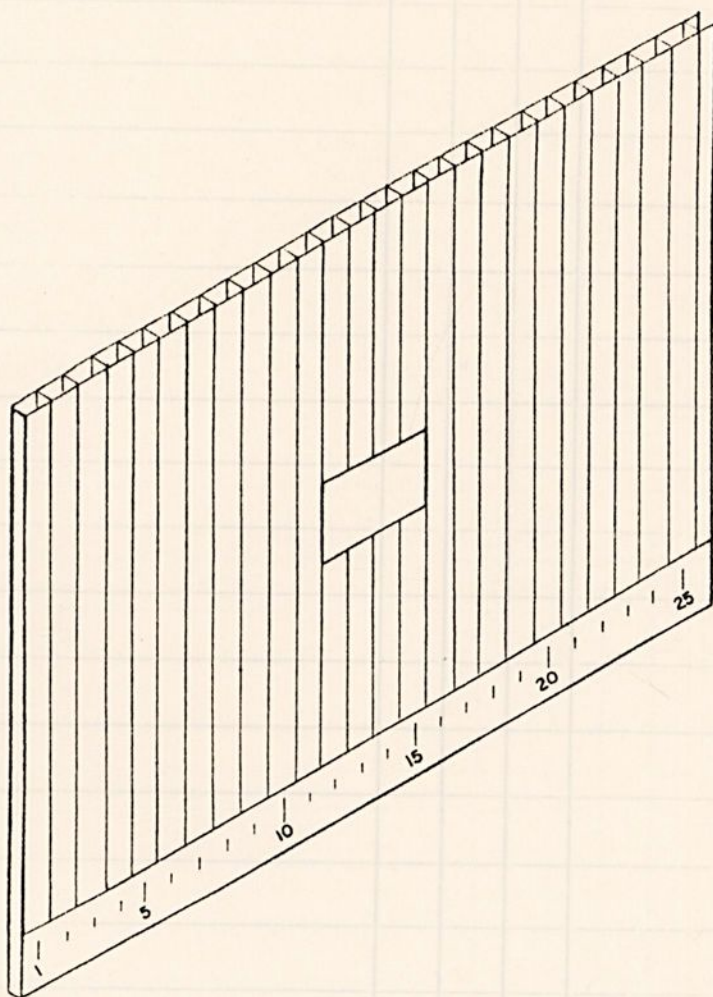
Evite tomar remédio por conta própria.

2º) Quando tanto o marido como a esposa são portadores da ANEMIA HEREDITÁRIA, mesmo na forma *NÃO GRAVE*, há a possibilidade de terem filho com a forma *GRAVE*

O portador de ANEMIA HEREDITÁRIA, quando for se casar, deve procurar a orientação de um médico.

ANEXO 8





ANEXO 9

ANEXO 10

CENTRO DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINAS

IBILCE/UNESP - S. J. R. Preto
Rua Cristovão Colombo 2265
15.100 - S. J. Rio Preto - SP
Fone 32-4966

PROCEDÊNCIA

FOLHA

Data ____ / ____ / ____

N.º	NOME	ID	SX	C	OUTROS	Resist. Globular	ELETROFORESE		
							AGAR AMIDO	Celoge	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 10

Nome Fone

HbPatia

Endereço

Cidade Estado CEP.

Idade Sexo Cor Est. Civil

Local da Coleta

Data Coleta / / Data Exame / / Rel. /

Agar/Amido pH = 8,6 Agar pH = 6,2

Cellogel pH = 8,6 NaCl 0,36%

Esfregaço em A.C.B. Teste Falcização

Outros

Observações

ESTUDO FAMILIAL

N.o	NOME	Relação	ID	SX	CR	ES	HbPATIA

ANEXO 11

