

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



RELATÓRIO DE ESTÁGIO

Isaías Abel Lopes Pedro

II Curso de Mestrado em Análises Clínicas

Lisboa, 2010

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE FARMÁCIA



RELATÓRIO DE ESTÁGIO:

CENTRO HOSPITALAR PSIQUIÁTRICO DE LISBOA

ORIENTAÇÃO: Dr.^a ISABEL TINOCO

A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE

HEMOGLOBINOPATIAS

ORIENTAÇÃO: PROF.^a Dr.^a ISABEL BETTENCOURT MOREIRA DA SILVA

Isaías Abel Lopes Pedro

II Curso de Mestrado em Análises Clínicas

Lisboa, 2010

(...) “o que de mais belo podemos experimentar é o misterioso. É a fonte de toda a verdadeira arte e ciência”.

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

Este relatório/monografia é o resultado de muitas horas de estudo, reflexão, trabalho e representa o culminar de um objectivo académico. Embora seja, pela sua finalidade académica, um trabalho individual, há contributos que não podem nem devem deixar de ser realçados. Assim, quero no geral agradecer a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para sua execução.

Em especial, quero agradecer à professora Isabel Bettencourt da Silva, por me ter orientado na execução da monografia e sobretudo, pela disponibilidade, pela ajuda e simpatia que sempre manifestou; à professora Cristina Marques pela disponibilidade, pelos esclarecimentos e pelo apoio expresso ao longo de todo o mestrado; à Dr.^a Isabel Tinoco por ter aceitado ser minha orientadora no estágio, pela paciência, pelo empenho, pelo espírito crítico, pela iniciativa, pelo exemplo que foi e continuará a ser para mim.

ABREVIATURAS

ACSP	<u>A</u> nálises <u>C</u> línicas e <u>S</u> aúde <u>P</u> ública
AEQ	<u>A</u> valiação <u>E</u> xterna da <u>Q</u> ualidade
APEF	<u>A</u> ssociação <u>P</u> ortuguesa de <u>E</u> studantes de <u>F</u> armácia
APPDH	<u>A</u> ssociação <u>P</u> ortuguesa de <u>P</u> aís e <u>D</u> oentes com <u>H</u> emoglobinopatias.
ARMS	<i><u>A</u>mplification <u>R</u>efractory <u>M</u>utation <u>S</u>ystem</i>
CCIH	<u>C</u> omissão de <u>C</u> ontrolo de <u>I</u> nfeção <u>H</u> ospitalar
CGMJM	<u>C</u> entro de <u>G</u> enética <u>M</u> édica <u>J</u> acinto de <u>M</u> agalhães
CHPL	<u>C</u> entro <u>H</u> ospitalar <u>P</u> siquiátrico de <u>L</u> isboa
CQI	<u>C</u> ontrolo de <u>Q</u> ualidade <u>I</u> nterno
DGS	<u>D</u> irecção- <u>G</u> eral da <u>S</u> aúde
DFO	Desferroxiamina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPN	<u>D</u> iagnóstico <u>P</u> ré- <u>N</u> atal
EDTA	Ácido etilendiamino tetra-acético (<i><u>E</u>thylene<u>d</u>iamine <u>T</u>etracetic <u>A</u>cid</i>)
ELFA	Ensaio Imunoenzimático com Marcador Fluorescente (<i><u>E</u>nzyme <u>L</u>inked <u>F</u>luorescent <u>A</u>ssay</i>)
EIA	Ensaio Imunoenzimático (<i><u>E</u>nzyme <u>I</u>mmuno<u>a</u>ssay</i>)
ERISA	Escola Superior de Saúde Ribeiro Sanches
FDA	<i><u>F</u>ood and <u>D</u>rug <u>A</u>dmistration</i>
FT3	Triiodotironina Livre
FT4	Tiroxina Livre
Hb	<u>H</u> emoglobina

HCC	<u>H</u> ospital <u>C</u> urry <u>C</u> abral
HGM	<u>H</u> emoglobina <u>G</u> lobular <u>M</u> édia
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Resolução (<i><u>H</u>igh <u>P</u>erformance <u>L</u>iquid <u>C</u>hromatography</i>)
IEF	Focagem Isoelétrica (<i><u>I</u>soelectric <u>F</u>ocusing</i>)
IGIF	<u>I</u> nstituto de <u>G</u> estão <u>I</u> nformática e <u>F</u> inanceira da Saúde
INSA	<u>I</u> nstituto <u>N</u> acional de <u>S</u> aúde Dr. Ricardo Jorge
LCR	<u>L</u> íquido <u>C</u> efalo- <u>R</u> aquidiano
MAC	<u>M</u> estrado em <u>A</u> nálises <u>C</u> línicas
MGG	<u>M</u> ay- <u>G</u> rünwald- <u>G</u> iemsa
NO	Óxido Nítrico (<i><u>N</u>itric <u>O</u>xide</i>)
OMS	<u>O</u> rganização <u>M</u> undial da <u>S</u> aúde
PCR	Reacção em Cadeia da Polimerase (<i><u>P</u>olymerase <u>C</u>hain <u>R</u>eaction</i>)
PNAEQ	<u>P</u> lano <u>N</u> acional de <u>A</u> valiação <u>E</u> xterna da <u>Q</u> ualidade
PNCH	<u>P</u> rograma <u>N</u> acional de <u>C</u> ontrolo das <u>H</u> emoglobinopatias
PNDP	<u>P</u> rograma <u>N</u> acional de <u>D</u> iagnostico <u>P</u> recoce
Pólo-JM	Ex-Hospital <u>J</u> úlio de <u>M</u> atos
Pólo-MB	Ex-Hospital <u>M</u> iguel <u>B</u> ombarda
RDW	<i><u>R</u>ed <u>C</u>ell <u>D</u>istribution <u>W</u>idth</i>
RNA	Ácido Ribonucleico
SUCH	<u>S</u> erviço de <u>U</u> tização <u>C</u> omum dos <u>H</u> ospitais
TDTs	<u>T</u> écnico/s de <u>D</u> iagnóstico e <u>T</u> erapêutica
UPC	<u>U</u> nidade de <u>P</u> atologia <u>C</u> línica
VGM	<u>V</u> olume <u>G</u> lobular <u>M</u> édio

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	iv
ABREVIATURAS	v
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABELAS	vii

RELATÓRIO DE ESTÁGIO CHPL

RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO CHPL	3
2.1. Estrutura e Serviços	3
2.2. Internamento	4
2.3. Serviço de Urgência	5
2.4. Recursos Humanos	6
3. CARACTERIZAÇÃO DA UPC	7
3.1. Estrutura e Instalações	7
3.2. Acesso	8
3.3. Funcionamento	8
3.4. Informática	9
3.5. Recursos Humanos	10
3.6. Equipamentos em utilização	10
3.7. Controlo da Qualidade Interno e Avaliação Externa da Qualidade	11
3.8. Seroteca	11
3.9. Arquivo	11
3.10. Resíduos	12

3.11. Aquisição de serviço de análises clínicas ao exterior	12
3.12. Orientação de Estágios	12
3.13. Investigação	13
3.14. Formação Profissional	13
3.15. Produção	13
4. ESTÁGIO PROFISSIONAL	14
4.1. Fase pré-analítica	14
4.2. Fase analítica.....	15
4.2.1. Valência de Bioquímica Clínica.....	16
4.2.2. Valência de Hematologia	22
4.2.3. Valência de Imunologia	24
4.3. Fase pós-analítica.....	26
5. POLÍTICA ASSISTENCIAL DA UPC	27
6. CONCLUSÕES	30
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO PRECOCE DE HEMOGLOBINOPATIAS

RESUMO	xxxiv
ABSTRACT	xxxv
1. INTRODUÇÃO.....	36
2. MÉTODOS.....	38
3. HEMOGLOBINOPATIAS	39
3.1. Estrutura da Hemoglobina	19
3.2. Estrutura dos genes de globina	41

3.3. As Hemoglobinas ao longo da ontogenia	42
3.4. Mutações nos genes da α - e β -globina	44
3.5. Modo de transmissão	44
3.6. Fisiopatologia.....	45
3.7. Nomenclatura.....	46
4. DREPANOCITOSE	46
4.1. Caracterização genética e Fisiopatologia.....	47
4.2. Epidemiologia	49
4.3. Quadro Clínico.....	50
4.4. Heterozigotia composta	54
4.5. Quadro Laboratorial.....	55
5. HEMOGLOBINOPATIA C	55
5.1 Quadro laboratorial	56
6. HEMOGLOBINOPATIA D-Punjab	56
7. HEMOGLOBINOPATIA E	57
7.1. Quadro laboratorial	57
8. HEMOGLOBINOPATIA O-Arab	58
9. TALASSÉMIAS.....	58
9.1. Caracterização genética e Fisiopatologia.....	59
9.2. α - Talassémias.....	59
9.3. β -Talassémias.....	61
9.3.1. Epidemiologia	62
9.3.2. Quadro Clínico	63
9.3.3. Quadro Laboratorial	68
10. DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATIAS.....	69
10.1. Hemograma.....	70
10.2. Contagem de reticulócitos em coloração supravital	71
10.3. Prova de falciformação eritrocitária.....	72
10.4. Teste de solubilidade da Hb S.....	72

10.5. Electroforese de Hemoglobinas	73
10.6. Quantificação de Hb A ₂	74
10.7. Quantificação de Hb F	75
10.8. HPLC	76
10.9. IEF.....	76
10.10. Técnicas de Imunoensaio	77
10.11. Espectrometria de Massa	77
10.12. Determinações Bioquímicas	77
10.13. Estudos Moleculares	78
11. TERAPÊUTICA DE HEMOGLOBINOPATIAS.....	79
12. POLÍTICAS DE RASTREIO E DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATIAS NO MUNDO	83
12.1. Portugal	84
12.2. Espanha	86
12.3. Itália	87
12.4. África	88
12.5. Holanda	89
12.6. Reino Unido	90
12.7. Brasil	92
12.8. Estados Unidos da América	93
12.9. Canadá.....	95
12.10. Austrália.....	98
13. CONCLUSÕES	99
14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Planta da UPC.....	7
Figura 2 - Distribuição dos valores de FT3	21
Figura 3 - Estrutura da hemoglobina	40
Figura 4 - Esquema representativo dos agrupamentos génicos da α - e da β -globina.....	41
Figura 5 - Representação esquemática da síntese das cadeias de globina durante o desenvolvimento, assim como dos órgãos onde ocorre a hematopoiese	43
Figura 6 - Transmissão autossómica recessiva de Hemoglobinopatias.....	45
Figura 7 – Distribuição geográfica das talassémias, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias comuns.	49
Figura 8 – Distribuição global das mutações de β -talassémias	62
Figura 9 - Distribuição global de α -talassémias	62
Figura 10 – Aparência facial típica de uma criança com β -talassémia major	63
Figura 11 – Alterações ósseas na β -talassémia major	64
Figura 12 - Expressão das hemoglobinas durante o desenvolvimento normal	70
Figura 13 - Esquema de terapia génica utilizando um retrovírus	82
Figura 14 - Protocolo para a prevenção de hemoglobinopatias em Portugal	86
Figura 15 - Protocolo para o rastreio de hemoglobinopatias no Canadá.....	97

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da lotação por serviços do CHPL	4
Tabela 2 - Recursos Humanos do CHPL.....	6
Tabela 3 – Proveniência de Utentes à UPC	8
Tabela 4 – Equipamentos da UPC	10
Tabela 5 - Número de análises realizadas na UPC	13
Tabela 6 - Análises realizadas na secção de Bioquímica Clínica.....	16
Tabela 7 - Resultados da Análise Estatística dos valores de FT3.....	20
Tabela 8 - Distribuição dos valores de FT3.....	20
Tabela 9 – Análise dos resultados dos valores de FT3	21
Tabela 10 - Análises realizadas na secção de Hematologia	23
Tabela 11 - Análises realizadas na secção de Imunologia.....	24
Tabela 12 - Evolução dos parâmetros hematológicos avaliados na terapêutica com Clozapina.....	28
Tabela 13 - Parâmetros a analisar na administração de Carbamazepina, Ácido Valpróico e Lítio.....	29
Tabela 14 - Composição da Hb ao longo da ontogenia	43

RESUMO

O plano de estudos do mestrado em Análises Clínicas, ministrado na Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, inclui uma parte curricular e um estágio de natureza profissional.

O presente relatório reporta o período de estágio de Novembro de 2009 a Julho de 2010 realizado na Unidade de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Psiquiátrico de Lisboa (CHPL), pólo Júlio de Matos, nas valências laboratoriais de Hematologia, Imunologia e Bioquímica Clínica.

O estágio teve como objectivos: 1. Promover a integração no meio profissional e o contacto com os outros profissionais de saúde; 2. Integrar os conhecimentos adquiridos num contexto de trabalho; 3. Desenvolver a capacidade de trabalho multidisciplinar e em equipa; 4. Promover o contacto com os doentes aplicando princípios éticos e deontológicos.

A parte curricular, desta formação pós-graduada, procura fornecer informação actualizada que permita a aquisição de conhecimentos que possibilitem acompanhar a constante evolução social, científica e tecnológica.

Do ponto de vista prático, o estágio enquadra-se como um complemento da formação adquirida e integração na realidade profissional. É a oportunidade de fazer a interligação entre a prática e os conceitos teóricos adquiridos.

O estágio realizado no CHPL permitiu uma maior consciencialização para a peculiaridade da realidade psiquiátrica. Em termos profissionais, a avaliação e o controlo do processo laboratorial com critério, permite em muitas situações racionalizar meios e custos. Esta incidência foi particularmente evidente ao nível da repetição/validação de resultados e o seu enquadramento em termos clínicos.

A prestação de um serviço de diagnóstico efectivo, depende dos conhecimentos e competências necessárias para planear, realizar, avaliar e controlar todo o processo de trabalho, que culmina na obtenção de resultados reais, fidedignos e em tempo útil.

ABSTRACT

The curriculum of the MA in Clinical Analysis taught at the Faculty of Pharmacy, University of Lisbon, includes a curricular part and an internship of a professional nature.

This document reports on the internship carried out from November 2009 to July 2010 at the Clinical Pathology Lab at the Center of the Lisbon Psychiatric Hospital (CHPL), Júlio de Matos campus, in the laboratory work of Hematology, Immunology and Clinical Biochemistry.

The goals of the internship were: 1. Promote integration in the professional world and contact with other health professionals; 2. Integrate the acquired knowledge in the workplace; 3. Develop skills in working in multidisciplinary teams; 4. Promote contact with patients, applying ethical principles and ethics.

The curricular part of this postgraduate training aims to provide updated information to allow the acquiring knowledge permitting the continued monitoring of the social, scientific and technological advances.

From a practical standpoint, the internship is given as complement to the training received and integration into professional reality. It is the opportunity to make a connection between pragmatics and theoretical concepts acquired.

The internship at CHPL has allowed a greater awareness of the specifics of psychiatric reality. In professional terms, the criterious evaluation and control of laboratory work, allows in many situations to streamline costs. This effect was particularly evident at the level of repetition / validation of results and their consistency in clinical terms.

Providing an effective diagnostic service depends on the knowledge and skills needed to plan, conduct, evaluate and control the entire work process that culminates in achieving of real, reliable and timely results.

1. INTRODUÇÃO

Como local para efectuar o Estágio profissional em Análises Clínicas, que é parte integrante do plano de estudos do Curso de Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, foi proposta e aceite, a Unidade de Patologia Clínica do Centro Hospitalar Psiquiátrico de Lisboa, e para Orientadora de Estágio, a sua Directora Técnica e Responsável, Dr.^a Isabel Tinoco.

A prestação de cuidados em saúde mental tem características próprias e muito específicas no geral e em particular, consoante sejam doentes internados (agudos, residentes e inimputáveis) ou utentes a frequentarem estruturas ambulatoriais. Se para os segundos a abordagem em pouco difere da população “normal”, no que diz respeito aos primeiros, e de acordo com a patologia psiquiátrica de que são portadores, há sempre que ter em consideração a agressividade/agitação psicomotora, a inaplicabilidade de auto-vigilância e o baixo nível de percepção e de observância de recomendações. Disto resulta que a identificação do doente tem de ser mais cautelosa e que os restantes profissionais cuidadores, enfermeiros e assistentes operacionais, sejam muitas vezes auxiliares na aproximação, contenção e manipulação do doente, o que reforça o espírito de entreatajuda.

A actual tendência é a de integrar o doente mental na comunidade e isso vem sendo possível graças ao aparecimento de novos fármacos capazes de, com alguma rapidez, controlarem a sintomatologia e o comportamento.

O papel do Laboratório Clínico, nesta área da saúde, é bastante abrangente porque pode ser fundamental:

- No despiste da existência de doenças psíquicas de base somática, como é o caso da neurosífilis, do alcoolismo agudo ou crónico, da diabetes descompensada ou da deficiência em Vitamina B12 e/ou folatos;
- No despiste do uso de substâncias aditivas capazes de simular ou agravar uma doença mental, como é o caso das drogas de abuso;

- Na monitorização de fármacos que, nem sempre aceites pelo doente, permite evidenciar o seu incumprimento, perceber a existência de uma importante variabilidade individual, detectar a instalação de uma intoxicação e estabelecer a dose mínima eficaz, tendo em conta o ambiente de grande associação e interacção medicamentosa;
- Na vigilância de possíveis alterações que decorram dos efeitos adversos produzidos por alguns medicamentos, como é o caso dos que promovem a variação dos níveis circulantes de prolactina, hormonas da tiroideia e testosterona;
- No acompanhamento da administração de novas terapêuticas que, por reacções idiossincráticas, podem causar sérias alterações hematológicas, de que são exemplo as leucopénias com neutropénias observáveis como resposta a certos neurolépticos, como a clozapina;
- No diagnóstico da síndrome maligna dos neurolépticos, cuja taxa de mortalidade atinge os 30% e que ao cursar com hipertermia necessita de um rápido diagnóstico diferencial com uma eventual infecção grave, causada por uma agranulocitose, que entretanto se tenha instalado.

2. CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO CHPL

2.1. Estrutura e Serviços

O CHPL presta cuidados especializados na área da Psiquiatria e Saúde Mental e engloba, em termos estritamente funcionais, um conjunto de duas Unidades na cidade de Lisboa, a saber:

- **Internamento de doentes agudos e de evolução prolongada no Pólo-JM**, sito na Avenida do Brasil.
- **Internamento de doentes forenses e de evolução prolongada, no Pólo-MB**, sito na Rua Almeida Amaral.
- **Estruturas comunitárias** localizadas:
 - No Concelho de Lisboa: na Rua Gomes Freire nº 161 e na Rua Padre Abel Varzim -Olivais
 - Nos Concelhos de Sintra, Odivelas e Torres Vedras.
- **Unidade de reabilitação** localizada: Rua da Bela Vista à Graça, nº 152 – Lisboa
- **Estruturas residenciais autónomas**, (Unidade de Vida Apoiada) de reabilitação, localizadas: nos Bairros de Alvalade e de Marvila, em Lisboa.
- **Unidades de ocupações protegidas**: Lavandaria, Quiosque-Bar e Guarita, no Pólo-JM.
- **Consultas externas**:
 - **Psiquiatria**, no Pólo-JM, Olivais, Alverca, Loures, Mafra, Vila Franca de Xira, Sintra, Odivelas e Torres Vedras.
 - **Neurofisiologia e Neuropsicologia**, no Pólo-JM
 - **Psicoterapia**, no Pólo-JM
- **Consultas internas** – de Neurologia, Estomatologia, Medicina Interna, Anestesia, Clínica Geral, Dietética / Nutrição e Redução do Risco Tabágico

- **Estruturas ambulatoriais:**
 - **Hospital de Dia**, nos Pólos-JM e MB
 - **Terapia Ocupacional**
 - **Formação Profissional** (informática, ajudantes de cozinha, de cabeleireiro, costura e jardinagem)
 - **Unidade de Patologia Clínica (UPC)**
 - **Unidade de Radiologia**
 - **Unidade de Neurofisiologia**

2.2. Internamento

O Internamento tem uma lotação oficial de **518 camas** e integra os Serviços discriminados no quadro seguinte:

Tabela 1 - Distribuição da lotação por serviços

SERVIÇOS		CAMAS
Serviço de Agudos	Clínica Psiquiátrica I (Pavilhão 29-R/C)	28
	Clínica Psiquiátrica II (Pavilhão 18-A)	26
	Clínica Psiquiátrica III (Pavilhão 21-1º)	30
	Clínica Psiquiátrica IV (Pavilhão 24-A-1º)	30
	Clínica Psiquiátrica V (Pavilhão 21-R/C)	18
	Clínica Psiquiátrica VI (Pavilhão 24-A-R/C)	36
Serviços de Residentes	Residência Psiquiátrica I	54
	Residência Psiquiátrica II	50
	Residência Psiquiátrica III	48
	Residência (Pólo-MB)	59
Estruturas de Reabilitação	Transicao (Pólo-MB)	20
	Undidade Transicao <> Casa Do Parque 1	26
	Casa das Olaias	12
	Casa das Tílias	8
	Casa de S. Rita	8
	Residências Autónomas (no Exterior)	13
	Casa dos Plátanos I	10
	Casa dos Plátanos II	10

SERVIÇOS (Cont.)		CAMAS
Unidade Psiquiatria Forense	Internamento Forense (Pólo-MB)	32
TOTAL GERAL		518

Fonte: Gabinete Estatística CHPL, em 31 de Julho de 2009

2.3. Serviço de urgência

A Urgência Psiquiátrica está integrada no Serviço de Urgência Geral do HCC, funcionando em permanência durante 24 horas/dia.

Há ainda uma cobertura de Urgência Interna:

- No Pólo-JM, nos dias úteis, das 20.00 às 09.00h e durante 24 horas aos fins-de-semana; apoiada nos dias úteis, entre as 14.00 e as 20.00h, por Consultas de Prevenção Interna;
- No Pólo-MB, uma cobertura de Prevenção Interna para os doentes internados entre as 14.00 e as 21.00h nos dias úteis e de 24/24 horas aos fins-de-semana.

2.4. Recursos Humanos

A estrutura orgânica do CHPL apresentava, em termos de Recursos Humanos, em 31 de Julho de 2009, um universo de **859 trabalhadores**, distribuídos da seguinte forma:

Tabela 2 - Recursos Humanos do CHPL

CATEGORIAS PROFISSIONAIS		Julho 2009
		Total Efectivos
Órgãos de Direcção		4
Dirigentes		5
Técnicos Superiores		108
Médicos		106
Enfermeiros		235
Técnicos Diagnóstico e Terapêutica / Monitores		47
Administrativos		87
Assistentes Operacionais / Operários	Auxiliar de Acção Médica	203
	Auxiliar de Apoio e Vigilância	21
	Auxiliar de Alimentação	5
	Operário Qualificado	13
	Operário de Lavandaria	3
	Telefonista	1
	Cozinheiro	4
	Barbeiro	1
	Motorista	6
Capelão		2
Pessoal Informático		8
TOTAL		859

Fonte: Gabinete Estatística CHPL, em 31 de Julho de 2009

3. CARACTERIZAÇÃO DA UPC

3.1. Estrutura e Instalações

A UPC, instalada no Pavilhão 24-B, possui as valências de Hematologia, Bioquímica Clínica, Imunologia, Endocrinologia e Microbiologia.

Para além das áreas Técnicas, e após obras de remodelação efectuadas em 1999, ficou dotada de outras destinadas a Sala de Espera, Recepção e Arquivo, Sala de Colheitas gerais e especiais, Triagem, Lavagem e Esterilização, Armazém, Sala de Reuniões, Gabinete Médico, Copa e Sanitários para pessoal e utentes, conforme planta.

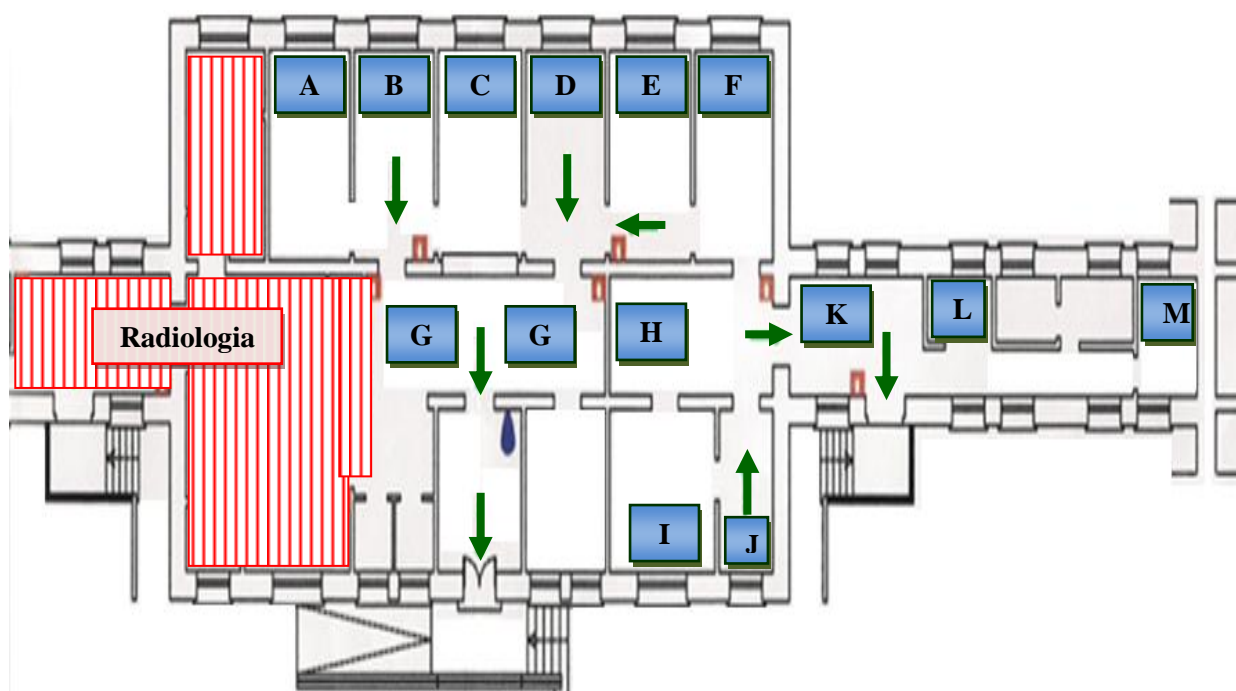


Figura 1- Planta da UPC

Fonte: Serviço de Instalações e Equipamento CHPL

Legenda:

A – Gabinete do Responsável do Serviço; B – Sala de Reuniões; C – Recepção; D – Sala de Colheitas; E – Secção Hematologia; F – Secção Bioquímica; G – Sala de espera; H – Secção Imunologia / Endocrinologia; I – Sala de lavagens; J – Secção Microbiologia; K,L – Sala pessoal/Copa; M - Armazém

3.2. Acesso

A UPC dá resposta às solicitações internas dos doentes, com origem nos Serviços de Internamento e em regime ambulatorio.

Em relação à procura externa, os utentes podem ter diversas proveniências.

Tabela 3 - Proveniência de Utentes à UPC

PROVENIÊNCIA	UTENTES	PROTOCOLOS
Serviço Nacional de Saúde	Utentes da área de influência do CHPL Utentes dos Centros de Saúde da região de Lisboa	Com a sub-região de Lisboa Instituto Português do Sangue
Subsistemas de Saúde	Utentes de qualquer área geográfica	
Particulares	Utentes de qualquer área geográfica	

3.3. Funcionamento

Para as análises solicitadas pelos Serviços de Internamento do Pólo-JM, as colheitas de amostras de produtos biológicos, no caso de doentes intransportáveis, são efectuadas pelo pessoal de enfermagem dos respectivos serviços, que posteriormente as enviam à UPC acompanhadas pelas respectivas requisições. Os doentes que se podem movimentar dirigem-se acompanhados à UPC, para a realização das colheitas.

Dada a estrutura pavilhonar do CHPL, a saída da UPC para efectuar colheitas restringe-se às dos doentes do Pólo-MB e a situações difíceis que o pessoal de enfermagem não consiga resolver.

As requisições das análises dos Serviços de Internamento, Consulta Externa e Saúde Ocupacional são efectuadas em modelos específicos e não carecem de marcação prévia. Está para breve a instalação de uma aplicação informática que permita a “requisição on-line”.

Relativamente às solicitações de análises urgentes, a colheita e a sua execução pode ser realizada de imediato na UPC, visto que há presença efectiva de um TDT até às 18.00h, dos dias úteis, embora o horário normal de atendimento ao público se efectue entre as 08.00 e as 15.00h dos mesmos dias.

Todos os boletins de resultados personalizados, são colocados em envelope fechado, e à excepção dos utentes do exterior que os levantam na UPC, são protocolados e entregues nos Serviços de solicitação, embora fiquem disponíveis para consulta on-line, assim que vão sendo biopatologicamente validados.

3.4. Informática

A UPC dispõe de duas aplicações informáticas, Sonho e Sislab, esta última desenvolvida pela empresa Glintt.

A aplicação Sonho do IGIF encontra-se a funcionar na UPC desde 2000. Quanto ao Sislab encontra-se a funcionar desde Junho de 2009, altura em que substituiu o Softlab que existia, desde Agosto de 1994.

Com vista à salvaguarda da confidencialidade dos dados dos utentes existem diversos níveis de acesso, de acordo com a qualificação e a tarefa desempenhada pelos diversos intervenientes no circuito analítico.

A comunicação entre os equipamentos e o sistema informático concretiza-se de forma bidirecional para o auto-analisador de bioquímica clínica, ABX Pentra 400, e para o equipamento de imunoensaio multiparamétrico, VIDAS.

Sempre que se procede à introdução de uma nova aplicação informática é sabido que se exige um esforço suplementar a todo o pessoal envolvido, mas é também reconhecido que a informatização é um instrumento de trabalho indispensável num laboratório porque colabora, a vários níveis, com a organização do serviço, a promoção da qualidade do trabalho e permite uma maior rapidez na emissão dos resultados.

A UPC dispõe ainda de uma aplicação, a Glintt-HS, que permite fazer a gestão de consumos / stocks e as encomendas de reagentes e consumíveis, por via informática.

3.5. Recursos Humanos

Dispõe de dois Médicos Patologistas Clínicos, cinco TDTs, sendo quatro da área das ACSP e um de Farmácia, dois Assistentes Técnicos e uma Assistente Operacional, todos em regime de 35 horas semanais.

3.6. Equipamentos em utilização

Tabela 4 - Equipamentos da UPC

Equipamentos	Pertença do CHPL	De firmas, colocados contra-consumos
ABX Pentra 60 *	✓	
Roller 10	✓	
Option Plus	✓	
ABX Pentra 400 *		Horiba ABX
Spotlyte Na/K/Cl/Li	✓	
HÁ - 8140		A. Menarini
Genio *	✓	
Immulite 1000		Siemens
VIDAS *		bio Mérieux
Aution Jet *		A. Menarini

* - Ligados em rede

Todos os equipamentos possuem, junto de si, normas escritas de utilização e manutenção facilmente consultáveis pelo pessoal, para além de existirem dossiers individuais onde estão arquivados os seus manuais e todos os documentos resultantes dos procedimentos de inspeção, limpeza, manutenção e verificações periódicas a que são sujeitos, de acordo com os contratos de manutenção anualmente negociados.

Todos os equipamentos utilizam reagentes, controlos e calibradores comerciais, dentro do prazo de validade, produzidos e distribuídos pelas firmas a que pertencem ou a quem foram adquiridos, respeitando as especificações por elas recomendadas.

Se a sua conservação for em frio, faz-se à temperatura adequada, em frigoríficos de proximidade aos equipamentos a que respeitam e em áreas distintas das de conservação das amostras.

3.7. Controlo de Qualidade Interno e Avaliação Externa da Qualidade

O Controlo da Qualidade Interno executa-se de forma regular, como parte da rotina da UPC, e com uma frequência pré-estabelecida e adequada a cada parâmetro e técnica analítica, conforme indicações implementadas pela Direcção Técnica.

Diariamente, são efectuadas análises a amostras controlo, cujos resultados são previamente conhecidos, de forma a avaliar e corrigir, se necessário, a calibração dos analisadores. Após validação dos resultados da amostra controlo, os valores dos diferentes parâmetros são registados em cartas de Levey-Jennings, para posterior interpretação segundo as regras de Westgard.

A Avaliação Externa da Qualidade faz-se através do PNAEQ, do INSA de Lisboa, em Endocrinologia, Coagulação, Química Clínica e Contagens celulares em sangue total. Embora seja uma avaliação retrospectiva, permite a comparação inter-laboratorial, a análise da prestação do sistema analítico de que se dispõe e a ponderação quanto a uma, eventual, necessidade de mudança do método em uso.

3.8. Seroteca

A UPC dispõe de uma unidade com temperatura de congelação entre -17 e -23°C para congelar as amostras sobre as quais se efectuam análises relacionadas com o despiste e / ou diagnóstico de doenças causadas por agentes virais e infecciosos, com vista ao acompanhamento da evolução de títulos de anticorpos ou ao esclarecimento de alguma discrepância de resultados por recurso a uma, eventual, contra-análise.

3.9. Arquivo

A informação em suporte de papel é fisicamente arquivada na UPC, e também em suporte electrónico com *backups* diários feitos e detidos pelo Serviço de Informática do CHPL.

A aplicação Sonho, do IGIF tem arquivada a informação dos utentes desde o ano 2000.

3.10. Resíduos

O CHPL contratualizou com o SUCH, a recolha, transporte, tratamento e eliminação dos resíduos sólidos e líquidos perigosos produzidos na UPC. Se para os primeiros a prestação desse serviço já vem de há longa data, para os segundos é muito recente.

3.11. Aquisição de serviço de análises clínicas ao exterior

As análises clínicas solicitadas à UPC e que nela não se executam por falta de capacidade técnica instalada ou por falta de rentabilidade económica, são realizadas pelo sector privado após um concurso anualmente aberto pelo Serviço de Aprovisionamento do CHPL. Actualmente o prestador deste serviço é o Laboratório A. Reis Valle, Lda.

As condições de colheita e conservação das amostras são conformes com o exigido pelo laboratório contratualizado, que assegura o seu transporte.

3.12. Orientação de Estágios

3.12.1. – ERISA

Desde o ano lectivo de 2007-2008 que a ERISA tem enviado alunos para estágio nas valências existentes na UPC. Para melhor aprendizagem o número de alunos, em cada período de estágio, é condicionado a dois elementos.

3.12.2. – Instituto do Emprego e Formação Profissional, I.P.

Este ano e pela primeira vez, foi-lhe solicitado estágio de 200 horas de Formação Prática em Contexto de Trabalho para 4 formandos inscritos no Centro de Formação Profissional do Seixal, que já decorreu.

3.12.3. – APEF

Agendados para o mês de Setembro estão estágios extra-curriculares para dois associados da APEF.

3.13. Investigação

A UPC mantém, desde 2006, colaboração no ensaio clínico com o título “Open-Label Study of intramuscular Olanzapina Depot in Patients with Schizophrenia or Schizoaffective Disorders” promovido pela Lilly Portugal – Produtos Farmacêuticos, Lda, sob a coordenação do Investigador Principal, Dr. Rui Durval (Psiquiatra).

3.14. Formação Profissional

A formação dos profissionais constitui um direito e um dever dos próprios e das instituições onde desempenham as suas funções.

As acções de formação são um meio de valorização dos recursos humanos e devem ter por objectivo o aumento da eficácia desses recursos.

Por estas razões, a UPC é parte activa e interessada no levantamento das necessidades de formação, que anualmente é feito pelo Gabinete de Formação e Desenvolvimento do CHPL. Como para além disto a responsável da UPC é simultaneamente a Coordenadora da CCIH e no Plano de Acção Anual desta Comissão consta a organização e participação em acções de formação, é fácil perceber que o espírito dominante seja o de incentivo e facilitação à frequência e vá até ao convite a colaboradores, para participarem como formadores.

3.15. Produção

É com base nos dados arquivados na aplicação Sonho, que se contabiliza a actividade da UPC, expressa no número de análises nela inscrita. Por esta razão está sempre sujeita às modificações que ocorram na codificação das análises, que constam nas tabelas de preços a praticar pelas instituições e serviços integrados no Serviço Nacional de Saúde

Tabela 5 - Número de análises realizadas na UPC

ANO	CHPL	EXTERIOR	TOTAIS
2008	52 442	21 287	73 729
2009	50 533	26 466	76 999

Fonte: Gabinete Estatística CHPL

4. ESTÁGIO PROFISSIONAL

Para a realização do estágio profissional, foram escolhidas as Valências de Bioquímica Clínica, Hematologia e Imunologia.

Como a “doença” não é a única causa possível de resultados analíticos anormais, das fases do circuito analítico, são a pré-analítica e a analítica as que mais deverão deter atenção.

4.1. Fase pré-analítica

É a fase mais difícil de controlar porque envolve um grande número de profissionais que podem ou não pertencer ao Laboratório. Desde o médico requisitante, que elabora uma requisição, nem sempre legível ou adequada ao utente, até ao seu registo por pessoal administrativo, muitas vezes desconhecedor da terminologia usada, esta fase pode passar por profissionais que, por não terem uma adequada formação, são incapazes de uma boa prática na colheita e/ou no transporte dos produtos biológicos. Daí que o laboratório deva ter influência na correcção e melhoria destas variáveis ao estabelecer e ao divulgar normas de colheita, acondicionamento e transporte das amostras.

É impossível obter um resultado sobre o qual se elabore um correcto raciocínio clínico, se não se trabalhar sobre uma boa e conveniente amostra, se não se tiver uma cuidada execução técnica e se não se dispuser de um método analítico o mais exacto, preciso, sensível e específico possível.

É importante um serviço de apoio ao pessoal administrativo para esclarecimento de qualquer dúvida e para a conferência dos pedidos antes da emissão das folhas de trabalho do dia.

Também dispõe de indicações escritas que permitem uma clara informação, com vista a uma boa preparação dos utentes, bem como à obtenção da amostra correcta para a satisfação dos pedidos ou à execução de provas funcionais como sejam a de O’ Sullivan ou as de Tolerância à Glucose Oral em crianças, grávidas e adultos, que não grávidas.

Como material para venipunção, privilegia os sistemas fechados e usa etiquetas de códigos de barras para a identificação dos tubos e contentores de amostras, emitidos no acto de inscrição do utente.

Todo o pessoal da UPC tem acesso a equipamentos de protecção individual e está informado quanto aos procedimentos a seguir em caso de acidente em serviço.

Para fácil consulta existe um dossier de registo das informações relevantes, como a dificuldade na colheita ou terapêuticas em curso (anticoagulantes; antibióticos) e das desconformidades, que se verifiquem nesta fase, como falta de produto biológico para análise.

4.2. Fase analítica

Como procedimento comum a todas as Valências frequentadas, antes de se processarem as amostras e de se fazer a sua validação técnica é sempre necessário verificar os indicadores de bom funcionamento instrumental e conferir uma correcta resposta aos Controlos da Qualidade Internos, efectuados a partir de material liofilizado com diferentes concentrações, que permitem testar a exactidão e a precisão das técnicas em uso.

É essencial ter conhecimento do tempo máximo tolerável entre a colheita e separação das amostras e a sua execução técnica, em função do tipo de amostra e da determinação a satisfazer.

De igual modo, tem de se saber como conservar uma amostra de forma a minimizar ou a impedir a sua deterioração, no caso de ser sujeita a um atraso imponderado, no seu processamento.

As repetições, para confirmação de um qualquer resultado, só são permitidas depois de observado o género e a idade, questionada a colheita, conferida a qualidade da amostra, consultado o histórico de dados do utente, se o houver, conferida alguma informação clínica inscrita na requisição, se existir, e ponderado o conjunto dos resultados obtidos nesse utente.

O responsável pela execução da análise deve colocar observações nos resultados que tiver de repetir, inscrever comentários sobre as características macroscópicas da amostra, acrescentar parâmetros que se possam revelar como primeiros achados e pôr em destaque certas alterações que se observem, como acontece com os traçados da separação electroforética das proteínas séricas.

4.2.1. Valência de Bioquímica Clínica

Nesta Valência faz-se o estudo bioquímico do sangue, urina e LCR, para além das fezes.

É a Valência com maior peso estatístico dentro da UPC e com maior diversidade de parâmetros a determinar.

Como a maior parte das determinações se executa em soro torna-se imperativo dar atenção ao tempo necessário à coagulação da amostra, à velocidade e tempo de centrifugação e à qualidade e separação promovida pelo gel, que se quer competente.

Todas as amostras de urina, destinadas à análise sumária, processam-se de modo a que a observação do sedimento se articule com os dados físico-químicos fornecidos pelo analisador semi-automático, em utilização na UPC.

Foram executadas as determinações dos parâmetros que constam do Quadro 5.

Tabela 6 - Análises realizadas na secção de Bioquímica Clínica

PARÂMETRO	PRODUTO BIOLÓGICO	MÉTODO
GLÚCIDOS		
<i>Glicose</i>	Soro / Urina / LCR	Enzimático Colorimétrico (Glucose oxidase/Peroxidase)
<i>Hemoglobina Glicosilada</i>	Sangue total	Cromatografia líquida de alta Resolução
PROTEÍNAS		
<i>Albumina</i>	Soro	Colorimétrico (Verde de Bromocresol)
<i>Proteínas Totais</i>	Soro	Colorimétrico (Biureto)
<i>Electroforese de Proteínas</i>	Soro	Acetato de celulose / Ponceau S Densitometria
<i>Proteína C Reactiva</i>	Soro	Imunoturbidimetria
<i>Transferrina</i>	Soro	Turbidimetria
<i>Ferritina</i>	Soro	Enzimoimunoensaio

LÍPIDOS		
<i>Colesterol Total</i>	Soro	Enzimático Colorimétrico (Colesterol esterase/Peroxidase)
<i>Colesterol - HDL</i>	Soro	Enzimático Colorimétrico
<i>Colesterol - LDL e VLDL</i>	Soro	Cálculo: (Fórmula de Friedewald-Levy-Fredrikson) Não aplicável se Triglicéridos > 400 mg/dL (Jejum)
<i>Triglicéridos</i>	Soro	Enzimático Colorimétrico (Lipase/Glicerol-3-fosfato Oxidase/Peroxidase)
ENZIMAS		
<i>Alfa-Amilase</i>	Soro	Enzimático Colorimétrico (Substrato 4,6-etilideno-(G7)-p-nitrofenil-(G1)-alfa-D-maltoheptaósido)
<i>Creatinafosfoquinase (CK)</i>	Soro	Cinético Enzimático U.V. (Substrato fosfato de creatina e ativador N-acetilcisteína)
<i>Creatinafosfoquinase Mb</i>	Soro	Cinético Enzimático U.V. (com prévia imunoinibição da sub-unidade M com anticorpos específicos)
<i>Desidrogenase Láctica (LDH)</i>	Soro	Cinético Enzimático U.V. (Substrato Piruvato)
<i>Fosfatase Alcalina (ALP)</i>	Soro	Cinético Enzimático Colorimétrico (Substrato p-Nitrofenilfosfato)
<i>Gama-Glutamiltransferase (GGT)</i>	Soro	Cinético Colorimétrico (Szasz, modificado)
<i>Transaminase (ALT)</i>	Soro	Cinético Enzimático U.V. (sem fosfato de piridoxal)
<i>Transaminase (AST)</i>	Soro	Cinético Enzimático U.V. (sem fosfato de piridoxal)
IÕES E EQUILÍBRIO HIDROELECTROLÍTICO		
<i>Cálcio</i>	Soro / Urina	Colorimétrico (o-Cresolftaleína)
<i>Fósforo</i>	Soro / Urina	Colorimétrico (Fosfomolibdato)
<i>Magnésio</i>	Soro / Urina	Colorimétrico (Azul de Xilidil)

<i>Ferro</i>	Soro	Colorimétrico (Ferene-S)
<i>Capacidade Total De Fixação De Ferro</i>	Soro	Colorimétrico (Ferene-S)
<i>Sódio</i>	Soro / Urina	Eléctrodos Selectivos (Potenciometria)
<i>Potássio</i>	Soro / Urina	Eléctrodos Selectivos (Potenciometria)
<i>Cloretos</i>	Soro / Urina	Eléctrodos Selectivos (Potenciometria)
<i>Osmolaridade</i>	Soro / Urina	Cálculo
PIGMENTOS BILIARES		
<i>Bilirrubina Total e Directa</i>	Soro	Jendrassik-Gróf, modificado
<i>Bilirrubina Indirecta</i>	Soro	Cálculo
COMPOSTOS NITROGENADOS NÃO PROTEÍCOS E METABOLISMO PURÍNICO		
<i>Ureia</i>	Soro	Cinético Enzimático (Urease / Glutamato desidrogenase)
<i>Creatinina</i>	Soro / Urina	Cinético colorimétrico (Jaffé, sem desproteinização)
<i>Índice de Depuração da Creatinina</i>	Soro e Urina	Cálculo
<i>Ácido Úrico</i>	Soro / Urina	Enzimático Colorimétrico (Uricase / Peroxidase)
HORMONAS		
<i>Tireo-Estimulante</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Tiroxina Total e Livre</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Triiodotironina Total e Livre</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Folículo-Estimulante</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Luteo-Estimulante</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Prolactina</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Progesterona</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>17-Beta Estradiol</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Testosterona Total</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Pesquisa Gonadotrofina Coriônica Humana</i>	Urina	Aglutinação em lâmina

VITAMINAS		
<i>Vitamina B12</i>	Soro	Quimioluminescência
<i>Folatos</i>	Soro	Quimioluminescência
FÁRMACOS E DROGAS DE ABUSO		
<i>Carbamazepina</i>	Soro	Quimioluminescência
<i>Ácido Valpróico</i>	Soro	Quimioluminescência
<i>Lítio</i>	Soro	Eléctrodos Selectivos (Potenciometria)
<i>Pesquisa Anfetaminas</i>	Urina	Imunocromatografia
<i>Pesquisa Cocaína</i>	Urina	Imunocromatografia
<i>Pesquisa Canabinóides</i>	Urina	Imunocromatografia
<i>Pesquisa Opiáceos</i>	Urina	Imunocromatografia
<i>Pesquisa Benzodiazepinas</i>	Urina	Imunocromatografia
<i>Pesquisa Metadona</i>	Urina	Imunocromatografia
OUTROS		
<i>Pesquisa de Sangue Oculto</i>	Fezes	Imunocromatografia
<i>Grau de Digestão dos Alimentos</i>	Fezes	Microscopia óptica
<i>Análise Sumária da Urina</i>	Urina	Auto-analisador semi-automático Microscopia óptica
<i>Espemograma</i>	Esperma	Exame macroscópico Microscopia óptica (Exame a fresco e após coloração MGG)

FT3 - Novos Intervalos de Referência

Aproveitando o tempo de estágio e porque vinha sendo notório um desvio sistemático dos valores observados nos doseamentos de triiodotironina livre, nas amostras dos utentes, procedeu-se ao tratamento estatístico dos mais recentes 695 resultados de FT3, com o intuito de estabelecer novos intervalos de referência ajustados à população que a UPC atende. Durante o período de tempo em que foram recolhidos os resultados, tanto os valores do CQI como da AEQ se encontravam dentro dos respectivos intervalos de referência.

Assim, o intervalo de referência de 2,6 a 5,4 pg/ml, aconselhado pela casa comercial Biomérieux Portugal, foi corrigido, para 1,58 a 4.04 pg/ml.

Da análise estatística retrospectiva dos resultados das determinações de FT3 resultou:

Tabela 7 – Resultados da Análise Estatística dos valores de FT3

<i>Resultado</i>	
Média	2,6631
Erro-padrão	0,0228
Mediana	2,68
Moda	2,70
Desvio-padrão	0,6023
Variância da amostra	0,3628
Curtose	0,4323
Assimetria	0,2094
Intervalo	3,75
Mínimo	1,02
Máximo	4,77
Soma	1851
Contagem	695
Nível de Confiança (95,0%)	0,0449

Distribuídos da seguinte forma:

Tabela 8 - Distribuição dos valores de FT3

<i>Intervalos</i>	<i>Frequência</i>
Menos 1,5	18
1,5 - 1,8	45
1,8 - 2,1	51
2,1 - 2,4	122
2,4 - 2,7	129
2,7 - 3	145
3 - 3,3	98
3,3 - 3,6	48
3,6 - 3,9	19
3,9 - 4,2	11
4,2 - 4,5	5
Mais 4,5	4

Expressos graficamente como:

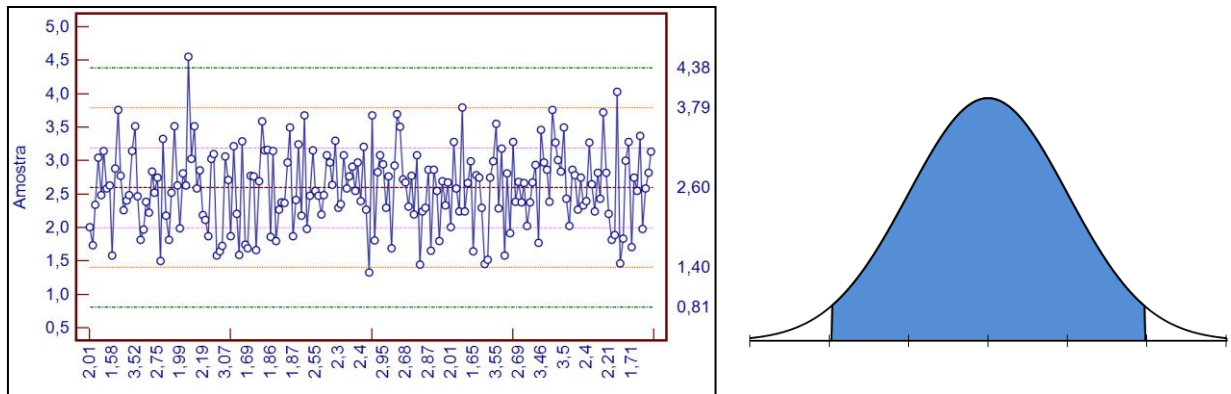


Figura 2 – Distribuição dos valores de FT3

Tabela 9 – Análise dos resultados dos valores de FT3

Distribuição Normal (Interior)	Probabilidade = 0,9509	
	Media	2,6631
	Desvio-padrão	0,6023
	Valor de X à esquerda =	1,48
	Valor de X à direita =	3,85

95% Intervalo de Referência

Método baseado na Distribuição Normal	
Limite Inferior	1,5784
90% CI	1,5039 to 1,6566
Limite Superior	4,0379
90% CI	3,8473 to 4,2379

Analisando os resultados, é possível visualizar uma distribuição normal nos valores das determinações de FT3, mas com um desvio na curva para a esquerda, o que evidencia a desadequação do intervalo de referência à população em estudo.

Tendo em conta a grandeza da correcção, o passo seguinte será o de fazer o levantamento dos medicamentos prescritos aos utentes, de forma a tentar perceber se haverá algum possível responsável por esta redução da fracção livre da referida hormona.

4.2.2. Valência de Hematologia

A Valência de Hematologia comporta duas áreas distintas: Citologia e Hemostase.

As amostras são, maioritariamente, colhidas com anticoagulante que, para cada caso, deve ser o mais adequado.

O hemograma continua a estar na primeira linha dos exames de rotina. É essencial para o diagnóstico das doenças hematológicas, através da análise quantitativa e qualitativa dos elementos das três séries hematopoiéticas e também permite a avaliação das repercussões hematológicas de muitas outras patologias e sua evolução sob efeitos terapêuticos.

Para uma boa avaliação da morfologia celular, os esfregaços de sangue periférico executam-se, preferencialmente, no acto da colheita e directamente a partir da amostra de sangue sem anticoagulante. Depois são pré-seleccionados, para serem corados por MGG, todos aqueles que corresponderem às amostras que apresentem alterações celulares quantitativas e / ou levem à emissão de “alarmes”, pelo contador que se utiliza na UPC e que, para a contagem diferencial de leucócitos, discrimina as cinco subpopulações normais. A última escolha pertence aos Patologistas Clínicos que solicitam os que entenderem observar.

A hemostase é um processo complexo que depende da interacção dinâmica entre os factores da parede vascular, plaquetas circulantes e proteínas plasmáticas.

As provas de coagulação que se realizam têm em vista não só o diagnóstico de doenças hemorrágicas e trombóticas, mas também o evidenciar da influência que outras patologias e suas terapêuticas têm sobre a hemostase.

É de salientar a importância que o laboratório tem no controlo e monitorização dos doentes com terapêutica anticoagulante em curso. Portanto, perante uma alteração aos valores de referência exige-se: a consulta da requisição para saber da existência ou não de alguma medicação, referida como informação clínica ou inquirida por quem tiver atendido o utente; pedido de informação sobre a dificuldade que possa ter existido no acto de colheita e a inspecção do tubo no que respeita à proporção relativa de sangue/anticoagulante e à eventual presença de coágulos observáveis.

O Controlo da Qualidade Interno, executado diariamente, é inscrito numa base de dados para tratamento estatístico e obtenção das cartas de Levey-Jennings.

Foram executadas as determinações que constam na tabela 10.

Tabela 10 - Análises realizadas na secção de Hematologia

PARÂMETRO	PRODUTO BIOLÓGICO	MÉTODO
CONTAGENS CELULARES		
<i>Eritrograma</i>	Sangue total	Impedância / VCS
<i>Leucograma</i>	Sangue total	Impedância / VCS
<i>Reticulócitos</i>	Sangue total	Microscopia óptica (Coloração supra-vital)
ESTUDO DA COAGULAÇÃO		
<i>Tempo de Hemorragia</i>	Sangue total	Ivy
<i>Contagem de Plaquetas</i>	Sangue total	Impedância / VCS
<i>Tempo de Protrombina</i>	Plasma	Óptico
<i>Tempo de Tromboplastina Parcial Activada</i>	Plasma	Óptico
<i>Fibrinogénio</i>	Plasma	Óptico
OUTROS		
<i>Velocidade de Sedimentação</i>	Sangue total	Microfotometria capilar
<i>Pesquisa de Células Falciformes</i>	Sangue total	Redução com metabissulfito
<i>Despiste de Hemoglobinas Anormais</i>	Sangue total	Cromatografia líquida de alta pressão
<i>Pesquisa de Hematozoário</i>	Sangue total	Microscopia óptica (Gota espessa)

4.2.3. Valência de Imunologia

Nesta Valência a maior parte dos pedidos destinam-se a estabelecer a etiologia de uma hepatite aguda ou crónica e o seu estado evolutivo, detectar portadores assintomáticos de hepatite B ou C e determinar o estado de imunidade prévio à vacinação de grupos de risco.

Se se obtiver positividade para anticorpos anti-HIV1 e HIV2 no enzimoimunoensaio ELFA, executa-se um outro, EIA em fase sólida, para detectar qual o vírus responsável pela positividade e mesmo assim recomenda-se teste confirmatório pelo método Western Blot. Todos os casos positivos são registados, bem como o método em que essa positividade se obteve, com o objectivo de no futuro se obviar à duplicação dos testes confirmatórios.

A prática diária revelou que é relativamente frequente observarem-se utentes infectados com mais do que um vírus.

O doseamento de marcadores tumorais revela-se importante no auxílio ao diagnóstico de neoplasias e também na monitorização, avaliação terapêutica e revelação precoce de recidivas nos doentes do foro oncológico.

No Controlo da Qualidade Interno usam-se soros controlo, normal e patológico (nos testes quantitativos) e negativo e positivo (nos testes qualitativos).

Foram executadas as determinações dos parâmetros que constam na tabela 11.

Tabela 11 - Análises realizadas na secção de Imunologia

PARÂMETRO	PRODUTO BIOLÓGICO	MÉTODO
MARCADORES TUMORAIS		
<i>Antigénio Carcino-Embrionário</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Antigénio Específico da Próstata Total e Livre</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Antigénio Ca 125</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Antigénio Ca 19-9</i>	Soro	Enzimoimunoensaio

AGENTES VIRAIS E INFECCIOSOS		
<i>Anticorpo Anti- Rubéola IgM</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti- Rubéola IgG</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti Toxoplasmose IgM</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Toxoplasmose IgG</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Citomegalovirus Igm</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Citomegalovirus IgG</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Hbs</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Hbe</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-Hbc Total</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Antigénio Hbs</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Antigénio Hbe</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-HIV 1 E 2</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-HIV 1 E 2</i>	Soro	Enzimoimunoensaio , em fase sólida
<i>Pesquisa do Antigénio P24 do HIV 1</i>	Soro	Enzimoimunoensaio
<i>Anticorpo Anti-HVC</i>	Soro	Enzimoimunoensaio , em fase sólida
<i>Pesquisa De Anticorpos Anti-Estreptolisina O</i>	Soro	Aglutinação em lâmina
<i>RPR Carvão</i>	Soro	Floculação com visualização macroscópica
<i>Reacção de Widal</i>	Soro	Aglutinação em lâmina
<i>Reacção de Hudlesson</i>	Soro	Aglutinação em lâmina
AUTO-IMUNIDADE		
<i>Anticorpos Anti-Tiroideus</i>	Soro	Quimioluminescência
<i>RA Teste</i>	Soro	Aglutinação em lâmina
<i>Reacção de Waaler-Rose</i>	Soro	Hemaglutinação
IMUNOHEMATOLOGIA		
<i>Sistema ABO (Fenotipagem)</i>	Sangue total	Aglutinação em lâmina
<i>Sistema Rh (Fenotipagem)</i>	Sangue total	Aglutinação em lâmina

4.3. Fase pós-analítica

No caso da UPC do CHPL, a validação bio-patológica final é médica e consiste na verificação da verosimilhança e coerência do conjunto dos resultados das análises efectuadas a cada utente, tendo em conta o seu estado clínico, os tratamentos a que está ou esteve submetido e os resultados anteriores.

Esta validação médica faz-se sobre uma validação técnica que deverá ter cumprido com todos os pressupostos estabelecidos e que se destinam a garantir que os resultados são obtidos nas melhores condições técnicas.

É muito importante o raciocínio desenvolvido sobre cada uma das situações em análise, bem como a experiência acumulada por estes profissionais ao longo dos anos de exercício das suas funções, para perceberem a inverosimilhança de algumas situações e a urgência do diálogo com o médico assistente do utente, sempre que se deparem com resultados que põem em jogo um prognóstico vital.

É frequente a aposição de reparos e sugestões, especialmente nas análises microbiológicas.

No caso da UPC do CHPL, todos os relatórios originais de resultados de amostras enviadas ao Laboratório com que há acordo de colaboração, são agrafados e seguem conjuntamente com os nela efectuados.

A possibilidade de haver a consulta de resultados on-line, faz com que seja prática corrente a validação parcial dos resultados à medida que vão ficando disponíveis.

A garantia de qualidade nesta fase relaciona-se com a emissão correcta e atempada dos boletins de resultados e sua interpretação.

Todo o pessoal da UPC, incluindo estagiários, está informado sobre o dever de confidencialidade no que respeita aos resultados nominativos das análises.

5. POLÍTICA ASSISTENCIAL DA UPC

É notório que, não pondo em causa o princípio de que a requisição de análises é um acto médico da inteira responsabilidade de cada médico prescriptor, a UPC tende a racionalizar os pedidos, muitas vezes excessivos e desnecessários, e a estabelecer acordos com os Clínicos do CHPL.

Com esse objectivo, foram anteriormente criados perfis básicos para doentes internados pelo Serviço de Urgência do HCC e que daí não trouxessem análises. A instituição de uma abordagem padronizada a esses doentes, pretende evitar recorrentes duplicações de pedidos, e regular as análises a executar de acordo com o histórico já existente e consultável em caso de reinternamento.

Em articulação com a Farmácia Hospitalar e para facilitar a prática dos Clínicos, foi também atribuída à UPC a responsabilidade de convocar os doentes em início de administração de Clozapina, um antipsicótico de recurso nas esquizofrenias severas. Nestes casos, o hemograma tem de ser executado 10 dias antes do início do tratamento, para estabelecer os valores basais individuais, e depois semanalmente durante 18 semanas, porque é durante este período que há maior probabilidade de surgirem reacções adversas, e posteriormente a intervalos de 1 mês, enquanto durar a medicação, e ainda 1 mês depois de suspenso o fármaco. As avaliações mensais devem abranger a função hepática e renal.

Esta prática mostrou-se útil e é desejável que seja aplicada por todos os clínicos do CHPL, para obviar a situações como a do seguinte caso clínico, vivenciado durante o estágio, em que a agranulocitose se manifestou como reacção idiossincrática à Clozapina, durante o período de um mês em que não houve vigilância hematológica. Neste caso não havia associações com outros medicamentos que pudessem aumentar o risco de aparecimento de tal complicação.

Caso clínico:

MEDV, sexo feminino, 79 anos de idade, Caucasiana, internada pela Urgência do HCC, com o diagnóstico de perturbação psico-afectiva.

Antecedentes pessoais – um internamento há 20 anos no HJM.

Antecedentes familiares – um filho com esquizofrenia.

Tabela 12 – Evolução dos parâmetros hematológicos avaliados na terapêutica com Clozapina

Internamento	Datas	Terapêutica com Clozapina (dose única ao deitar)	Contagem de Leucócitos / mm ³	Contagem de Granulócitos Neutrófilos / mm ³
Serviço de Psico-Geriartria	27.04.2010			
	08.05.2010	Inicia 50 mg		
	13.05.2010	Aumenta para 150 mg	7.000	5.558
	14.05.2010	Volta a 50 mg		
	15.05.2010	Passa e mantém 100 mg		
	22.05.2010		6.000	4.008
	26.05.2010		6.700	4.127
	30.06.2010		1.400	148

Conforme há perfis analíticos para vigiar a instalação e a manutenção da terapêutica com Clozapina, também a administração de outros fármacos deve ser monitorizada não só para estabelecer a dose mínima eficaz, como para despistar o aparecimento de efeitos adversos.

Tomando como exemplo 3 dos fármacos mais utilizados: Carbamazepina, Ácido Valpróico e Lítio, a intervenção do Laboratório, para além dos seus doseamentos, deve ser a de executar:

Tabela 13 – Parâmetros a analisar na administração de Carbamazepina, Ácido Valpróico e Lítio

FÁRMACO ADMINISTRADO	PARÂMETROS A EXECUTAR
Carbamazepina	Hemograma com plaquetas */** Função hepática (ALT e GGT) ** Função renal (Creatinina) ** Colesterol HDL Função tireóideia (FT4 e TSH)
Ácido Valpróico	Hemograma com plaquetas Amilase Diagnóstico Imunológico de Gravidez (DIG) Função hepática (ALT e GGT) ***
Lítio	Hemograma Creatinina Ácido úrico Glicose Função tireóideia (FT4 e TSH) **** Balanço electrolítico Diagnóstico Imunológico de Gravidez Paratormona

* - A cada 2 semanas nos 2 primeiros meses e depois aos 3, 6, 9 e 12 meses

** - Mensal até aos 6 meses

*** - Repetir ao mês:

- a) Vigiar a cada 1 ou 2 semanas se o valor da actividade das transaminases < ao triplo do seu valor de referência;
- b) Depois conferir a intervalos de 1 mês ou de cada 3 meses, se o valor estabilizar

**** - A cada 6 – 12 meses

6. CONCLUSÕES

As análises clínicas assumem um lugar fundamental na Medicina Moderna, constituindo um meio complementar de diagnóstico essencial para todas as especialidades médicas.

Para o ser efectivamente, é indispensável que todos os profissionais assumam uma postura activa e sobretudo crítica na manutenção, acompanhamento e controlo de todo o processo que culmina com a obtenção de resultados.

As respostas às solicitações efectuadas à UPC devem ser precisas, exactas e reais, uma vez que a obtenção de um resultado errado, pode induzir medidas inapropriadas e causar danos irreversíveis na vida de um indivíduo.

Se a credibilidade de resultados pode ser sustentada nos processos internos e externos de Controlo de Qualidade, com monitorização permanente de parâmetros mensuráveis, existem variáveis cujo controlo é difícil e em muitos casos dependem da consciência e competência de cada um.

É importante fomentar a inovação e a melhoria contínua de todos, procurando a permanente actualização de conhecimentos e a aquisição de potencial técnico-científico que permita acompanhar a constante evolução e inerente automatização e informatização dos processos analíticos.

Este MAC foi principalmente isso, a possibilidade de aquisição de novos conhecimentos e consolidação de conceitos outrora adquiridos.

O estágio, por sua vez, permitiu fazer a ponte entre a teoria e a prática, entre os saberes teóricos e a sua aplicação. Porém, o contacto com a realidade laboratorial foi mais que isso. Existem pormenores práticos que não são referenciados na literatura, mas que podem fazer toda a diferença. A título de exemplo, a simples colocação do recipiente do lixo à direita ou à esquerda na bancada, pode ser importante para diminuir o risco de contaminações e aumentar a protecção do operador e do ambiente de trabalho no processamento de amostras. A concepção e organização dos locais, sistemas de trabalho e métodos adoptados podem reduzir os riscos inerentes ao contacto com amostras biológicas potencialmente perigosas, mas também, diminuir consideravelmente os erros por confusão ou falta de atenção. Por outro lado, a implementação de um

esquema/método de trabalho bem concebido e com aplicação criteriosa permite rentabilizar recursos/tempo.

Este estágio permitiu sobretudo uma maior consciencialização para os critérios de repetição de resultados dando relevância ao enquadramento dos mesmos como um todo e tendo em conta a possibilidade de um diagnóstico e a informação clínica disponibilizada pelo médico prescriptor.

A necessidade de trabalho em equipa assume também grande relevância. Um método de trabalho bem predefinido, das diferentes pessoas que intervêm no processamento de uma mesma amostra, permite rentabilizar o esforço de cada um contribuindo para a obtenção de resultados rápidos, fiáveis e em tempo útil.

Há quem imagine que um laboratório de qualidade é aquele que faz os exames “bem-feitos”, mas isso não é qualidade, é obrigação. A qualidade deve ser apoiada em três pontos fundamentais: recursos humanos, infra-estruturas e recursos tecnológicos. As boas práticas em Análises Clínicas são importantes para identificar, reduzir e/ou eliminar as potenciais fontes de erro no diagnóstico laboratorial. É importante o desempenho de funções de forma correcta, racional e adequada na procura de resultados que reflectam a variabilidade biológica de cada indivíduo.

Concluído o tempo de estágio, e apesar dos objectivos terem sido atingidos, o tempo foi insuficiente, muita coisa ficou e ficará sempre por saber, no entanto, o mais importante será sempre cultivar uma ideia de insatisfação constante com o nível atingido, estabelecendo sempre novas metas e nunca relaxar ou desistir na busca incessante da qualidade e do conhecimento que permitam uma maior satisfação a nível pessoal e profissional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ✦ Burtis CA, Ashwood R. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5th ed. WB Saunders Company, 2000.
- ✦ Kasper DL, Braunwald E, Hauser S, Longo D, Jameson JL, Fauci AS. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th Ed. McGraw-Hill, 2006.
- ✦ South-Paul JE, Matheny SC, Lewis EL. Current Diagnosis & Treatment in Family Medicine. New York: McGraw Hill, 2004.
- ✦ Burmester GR, Pezzutto A. Imunologia – Texto e Atlas. Lidel, 2005.
- ✦ Turgeon ML. Linne & Ringsrud Clinical Laboratory Science: The basic and routine techniques. 5th Ed. Mosby, Elsevier, 2007.
- ✦ Bulas das Técnicas e Manuais dos Equipamentos.

**A IMPORTÂNCIA DO DIAGNÓSTICO
PRECOCE DE
HEMOGLOBINOPATIAS**

RESUMO

As hemoglobinopatias são um grupo de doenças em que a molécula de hemoglobina é afectada e que se transmitem de forma autossómica recessiva, sendo responsáveis, nos estados homozigóticos, por anemias crónicas severas. As talassémias e a drepanocitose estão entre as doenças monogénicas mundialmente mais frequentes. Inicialmente descritas nas regiões tropicais e subtropicais, são agora comuns em todo o mundo devido ao fenómeno da migração. Um levantamento epidemiológico global de hemoglobinopatias foi feito e publicado, em 2008, pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Os dados recolhidos em 229 países, mostram claramente que as hemoglobinopatias constituem um importante problema de saúde pública em 71% desses países, que abrangem 89% de todos os nascimentos mundiais. A prevalência de portadores de hemoglobinopatias a nível mundial é de cerca de 5-7% e o número de novos casos de crianças afectadas está estimado em 300 000 por ano. Entre elas, 60 000 nascem com β -talassémia major, por ano, e das restantes 199 200 com drepanocitose. Apesar de tratáveis, as hemoglobinopatias não podem ser "curadas" a menos que um transplante de medula óssea seja realizado com sucesso. Portugal é um país Mediterrânico, com elevado nível de imigração proveniente de África e, na actualidade, do Brasil, da Ásia e da Europa de Leste. Isto justifica a importância do diagnóstico precoce e de programas de prevenção com sensibilização e informação sobre a doença, rastreio da população e aconselhamento genético para portadores, bem como diagnóstico pré-natal para casais com um filho afectado.^{1,2}

Palavras-chave: Anemia hereditária; hemoglobinopatia; talassemia; drepanocitose; diagnóstico.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are a group of inherited autosomal recessive hemoglobin disorders, resulting in the homozygous state, in chronic severe anemias. Thalassemias and sickle cell diseases constitute the most frequent monogenic hemoglobin disorders worldwide. Initially described in the tropical and subtropical regions, they are now common all around the world because of migration. A global epidemiological database for hemoglobin disorders has been established and published in 2008 by the World Health Organization (WHO). The data, collected in 229 countries, clearly indicated that hemoglobinopathies constitute a significant health problem in 71% of those countries which include 89% of all births worldwide. The prevalence of carriers of hemoglobinopathies is within the range of 5-7% in the world and the number of new cases of affected infants is estimated at 300 000 per year. Among them, 60 000 are born with β -thalassemia major annually, the remaining 199 200 with sickle cell disease. Although treatable the hemoglobinopathies cannot be “cured” unless a bone marrow transplant is successfully performed. Portugal is a Mediterranean country with high level of immigration from Africa and, nowadays, from Brazil, Asia and Eastern Europe. This justifies the importance of early diagnosis, and prevention programs with awareness-raising and information about the disease, population screening and genetic counselling for carriers, and prenatal diagnosis, for couples with affected children.^{1,2}

Keywords: Hereditary anaemia; hemoglobinopathies; thalassemias; sickle cell disease; diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias são um grupo de patologias hereditárias associadas à síntese da hemoglobina (Hb). Dividem-se genericamente em dois grupos: as variantes estruturais da Hb, resultantes de defeitos qualitativos que determinam a produção de cadeias polipeptídicas anormais; e as talassémias, que são caracterizadas pela supressão parcial ou total da síntese de uma ou mais cadeias de globina. Ainda que com menor frequência, estes dois fenótipos podem também ocorrer em associação.^{3,4}

As variantes estruturais da Hb, na sua maioria, resultam da substituição de um único aminoácido nas cadeias α - ou β - e geralmente não causam alterações perceptíveis, mas podem modificar a estabilidade ou a funcionalidade da Hb, em especial no que respeita à sua afinidade para o O₂.³

As hemoglobinopatias em que se incluem as α - e β -talassémias, constituem um grupo nosológico muito heterogêneo, com mais de 250 alelos mutantes já descritos, o que faz com que sejam, não só as doenças monogénicas mais disseminadas e numericamente importantes no Mundo, mas também as mais estudadas e cujas alterações genéticas são melhor conhecidas.⁵

Possuem, maioritariamente, uma transmissão autossómica recessiva e estima-se que, aproximadamente, 5-7% da população mundial seja portadora dos diferentes distúrbios da Hb. Os portadores de uma mutação (heterozigotos) não são doentes, no entanto, quando se cruzam entre si, têm 25% de probabilidade de gerar filhos com as duas mutações (homozigotos), que são geralmente doentes com um quadro clínico grave.^{1,6,7}

A sua distribuição nas diferentes populações é muito variável, atingindo incidências mais elevadas nas de origem mediterrânica, africana e oriental. Portugal apresenta uma frequência moderada de portadores com uma distribuição geográfica heterogênea. A maior incidência verifica-se no Centro e no Sul do País, havendo distritos onde a prevalência é superior a 2%.⁸

Este trabalho pretende alertar para a necessidade de se proceder á caracterização nacional desta patologia e para uma efectiva aplicação da legislação em vigor que recomenda a detecção e a informação precoce, preferencialmente pré-concepcional, dos portadores; a identificação e o aconselhamento genético dos casais em risco; e, quando necessário, a oferta de diagnóstico pré-natal.⁷

Neste contexto, é fundamental a sensibilização e consciencialização não só das populações de risco, mas também da sociedade em geral e dos profissionais de saúde, sejam eles prestadores dos cuidados de saúde primários, como os Médicos de Família e de Planeamento Familiar, ou especialistas em Procriação Medicamente Assistida, Ginecologia/Obstetrícia e Pediatria.

As hemoglobinopatias não têm cura, mas podem ser controladas. A alta prevalência destas patologias, associada à gravidade das manifestações clínicas dos doentes, faz delas um importante problema de Saúde Pública. O diagnóstico precoce, associado a um tratamento adequado, pode contribuir para uma redução significativa na morbilidade e mortalidade dos indivíduos afectados.

2. MÉTODOS

Nesta monografia procedeu-se a uma análise documental baseada na pesquisa bibliográfica. Assim, analisaram-se documentos e artigos de revistas científicas sobre o tema na sua globalidade de forma a identificar e sistematizar os principais conceitos e definições do assunto em questão. Para tal, utilizaram-se palavras-chave como: *“hemoglobinopathies”*; *“thalassemias”*; *“sickle cell disease”*; *“diagnosis hereditary anaemia”*; *“early diagnosis of hemoglobinopathies”*; *“hemoglobinopathies screening”*; *“Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies”*; *“therapy of hemoglobinopathies”*.

Esta pesquisa foi realizada, sobretudo a nível internacional, através de base de dados electrónicas reconhecidas, como o PubMed, a B-On, o National Center for Biotechnology Information ou o Google Scholar, e de publicações especializadas. Foram também consultadas as páginas oficiais de organizações nacionais e internacionais, como o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), a Direcção-Geral da Saúde (DGS) e a OMS. Foram, ainda, consultados livros da biblioteca da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa. Não foi imposta qualquer restrição relativamente à data de publicação.

Após avaliação dos títulos, palavras-chave e resumos, foram incluídos na revisão todos os artigos que fizessem referência às hemoglobinopatias. A partir desses artigos, foram seleccionados e incluídos outros, citados e referenciados nas respectivas bibliografias.

Com base na pesquisa bibliográfica, elaborou-se o referencial teórico da monografia e identificou-se a realidade de diferentes países, em diferentes continentes, relativamente à problemática das hemoglobinopatias, tendo sido atribuída especial atenção a Portugal. Na tentativa de melhor caracterizar a situação do país foram contactados: clínicos de saúde familiar, a exercerem as suas funções no âmbito do planeamento familiar; profissionais do Centro de Genética Médica Jacinto de Magalhães (CGMJM-Porto) responsáveis pelo programa de diagnóstico neonatal; profissionais do INSA com actividade no âmbito do diagnóstico de hemoglobinopatias e a Associação Portuguesa de Pais e Doentes com Hemoglobinopatias (APPDH).

3. HEMOGLOBINOPATIAS

Designam-se genericamente, por hemoglobinopatias, as doenças que afectam a molécula de Hb.⁹

São doenças hereditárias que resultam de mutações genéticas em um, ou mais, dos genes responsáveis pela síntese da Hb e fazem-no de uma forma qualitativa ou quantitativa.⁴

- Nas hemoglobinopatias qualitativas verifica-se uma alteração na sequência dos aminoácidos das cadeias globínicas, que vai alterar tanto a estrutura, como a função, da molécula de Hb sintetizada.
- Nas hemoglobinopatias quantitativas apenas há uma redução na síntese da Hb e, portanto, uma diminuição no teor de Hb que se expressa por uma anemia e leva o organismo a produzir outras hemoglobinas (Hbs), que não sendo afectadas pela mutação, vão tentar compensar o estado de anemia.⁴

Mais de 1 000 variantes estruturais de Hb foram já descritas. Cerca de 1 a 2% da população mundial é composta por heterozigotos da HbS e 3% de heterozigotos da β -talassémia. Para além destas duas, as que têm maior relevância clínica são a HbC, HbE, HbD-Punjab e HbO-Arab.^{10,11}

Existem, também, formas raras que resultam da produção de cadeias globínicas híbridas, cadeias alongadas devido a inserções ou mutações que alteram o quadro de leitura, cadeias encurtadas devido a codões de terminação precoce e cadeias com dupla substituição de aminoácidos.¹²

3.1. Estrutura da Hemoglobina

A Hb é o principal constituinte proteico dos eritrócitos. Tem como funções o transporte de oxigénio (O_2) dos pulmões para os tecidos e o transporte do dióxido de carbono (CO_2) e dos prótons (H^+) no sentido inverso.¹³

É uma proteína formada por quatro monómeros, unidos entre si por ligações não covalentes, numa estrutura quaternária.¹⁴

Cada monómero é constituído por uma fracção proteica - a globina e por um grupo prostético - o heme - que é um anel tetrapirrólico com um Fe^{2+} central, ligado aos quatro átomos de azoto de cada molécula de pirrol e à histidina proximal da cadeia polipeptídica respectiva.^{14,15,16}

Estruturalmente, é uma proteína globular, formada por quatro subunidades, compostas por dois pares de cadeias globínicas, polipeptídicas, sendo um par denominado de cadeias do tipo α e o outro par de cadeias do tipo não- α , formadas por 141 e 146 aminoácidos, respectivamente. A descrição da sua estrutura tridimensional deu ao Dr. Max Perutz, o prémio Nobel da Química, em 1962 (Figura 3).^{14,15,16}

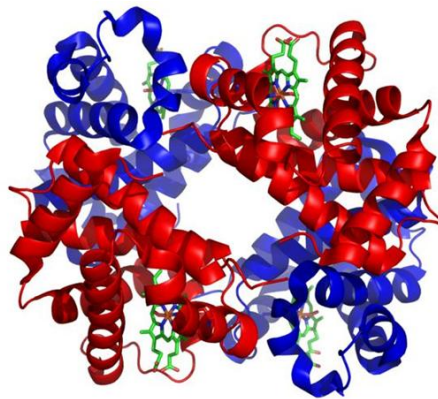


Figura 3- Estrutura da hemoglobina. Vermelho e azul: subunidades proteicas; Verde: grupos heme¹⁷

As combinações entre as diversas cadeias de proteínas dão origem às diferentes Hbs presentes nos eritrócitos, que vão sendo produzidas ao longo das diversas etapas do desenvolvimento humano, desde o período embrionário até à fase adulta.¹⁸

Desoxi-Hb é o termo usado para designar a Hb quando não está ligada ao oxigénio e Oxi-Hb quando se encontra ligada ao O_2 , com o ferro bivalente.¹⁴

A ligação estabelecida entre a molécula de Hb e o O_2 , condiciona alterações na conformação proteica, à custa das ligações entre os monómeros assimétricos. Como consequência, as duas formas de Hb apresentam estruturas cristalinas e espectros de absorção diferentes.¹⁴

A função da globina na molécula de Hb não é somente estrutural ou de modulação da afinidade do heme para o O₂, mas também a de tornar possível a reversibilidade da ligação entre o ferro e o O₂. O átomo de Fe²⁺, por si só, é incapaz de se ligar reversivelmente ao O₂, porque se auto-oxida. Por isso a globina tem uma conformação tal que o heme fica envolvido por uma bolsa hidrofóbica, que evita a sua oxidação.

Cada molécula de Hb transporta quatro moléculas de O₂.^{14,16}

3.2. Estrutura dos genes de globina

Os genes funcionais das globinas têm a mesma estrutura geral.

Apresentam-se divididos em três regiões codificantes – os exões – e duas regiões não codificantes, denominadas intrões ou *intervening sequence* – IVS constituídas por sequências não traduzidas que separam os exões. O desenvolvimento específico da expressão de cada gene é determinado por interações entre os seus promotores e as respectivas regiões de regulação.¹⁹

O homem possui 8 genes de globina funcionais:

- Três deles, o ξ , o α -1 e o α -2 estão localizados na região telomérica do braço curto do cromossoma 16 (16p13.3) e constituem o agrupamento génico da α -globina que codifica para as cadeias globínicas do tipo alfa.
- Os cinco restantes, o ϵ , os γ e δ , o β , estão localizados no braço curto do cromossoma 11 (11p15.5) e constituem o agrupamento génico da β -globina, que codifica para as cadeias globínicas do tipo beta.^{4,19}

Estes genes estão dispostos na mesma sequência da sua activação temporal. (Figura 4)

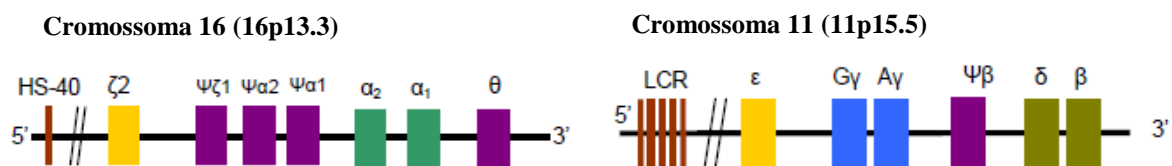


Figura 4 - Esquema representativo dos agrupamentos génicos da α - e da β -globina. Adaptado da Ref.^a 20

3.3. As hemoglobinas ao longo da ontogenia

As primeiras células que contêm Hb são produzidas no saco vitelino, só mais tarde são activadas as eritropoieses hepática e esplénica, e, por último, a medular. Em cada um destes órgãos, verifica-se a produção preferencial de um tipo de globina.¹⁴

Ao longo do desenvolvimento embrionário, fetal, pós parto e vida adulta, a estrutura da Hb vai variando de acordo com as globinas que a constituem. Isto verifica-se devido à activação e inactivação sequenciada, dos genes que codificam para essas cadeias de globinas.¹⁹

No período embrionário os genes activos presentes nos eritroblastos, localizados no saco vitelino, promovem a produção da globina ξ , que, combinada com a globina ϵ , forma a hemoglobina Gower 1 ($\xi_2\epsilon_2$). Esta mesma globina ξ , combinada com a globina γ , forma a Hb Portland ($\xi_2\gamma_2$). Quando se inicia a produção das globinas α , estas combinam-se com a globina ϵ e formam a hemoglobina Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$).^{4,16,19}

A produção das Hbs embrionárias ocorre durante um período de até três meses após o início da gestação.⁴

O local seguinte de transcrição dos genes de globina é o fígado fetal. A HbF ($\alpha_2\gamma_2$) aí produzida é preponderante durante grande parte da vida intra-uterina devido ao incremento de produção e combinação das globinas α e γ , após a cessação da produção das globinas ξ e ϵ . Às 34-36 semanas de gestação, a Hb F representa 90-95% de toda a Hb do feto e, por altura do parto, apresenta valores de 53-95% contra os 20-30% de HbA. Mantém-se sem alteração durante as duas primeiras semanas de vida e, a partir daí, diminui cerca de 3% em cada semana para atingir os níveis normais ao 6º mês de vida.²¹

O último e definitivo local de transcrição dos genes da globina é a medula óssea.¹⁴

Após o nascimento, começa a ser sintetizada a globina β , que, conjuntamente com a α vai dar origem à HbA ($\alpha_2\beta_2$), a também designada hemoglobina do adulto, que já é a Hb predominante aos 3 meses de idade. Durante 6 a 7 meses, após o nascimento, a síntese das globinas γ vai, pois, progressivamente diminuindo, embora continuem a ser sintetizadas ao longo da vida.⁴

A produção de globinas δ , que, quando ligadas às globinas α , dão origem à HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$), tem o seu início por volta da 25ª semana da gestação, a níveis reduzidos, e assim permanece até ao nascimento. Nessa altura a sua produção vai aumentando lentamente, estabilizando-se por volta do sexto mês de vida.¹⁸

Em resumo e conforme Figura 5:

Tabela 14 – Composição da Hb ao longo da ontogenia¹⁸

Tipo de Hemoglobina	Período de síntese	Cadeias globínicas
Gower - 1	Embrião até 3º mês de gestação	$\zeta_2\varepsilon_2$
Portland	Embrião até 3º mês de gestação	$\zeta_2\gamma_2$
Gower - 2	Embrião até 3º mês de gestação	$\alpha_2\varepsilon_2$
Hb Fetal	Feto até 6º mês de vida	$\alpha_2\gamma_2$
Hb A ₂	Feto / Vida adulta	$\alpha_2\delta_2$
Hb A	Vida adulta	$\alpha_2\beta_2$

A existência de um tipo diferente de Hb no feto está relacionada com o facto do sangue fetal ser oxigenado a partir do sangue materno. A HbF apresenta uma grande afinidade para o O₂, o que permite que este seja transferido da circulação materna, em que a pressão do O₂ é baixa, para a circulação fetal através da placenta.¹⁴

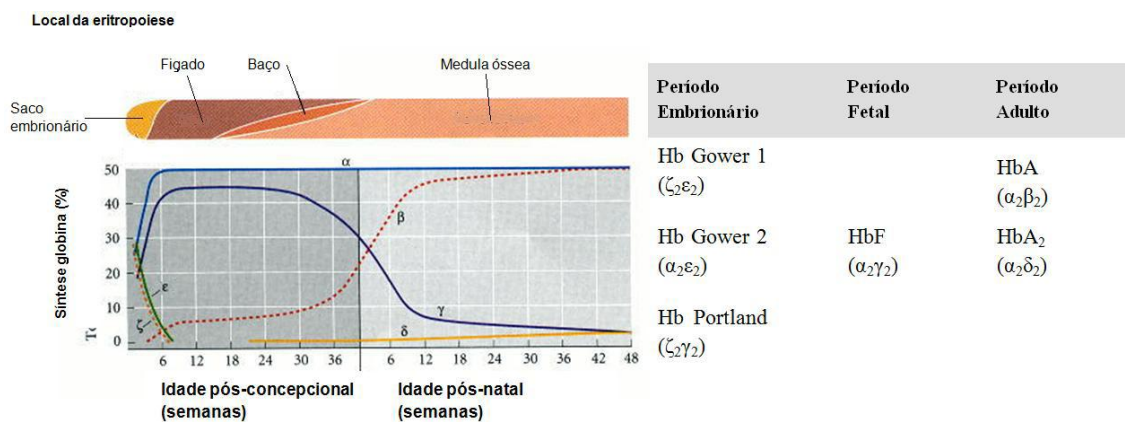


Figura 5 - Representação esquemática da síntese das cadeias de globina durante o desenvolvimento, assim como dos órgãos onde ocorre a hematopoiese.

Assim, seis meses após o nascimento e durante toda a vida adulta, a distribuição das Hbs normais deve ser de cerca de 95% de HbA, <3,5 % de Hb A2 e <1% a 2% de HbF.⁴

3.4. Mutações nos genes da α - e da β -globina

Todo o processo atrás descrito pode ser perturbado por diversos tipos de mutações genéticas que vão desde a simples substituição de um ou dois aminoácidos da cadeia de globina, dando origem às variantes de Hbs mais comuns, até às extensões de cadeias e fusão de genes, que são as mutações menos frequentes, passando pelas deleções ou inserções de um ou mais nucleótidos que estão na base das hemoglobinopatias quantitativas.^{4,22}

As alterações nos genes das cadeias α manifestam-se logo no período fetal, enquanto que as alterações nos genes das cadeias β se manifestam apenas após seis meses sobre o nascimento.²³

É possível a co-herança de mutações nos genes das cadeias α e nos das cadeias β . São disso exemplo os doentes que herdaram drepanocitose e β -talassémia, uma de cada progenitor, e expressam uma mistura dos dois quadros clínicos.¹¹

Em Portugal as formas graves mais comuns são a drepanocitose e as β -talassémia major e intermédia, todas com transmissão hereditária autossómica recessiva.⁷

3.5. Modo de transmissão

Refere-se à associação entre o número de mutações genéticas e a gravidade do defeito genético resultante, que varia consoante o gene de Hb envolvido.⁴

Os portadores de uma mutação (heterozigotos) são, de um modo geral, assintomáticos. No entanto quando casam entre si, têm 25% de probabilidade, em cada gravidez, de originar filhos com as duas mutações (homozigotos), que são doentes com um quadro clínico grave e, geralmente, com elevada morbidade e mortalidade.⁷

Para a primeira situação pode usar-se o termo “traço” e para a segunda a designação “doença”.⁴ (Figura 6).

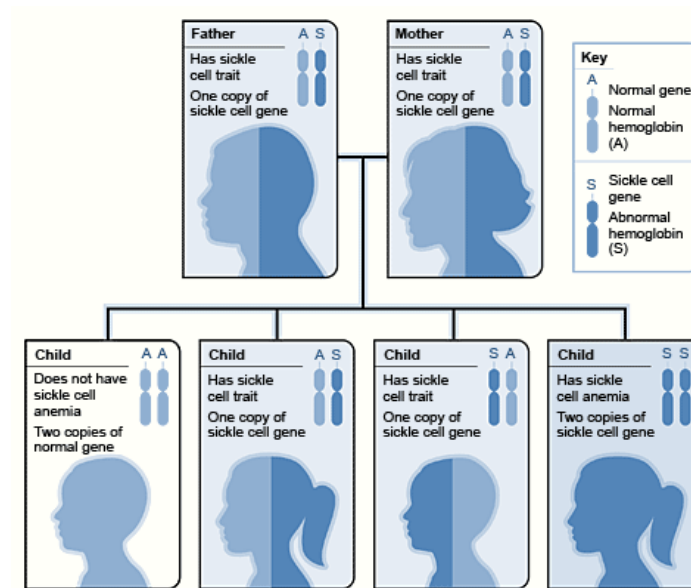


Figura 6 - Transmissão autossômica recessiva de Hemoglobinopatias²⁴

Como num indivíduo normal a informação para a produção de cadeias globínicas é dada por quatro genes α , dois herdados de cada progenitor, e por dois genes β , um de cada progenitor, as mutações num dos genes β terão um maior impacto, uma vez que vão afectar metade das cadeias produzidas.²³

3.6. Fisiopatologia

O impacto que a mutação terá na função das Hbs e portanto, na expressão da doença, vai depender do tipo do aminoácido substituído, do local em que ele se encontra na cadeia de globina e do número de mutações existentes.⁴

Porque as características físico-químicas das Hbs anormais são responsáveis pelas alterações fisiopatológicas, há autores que as dividem em 4 grupos de acordo com a repercussão clínica que promovem: 1. causam anemia hemolítica, como acontece com a HbS e as Hbs instáveis; 2. produzem metahemoglobinémia e cianose, como é o caso da HbM; 3. alteram a afinidade da Hb para o O₂; 4. não causam alteração clínica ou funcional.⁴

3.7. Nomenclatura

A partir do 8º Congresso da Sociedade Internacional de Hematologia (Tóquio-1960) e do Congresso do México (1962) fixaram-se diretrizes sobre a nomenclatura das Hbs, a fim de evitar que, na sequência de sucessivas descobertas de novos tipos, cada autor as denominasse a seu bel-prazer. Assim, deixaram-se ficar as Hbs de A a Q já designadas, não utilizando as letras seguintes, salvo a S.^{15,25,26}

As Hbs descobertas posteriormente passaram a ser denominadas pelo ponto geográfico de origem e, quando a alteração da fórmula da globina já é conhecida, esta deve indicar-se, temos como exemplo a HbG-Filadélfia e a HbG-Copenhaga.^{25,26}

Em alternativa, também se pode recorrer a designações científicas detalhadas, como é o caso da fórmula B₆ (A₃) Glu→Val da HbS que indica que o ácido glutâmico foi substituído pela valina, na hélice A da sexta posição da cadeia β.⁴

4. DREPANOCITOSE

“Anemia de células falciformes”, é o termo usado para descrever um grupo de hemoglobinopatias sintomáticas em que os doentes expressam HbSS, HbAS ou HbS combinada com outras mutações da cadeia β, como é o caso das variantes HbSC e HbS/β-talassémia, que são as mais frequentes.⁴

A doença foi observada pela primeira vez, em 1910, por James B. Herrick, cardiologista de Chicago, num estudante proveniente da Índia Ocidental que apresentava uma anemia severa caracterizada pela presença, no sangue circulante, de eritrócitos em bastonete e falciformes, lembrando um crescente ou uma foice. Assim nasceu a designação de “anemia de células falciformes”, inspirada no aspecto morfológico dos glóbulos vermelhos.^{15,25}

Em 1917, Emmel percebeu que a presença de células falciformes se podia encontrar em pessoas, com e sem anemia.¹⁸

Dez anos depois, Hahn e Gillespie compreenderam e demonstraram, que a falciformação dos eritrócitos ocorria sempre que eram expostos a baixos níveis de O₂ e que esse processo era reversível.^{4,18}

Em 1946, Beet percebeu que os doentes com este tipo de anemia apresentavam uma menor parasitemia nas infecções a *Plasmodium falciparum*, porque esta Hb anormal conferia uma resistência parcial contra o paludismo. No mesmo ano, Sherman suspeitou que a Hb das células falciformes deveria ser molecularmente diferente da Hb normal e comunicou isso a Linus Pauling e colaboradores, que, em 1949, conseguiram mostrar essa diferença por meio da mobilidade electroforética, atribuindo esse fenómeno à mudança de carga eléctrica da globina. Demonstraram a origem genética da doença e a existência de casos de heterozigotia (HbAS) e de homozigotia (HbSS).^{4,27}

Em 1956, Vernon Ingram, utilizando a técnica de *fingerprint* (electroforese bidimensional associada com cromatografia), esclareceu a anomalia química da HbS.²⁸

4.1. Caracterização Genética e Fisiopatologia

A anemia de células falciformes foi a primeira doença monogénica humana a ser caracterizada a nível molecular e, por isso, sabe-se que a substituição pontual da base azotada adenina por timina, no codão 6, do exão 1, do gene da β-globina, determina a substituição do ácido glutâmico pela valina, na sequência dos aminoácidos e define-se pela fórmula estrutural $\alpha_2\beta_2^{6\text{Glu}\rightarrow\text{Val}}$.^{4,29}

Esta mutação genética dá origem à HbS que apresenta propriedades físico-químicas diferentes das Hbs normais. Isto explica-se porque o ácido glutâmico tem carga eléctrica negativa, enquanto a valina é um aminoácido neutro, e da sua substituição resulta a perda de duas cargas negativas por molécula de Hb. Esta alteração reflecte-se na mobilidade electroforética, que se torna mais lenta em comparação com a HbA, e é também responsável por alterações na sua estabilidade e solubilidade. Enquanto na molécula de HbA: 1. os aminoácidos polares externos conferem solubilidade e previnem interacções intermoleculares; 2. os internos são apolares e possibilitam a ligação ao O₂, sem que ocorra oxidação do heme; 3. os tetrâmeros individuais de Hb, dentro dos eritrócitos, não interagem uns com os outros, o que lhes permite a

deformabilidade necessária ao seu percurso ao longo da microcirculação para levarem o O_2 a todos os tecidos do organismo, na HbS a exposição a ambientes de baixa tensão de O_2 acciona uma modificação na sua conformação molecular, porque o aminoácido valina, ao invés do ácido glutâmico, é polar e é exposto à superfície da cadeia β . A valina vai interagir com o receptor fenilalanina (β -85) e leucina (β -88) da molécula de HbS adjacente, e esta interacção de natureza hidrofóbica desencadeia a formação de polímeros que criam uma estrutura multipolimérica rígida e indeformável, no interior da célula, o que lhe confere o aspecto de foice e explica o aumento de viscosidade sanguínea, os processos de oclusão vascular e a hemólise.^{18,29,30}

Grosso modo, a velocidade e a grandeza deste evento dependem essencialmente de 3 variáveis: a tensão de O_2 , a concentração intracelular de HbS e a presença ou ausência de HbF, mas a inflamação, activação endotelial, anomalias da membrana eritrocitária, adesão de leucócitos, activação e agregação plaquetária, activação da coagulação e biodisponibilidade anormal de vários factores vaso-activos desempenham um importante papel nos fenómenos vaso-oclusivos.^{10,18}

Ao que tudo indica, existe um estado de inflamação crónico nestes doentes que leva a que os leucócitos, em número constantemente aumentado, adiram ao endotélio inflamado e interajam com as células falciformadas.¹⁰

Por sua vez o endotélio também não é normal porque as suas células têm expressão aumentada das moléculas de adesão intercelular ICAM-1, das moléculas de adesão vascular VCAM-1 e do factor tecidual, aumento esse induzido pelos elevados níveis plasmáticos de citocinas inflamatórias. Proteínas de adesão como a E-selectina, a P-selectina, a laminina, a fibronectina e a integrina $\alpha V\beta 3$, interagem com receptores de adesão expressos pelos eritrócitos falciformados e pelos leucócitos, promovendo a oclusão vascular.^{10,31}

Outros estudos têm demonstrado que a biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) está reduzida nesta doença, como em outras anemias hemolíticas. O NO é um gás sinalizador, com uma semi-vida de segundos, produzido no endotélio a partir do aminoácido L-arginina pela acção da enzima NO sintetase. A sua principal função é regular a vasodilatação e o tónus muscular sistémico e pulmonar. O NO é, ainda, um importante inibidor da expressão das moléculas de adesão nas células endoteliais e de activação dos leucócitos. Ele é consumido pela oxi-Hb, em reacções que geram

metahemoglobina e nitrato, e pela desoxi-Hb, com produção de Fe-nitrosilhemoglobina. Na drepanocitose, a sua redução parece dever-se ao processo de hemólise intravascular, do maior consumo pelo excesso de espécies reactivas de O₂ geradas no plasma e no endotélio, e pela reacção com a Hb livre no plasma, libertada durante a hemólise. Menor biodisponibilidade de NO resulta em vasoconstrição com aumento de activação plaquetária e de expressão das moléculas de adesão nos leucócitos e nas células endoteliais.¹⁰

A HbS é a variante estrutural mais comum da Hb e transmite-se com um carácter autossómico recessivo.^{4,32}

Conhecem-se centenas de variantes, mas só quatro têm significado clínico: HbSS, HbAS, também designada por traço drepanocítico, HbSC e a HbS/β-talassémia.⁴

4.2. Epidemiologia

A maior incidência do traço drepanocítico ocorre em África e, mais de três quartos, na África Subsariana, com uma frequência que varia entre 20 e 40% e onde a mortalidade é elevada, devido à falta de intervenção terapêutica e profilática. Também se encontra na região Mediterrânica, Médio Oriente, Índia, Caribe e Américas Central e do Sul.^{2,4}

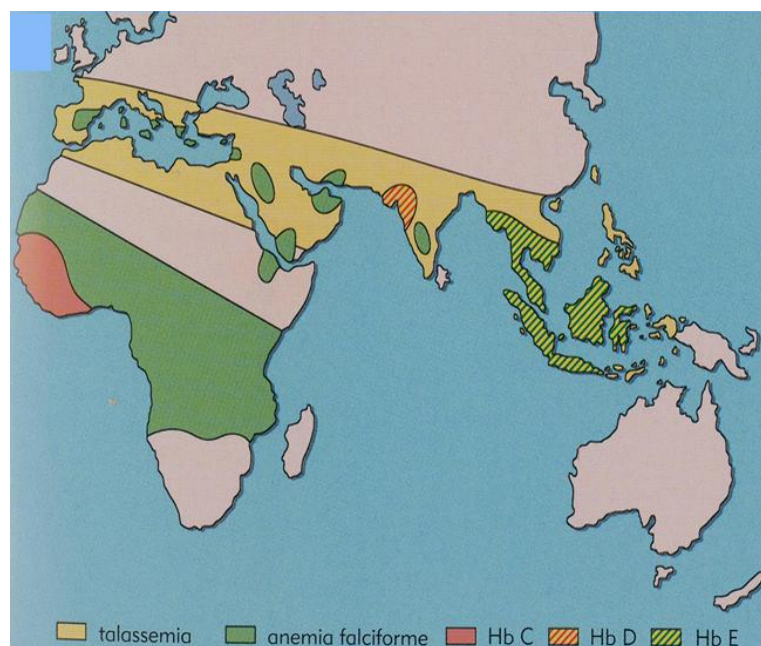


Figura 7 – Distribuição geográfica das talassémias, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias comuns. Adaptado da Ref.⁴

Nos EUA, cerca de 12% dos Afro-Americanos têm uma variante de Hb e a incidência de homozigotia (HbSS) é de 1 em cada 375 nascimentos. A heterozigotia simples é estimada em 8% e as situações de heterozigotia composta por associação com a HbC e a β -talassémia, nomeadamente as situações de HbSC e de HbS/ β -talassémia, estimam-se em 0,12% e 0,16%, respectivamente.⁴

Em Portugal e através da distribuição geográfica dos haplotipos BS (Benim, Banto e Senegal), a caracterizarem diferentes regiões de origem em África, pensa-se que a importação do gene se verificou em duas épocas diferentes: entre os séculos VIII e XII proveniente da região mediterrânica (haplotipo Benim), com os Árabes, e, depois do séc. XV, com os descobrimentos portugueses e o subsequente tráfico de escravos (haplotipo Senegal e Banto). A prevalência de portadores de HbS, concluiu-se ser de 0.32%, de acordo com um estudo prospectivo em mancebos, da responsabilidade do INSA, realizado entre 1983 e 1985, em 15208 amostras aleatórias.³³

Actualmente, há a considerar também a migração interna no país, bem como a imigração oriunda de outros países como o Brasil, onde a drepanocitose possui uma muito significativa incidência na população.⁸

Pela importância que esta doença tem no mundo, a Organização das Nações Unidas, numa recente resolução, reconheceu a drepanocitose como uma prioridade de saúde pública e declarou o dia 19 de Junho, de cada ano, como o dia internacional de luta contra esta afecção.¹

4.3. Quadro Clínico

A drepanocitose, em geral, só se repercute notavelmente na saúde do portador quando assume o tipo de anemia drepanocítica. Contudo, certas formas heterozigóticas também se exteriorizam por sintomas em directa correlação com a grandeza da anomalia hemoglobínica e, visivelmente, a partir do 6º mês de vida e à medida que a HbF vai diminuindo.⁴

Quando a gravidade do processo não leva à morte, a criança apresenta um tórax em barril, por aumento ântero-posterior do diâmetro torácico, um abdómen proeminente

cujo perfil contrasta com a lordose lombar e a cifose dorsal superior. Os membros são magros, especialmente as pernas. Se a criança vence os primeiros anos então estas alterações somáticas tornam-se mais nítidas destacando-se a dismorfia cefálica, a face um pouco mongolóide, o pescoço curto, o tórax longo e estreito e os membros longos, magros, sendo frequente um tipo de mãos delicadas, de dedos finos e longos, que merecem o nome de mãos de aranha, de Winsor e Burch. Completa o quadro, um certo hipogonadismo, mais nítido nos homens, e que se assevera pela hipoplasia ou atrofia testicular, hipotricose facial e tonalidade elevada da voz.²⁵

É de supor que a anemia crônica provoque na drepanocitose, como em outras eritropatias congénitas, alterações estruturais do esqueleto como consequência, não só da variação do regime circulatório dos ossos, mas também da hiperplasia medular reaccional à espoliação hemolítica constante.²⁵

O exame radiológico do crânio mostra, nos adolescentes e adultos, alterações que vão desde a perda de nitidez do desenho ósseo até à osteoporose, sendo os estadios intermédios constituídos pela imagem em escova, produzida pela orientação das espículas em sentido perpendicular à tábua interna.²⁵

Também a coluna apresenta osteoporose, podendo haver achatamento e colapso de corpos de vértebras, com a conseqüente imagem em cunha.²⁵

Os ossos dos membros apresentam esclerose com engrossamento cortical que pode chegar até à completa obliteração do canal medular.²⁵

Sobretudo em adultos e em grande número de casos, encontram-se processos necróticos da pele, em especial sob a forma de úlceras de perna junto aos maléolos. A patogenia deste processo ulceroso tem sido relacionada com a obstrução vascular, mas também lhe importa o grau de anemia existente.²⁵

Sobre as glândulas endócrinas já se percebeu a tendência para o tipo hipogonadal e hipopituitário, atestados pela hipoplasia genital e pela tendência para o nanismo.²⁵

Nos homens não é raro o priapismo que se deve a fenómenos obstrutivos dos corpos cavernosos, resultantes de trombose e estase. Na mulher encontra-se atrofia da mama e genitais externos e, com frequência, há irregularidade dos ciclos menstruais e menarquia

tardia o que revela a acção deletéria e inibidora desta doença sobre a procriação na mulher.^{13,19,25}

A drepanocitose parece ser a eritropatia congénita que determina, com maior intensidade, alterações cardíacas que resultam da interacção de vários factores, como a anóxia crónica provocada pela anemia e a obstrução vascular consecutiva à aglomeração celular. Se a primeira, não só determina lesões nas fibras do miocárdio, como exige um aumento da actividade cardíaca para nutrir convenientemente a periferia, a segunda promove a trombose e a endocardite.²⁵

São ainda estas alterações vasculares que a nível da rede pulmonar vão dar origem à sintomatologia de *cor pulmonale* crónico que se traduz por dispneia de esforço com palpitações e que pode chegar a colocar dificuldades de diagnóstico diferencial com a clínica que acompanha a estenose mitral.^{13,25}

Como grande número de doentes se queixa de dores articulares acompanhadas, por vezes, de febre, é habitual a confusão com o reumatismo poliarticular agudo e o diagnóstico diferencial pode ser extremamente difícil se não se pensar na drepanocitose.

Nalguns doentes as artralguas acompanham ou precedem quadros dolorosos abdominais com diferentes graus de intensidade e que podem acompanhar-se de náuseas, vômitos, rigidez ou defesa abdominal, febre precedida de calafrios, icterícia, sintomas de choque e alterações do sistema nervoso com convulsões e com progressiva alteração da consciência até ao coma. Simultaneamente acentua-se a anemia e aparece leucocitose, daí que já tenha acontecido executarem-se intervenções cirúrgicas nestes doentes. Estas crises abdominais explicam-se pelos fenómenos obstrutivos dos vasos dos respectivos órgãos, mas quando o choque se instala, serão as suas alterações hemodinâmicas que agravam a anóxia tecidual, já presente pela anemia, e que aumenta a tendência para a falciformação que predispõe para a atonia capilar e fecha o ciclo fisiopatológico que conduz à morte.^{19,25}

Julga-se que certas crises abdominais se podem explicar por compressão das raízes nervosas provocadas por alterações ósseas da coluna ou dependem de processos inflamatórios ganglionares retroperitoneais. Outras podem ser devidas a verdadeiras cólicas hepáticas, causadas pela litíase biliar que acompanha as anemias hemolíticas congénitas.^{19,25}

A literatura também refere com frequência, o desencadeamento de crises abdominais, mais ou menos graves, como consequência de viagens de avião e que se podem manifestar durante o voo ou entre meia a uma hora após o voo. A explicação assenta na baixa de tensão parcial do O₂ no ar respirado, que se repercute nos respectivos valores no sangue circulante e provoca a falciformação. Segundo Sullivan, nas formas homozigóticas a formação de drepanócitos ocorre quando a tensão de O₂ atinge 45 mm Hg, enquanto que na forma heterozigótica é necessário que este valor desça até 18 mmHg. É claro que qualquer diferença neste valor será consequência da quantidade proporcional de HbS existente.²⁵

A presença de HbF contraria, de certo modo, a cristalização da HbS porque não entra na constituição dos cristais de Hb, enquanto que a HbA é englobada com a HbS na formação dos cristais e funciona, portanto, como material cristalizável. Assim, a presença de mais de 20% de HbF, tende a moderar a gravidade da doença.⁴

O baço é o órgão abdominal com maior predisposição para o enfarte, visto que tem um pequeno número de anastomoses entre os ramos da artéria esplénica. Por isso, quando há formação de drepanócitos no baço, a circulação afrouxa devido ao aumento da viscosidade sanguínea. Esta estase aumenta a saída do O₂ do sangue, com consequente acumulação de CO₂ e baixa do pH sanguíneo, condições ótimas para a falciformação em massa, que fecha o ciclo da anóxia e provoca a obstrução vascular e enfarte.²⁵

Na drepanocitose homozigótica o baço atrofia-se progressivamente, como consequência de enfartes sucessivos ocorridos ao longo da infância.²⁵

Esta inferioridade biológica e tendência para a infecção explicam a marcha grave da tuberculose que atinge um órgão de rara preferência, como o fígado. Também aqui, crê-se que a obstrução vascular criará melhores condições para o desenvolvimento do bacilo de Koch e agravamento do quadro clínico.²⁵

No rim surge falência nos mecanismos de concentração da urina, pode instalar-se uma papilite necrosante e a hematúria torna-se uma queixa.²⁵

São frequentes as alterações neurológicas consecutivas à estase e aos processos obliterativos vasculares e os sintomas fundamentais consistem em cefaleia, tonturas, discretos sinais meníngeos, sonolência que nas formas graves chega ao estado confusional, estupor, coma e variados sinais focais desde afasia até hemiplegia.^{19,25}

De forma esquemática, podem-se considerar vários tipos clínicos consoante os agrupamentos sintomáticos dominantes: 1. síndrome febril decorrendo como pirexia de causa desconhecida; 2. tipo artrálgico; 3. tipo cardiovascular; 4. síndrome neurológica predominante; 5. tipo pneumónico agudo.²⁵

4.4. Heterozigotia composta

4.4.1. Com Hb C

É a heterozigotia composta mais comum, atingindo 25% da população da África Ocidental e cerca de 1 em cada 833 nascimentos, nos EUA.⁴

Atraza e perturba o crescimento, os fenómenos vaso-oclusivos estão presentes, embora menos graves, mas a retinopatia proliferativa é mais comum e mais grave do que na drepanocitose, bem como as infecções respiratórias a *S. Pneumoniae*. Por estas razões, a morbilidade e mortalidade são consideráveis, especialmente a partir dos 30 anos de idade.⁴

4.4.2. Com Hb C-Harlem (Hb C-Georgetown)

Esta hemoglobina apresenta uma dupla substituição na cadeia β , mas cursa de forma assintomática, a menos que haja uma heterozigotia composta com HbS e aí a clínica é a de uma HbSS.⁴

4.4.3. Com Hb O-Arab

Mesmo na sua forma homozigótica, cursa praticamente de forma assintomática, mas numa dupla heterozigotia com a HbS toma proporções clínicas idênticas às observadas na HbSS.⁴

4.4.4. Com β -talassémia

Esta heterozigotia composta é a causa mais comum da síndrome drepanocítica em doentes com descendência da área Mediterrânica. A gravidade clínica vai depender da maior ou menor dificuldade observada na produção das cadeias β .⁴

4.4.5. Com Hb D e Hb G-Filadélfia

Na primeira associação observa-se uma anemia hemolítica entre o severo e o grave, visto que são as duas cadeias β que estão afectadas. Na segunda, tudo passa despercebido porque a HbG é devida a uma mutação na cadeia α , que não compromete a produção suficiente de HbA.⁴

4.5. Quadro Laboratorial

Nada tem de característico em relação às séries plaquetária e leucocitária. Se para a primeira há a apontar a presença de uma certa anisocitose e, por vezes, trombocitose, na segunda, os leucócitos só aumentam durante as crises hemolíticas.⁴

A série vermelha exhibe uma anemia normocítica e normocrômica e a observação do esfregaço de sangue periférico mostra uma impressionante anisopoiquilocitose com células em alvo, cuja percentagem varia em função da heterozigotia presente. Na drepanocitose heterozigótica a percentagem não ultrapassa os 4%, mas na homozigótica pode chegar aos 30%, sendo que valores mais elevados, da ordem dos 60 a 85%, se encontram nas HbSC. Tal como noutras situações de hiper-regeneração da série vermelha, também aqui se encontram eritroblastos e células com restos nucleares, anéis de Cabot, corpos de Howell-Jolly, corpos de Pappenheimer e pontuado basófilo. Há um aumento de reticulócitos, e tal como noutras anemias hemolíticas corpusculares, há aumento da bilirrubina indirecta e de siderémia, com baixa da capacidade de fixação do ferro.^{4,19,25}

5. HEMOGLOBINOPATIA C

Esta hemoglobinopatia foi descrita logo a seguir à drepanocitose, em 1953, por Spaet e Ranney que identificaram um caso de homozigotia (HbCC). É a terceira mais comum em todo o mundo.^{4,19}

Encontrando-se em 17 a 28 % da população da África Ocidental e em 2 a 3 % dos Afro-Americanos.⁴

A hemoglobinopatia C assemelha-se à HbS na forma de transmissão e etiologia, dado que o ácido glutâmico é substituído por lisina, na sexta posição da cadeia β , do que resulta uma fórmula estrutural de $\alpha_2\beta_2^{6\text{Glu}\rightarrow\text{Lys}}$.^{4,19,34}

Neste caso, a lisina tem carga eléctrica positiva o que confere à molécula de Hb um efeito estrutural diferente do que acontece na HbS, bem como no seu comportamento face à baixa da tensão de O_2 . A polimerização da Hb não causa grande deformidade ao eritrócito e por isso não há fenómenos de vaso-oclusão e as crises esplénicas são diminutas.⁴

Não é necessário tratamento específico e a doença só se torna problemática quando uma infecção ocorre ou se, havendo uma ligeira hemólise, a litíase vesicular se instalar.⁴

5.1. Quadro Laboratorial

A anemia é predominantemente de tipo normocítico e normocrómico e, no esfregaço, encontram-se muitas células em alvo e, por vezes, eritrócitos deformados pelos cristais tetragonais da HbC, que também podem aparecer livres, sem evidência de membrana celular.^{4,34}

Na electroforese alcalina, em acetato de celulose, migra na mesma posição da HbA₂, HbE e HbO-Arab.⁴

Numa situação de homozigotia pode estar presente em níveis > 90%, acompanhada de HbF < 7% e HbA₂ de, aproximadamente, 2%.⁴

No traço HbAC, cerca de 60% é HbA e 30% é HbC.⁴

6. HEMOGLOBINOPATIA D-Punjab

Existem muitas variantes de HbD, denominadas de acordo com o local em que foram descobertas. A HbD-Punjab ocorre em cerca de 3% da população do Punjab, na Índia. Apresenta uma substituição do ácido glutâmico por glicina, na 121^a posição da cadeia β globínica ($\alpha_2\beta_2^{121\text{Glu}\rightarrow\text{Gln}}$).^{4,35}

Na electroforese a pH alcalino migra na mesma zona da HbS, mas não falciformiza e dá resultado negativo no teste de solubilidade.⁴

É assintomática e não é necessário tratamento específico tanto na forma heterozigótica, como na homozigótica, que cursa com uma discreta anemia hemolítica e esplenomegalia crónica não progressiva.⁴

7. HEMOGLOBINOPATIA E

Foi descrita em 1954, ocorre com uma incidência de 30% no Sudeste Asiático e tem-se expandido por via migratória. É uma $\alpha_2\beta_2^{26\text{Glu}\rightarrow\text{Lys}}$, semelhante à HbC, mas em que, apesar do ganho de carga positiva, a posição da substituição não origina polimerização da molécula.^{4,19,36}

7.1. Quadro Laboratorial

Na homozigotia, com níveis de HbE > 90%, pode haver uma anemia moderada com microcitos e células em alvo. O tempo de semi-vida dos eritrócitos está diminuído, mas não se observa icterícia nem esplenomegalia e a clínica é semelhante à do traço talassémico.^{4,36}

Não necessita de tratamento específico, excepto na associação com a β -talassémia, em que as transfusões de sangue podem ter de ser frequentes.⁴

Porque a maior incidência desta Hb é na região da Tailândia onde a malária é prevalente, admite-se que o *Plasmodium falciparum* se multiplica mais lentamente no eritrócitos com HbEE, do que nos que tenham HbAE ou HbAA, o que pode conferir alguma protecção contra a malária.⁴

No traço HbAE não há queixas, mas se se associar à β -talassémia, a expressão clínica é a de uma β -talassémia major.⁴

8. HEMOGLOBINOPATIA O-Arab

É outra variante da cadeia β globínica, que apresenta na sua 121ª posição a substituição do ácido glutâmico por lisina ($\alpha_2\beta_2$ ¹²¹Glu→Lys).⁴

Encontra-se no Quênia, Israel, Egípto, Bulgária e em 0,4% de Afro-Americanos.⁴

Migra com a HbA₂, HbC e HbE na separação electroforética, em acetato de celulose, a pH alcalino.⁴

É assintomática, embora a homozigotia curse com uma esplenomegalia moderada, resultado da hemólise crónica. No esfregaço de sangue periférico apresenta muitas células em alvo.⁴

9. TALASSÉMIAS

Cientificamente, a primeira descrição clínica das talassémias é atribuída aos pediatras Thomas B. Cooley e Pearl Lee. Em 1925 Cooley identificou um tipo de anemia grave em crianças com esplenomegalia, aspectos faciais mongolóides e com alterações ósseas do crânio e dos ossos faciais. Na análise do esfregaço sanguíneo dessas crianças, Cooley descreveu um acentuado grau de anemia com presença de muitos eritroblastos.^{4,19}

A clareza e a qualidade do artigo, levou a que por muitos anos essa forma de talassémia grave, que hoje se classifica como β - talassémia major, fosse reconhecida e citada como anemia de Cooley. Por outro lado, e por inicialmente se acreditar que se tratava de uma doença restrita à região mediterrânica, a designação de anemia mediterrânica foi também utilizada.^{4,37}

Por esse motivo, surgiu a designação actual “thalassemia”, palavra de origem grega que significa mar (thalassa) e sangue (haema), sugerida por George Whipple em 1936.^{4,38}

Em 1940, foi possível estabelecer a sua base genética.⁴

Actualmente, as talassémias são das doenças mais estudadas e melhor caracterizadas em termos científicos, médicos, sociais e demográficos.¹⁵

9.1. Caracterização Genética e Fisiopatologia

As talassémias são um grupo heterogêneo de patologias caracterizadas por ausência ou diminuição da síntese de uma ou de várias, cadeias de globina e são classificadas de acordo com o tipo de cadeia globínica, cuja produção está afectada, em: α , β , γ , δ , $\delta\beta$ e $\gamma\delta\beta$, sendo as talassémias α e β as que apresentam maior frequência e importância clínica.^{12,39}

As mutações descritas nos genes que codificam para as cadeias β são sobretudo mutações pontuais, enquanto que nos genes que codificam para as cadeias α ocorrem grandes deleções, que podem retirar um ou dois dos genes α .¹²

Qualquer mutação que afecte um dos genes β terá maior impacto, uma vez que vai afectar metade das cadeias produzidas, daí ser a β -talassémia a hemoglobinopatia mais frequente. As formas mais graves são as que cursam com total ausência das cadeias β globínicas e as mais moderadas são as que apresentam ausência parcial dessas mesmas cadeias.^{13,23}

Neste tipo genético, o impedimento da formação da cadeia β leva ao predomínio da síntese de cadeias γ e δ , pelo que aparecem globinas $\alpha_2\gamma_2$ e $\alpha_2\delta_2$, isto é, cadeias de HbF e HbA₂, em vez da HbA normal.⁴

A determinação da percentagem de HbF e HbA₂, pode, pois, assumir importância na caracterização destas hemoglobinopatias.⁴

9.2. α -Talassémias

O principal mecanismo molecular das α -talassémias consiste em deleções que removem um ou mais dos genes que codificam as cadeias α globínicas. Como estas são compartilhadas tanto pelas hemoglobinas do adulto (HbA e HbA₂) como pela fetal (HbF), a produção deficiente de cadeias α reflecte-se em ambas as fases do desenvolvimento.⁴

No feto, uma taxa reduzida destas cadeias leva a um excesso na produção de cadeias γ que se tetramerizam (γ_4) e formam a Hb de Bart. No adulto as cadeias β em excesso também se tetramerizam (β_4) dando origem à HbH.¹²

Como existem dois genes α por genoma haplóide, sendo quatro numa célula diplóide normal ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), neste tipo de talassémias quanto maior for o número de genes afectados mais grave ela será.^{40,41}

- ✦ Um Gene afectado → Heterozigotia do tipo α^+ -talassémia ($-\alpha/\alpha\alpha$)

Não existem repercussões, sendo o hemograma normal, uma vez que os restantes 3 genes asseguram a produção de cadeias α . Estes indivíduos são chamados de portadores silenciosos;⁴⁰

- ✦ Dois Genes afectados → Heterozigotia do tipo α^0 -talassémia ($--/\alpha\alpha$) ou homozigotia do tipo α^+ -talassémia ($-\alpha/-\alpha$)

Os indivíduos afectados apresentam eritropoiese normal com anemia microcítica e hipocrômica ligeira, que pode ser confundida com anemia ferropénica. Estes indivíduos são os que têm traço α -talassémico;⁴⁰

- ✦ Três Genes afectados → Doença da HbH ($--/-\alpha$)

Esta alteração é responsável pela formação de HbH que, sendo instável precipita formando os corpos de Heinz e que tendo uma maior afinidade para o O_2 , do que a HbA, vai proporcionar menos O_2 aos tecidos. Na fase inicial da vida do eritrócito, a HbH mantém-se solúvel, não causando eritropoiese ineficaz. Deste modo a anemia não é tão severa em comparação com a que é vista nos doentes com β -talassémia, que têm deficiência equivalente de produção de cadeias β . Clinicamente existe uma anemia microcítica e hipocrômica, com hemólise discreta, devida à hemocaterese dos eritrócitos com corpos de inclusão, e esplenomegalia, mas sem necessidade de transfusões.^{4,13,40}

- ✦ Quatro genes afectados → Síndrome de hidropsia fetal ($--/--$)

Dá origem a uma situação incompatível com a vida. A maior parte dos recém-nascidos são nados-mortos com síndrome de hidropsia fetal por insuficiência cardíaca congestiva com anasarca fetoplacentária, e os nados-vivos morrem pouco depois do nascimento.

Há pouca Hb circulante, e a que predomina é a Hb de Bart (γ_4), com 5 a 20% de Hb Portland ($\xi_2\gamma_2$) e vestígios de HbH (β_4).⁴⁰

A Hb de Bart tem alta afinidade para o O_2 , pelo que não o transporta aos tecidos.

Os fetos sobrevivem até ao terceiro trimestre suportados pela Hb Portland. Como esta Hb não pode assegurar o total desenvolvimento do feto, este morre em parto prematuro, o que é grave para a mãe devido a toxémia e hemorragia pós-parto.^{4,12}

9.3. β -Talasémias

A severidade da doença depende da natureza da mutação. Se a mutação causar a total ausência de cadeias β pelo alelo atingido, então trata-se de uma β^0 -talassémia. Se, por outro lado continuarem a formar-se algumas cadeias β pelo alelo atingido, então a talassémia classifica-se como β^+ . Qualquer destas situações, dá origem à diminuição da síntese de Hb e acumulação de cadeias α , que se ligam à membrana do eritrócito com prejuízo da mesma. Quanto ao número de alelos afectados:⁴⁰

- ✦ Um alelo afectado \rightarrow β -talassémia minor (β^0 ou β^+ heterozigótico)

Expressa uma anemia microcítica ligeira que, na maioria dos casos, é assintomática porque o excesso de cadeias α não é suficiente para causar hemólise significativa;⁴⁰

- ✦ Ambos os alelos afectados \rightarrow β -talassémia major (β^0/β^0)

Dá origem a uma anemia microcítica e hipocrómica e a uma hemólise graves, cujo controlo depende de transfusões. Pode ocorrer sobrecarga de ferro;⁴⁰

Talassémia intermédia - consiste numa situação intermédia entre as formas major e minor. A hemólise é moderada e a anemia é grave, mas sem dependência de transfusões. A principal ameaça à vida é a sobrecarga de ferro.⁴⁰

9.3.1. Epidemiologia

Há cerca de 200 alelos mutantes descritos, o que faz com que esta seja a doença mais disseminada e numericamente mais importante no Mundo.¹⁰

A migração das populações e o casamento entre pessoas de diferentes grupos étnicos têm permitido a introdução desta anomalia genética em quase todos os países do mundo, incluindo o Norte da Europa, onde a talassêmia não existia antes.⁴²

Estimativas realizadas, indicam que cerca de 1,5% da população global (80 a 90 milhões de pessoas) são portadores de β -talassêmia. Esta percentagem inclui cerca de 60 000 indivíduos sintomáticos nascidos anualmente, a sua grande maioria nos países em vias de desenvolvimento.⁴²

As talassêmias são predominantes nos países do Mediterrâneo, Médio Oriente, Ásia Central, Índia, Sul da China e do Extremo Oriente, bem como nos países ao longo da costa do Norte de África e na América do Sul.⁴²

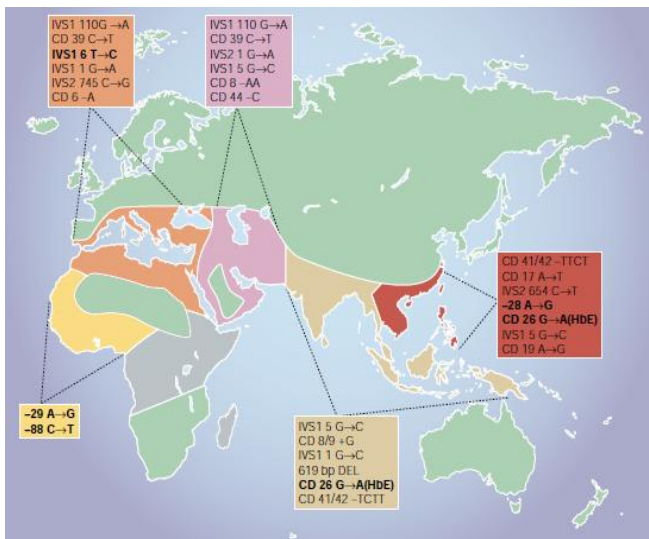
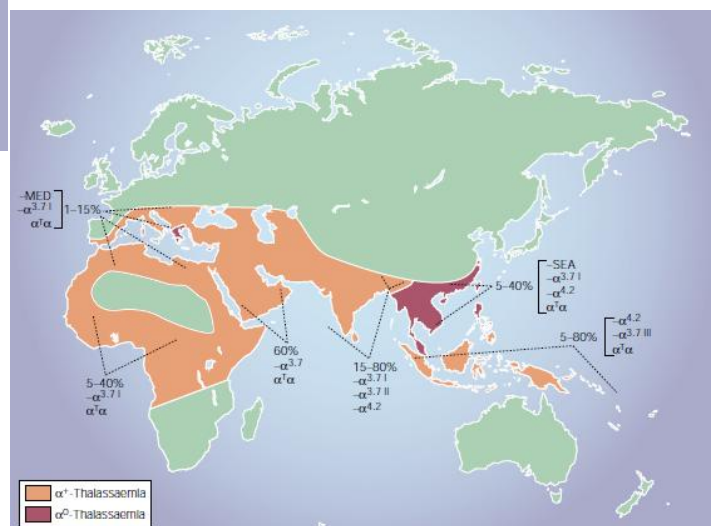


Figura 9 – Distribuição global de α -talassêmias³⁹

Figura 8 – Distribuição global das mutações de β -talassêmias³⁹



Na Europa, a maior frequência é relatada no Chipre (14%), Sardenha (10,3%) e Grécia, enquanto que no Sudoeste Asiático são a Tailândia e o Camboja os mais afectados. A elevada incidência do gene da β -talassémia nestas regiões está provavelmente, relacionada com a selecção positiva desta patologia para a infecção por *Plasmodium falciparum*, devido a um mecanismo ainda não esclarecido.^{4,13}

Em Portugal a prevalência de portadores de β -talassémia, concluiu-se ser de 0.45%, de acordo com um estudo prospectivo em mancebos, da responsabilidade do INSA, realizado entre 1983 e 1985, em 15208 amostras aleatórias.³³

9.3.2. Quadro Clínico

9.3.2.1. Forma Major

- ✦ β^+ -talassémia (β^+/β^0) (β^+/β^+)
- ✦ β^0 -talassémia (β^0/β^0)
- ✦ Hb Lepore (Hb Lepore/Hb Lepore)⁴

A talassémia major corresponde à forma homozigótica e grave da β -talassémia. Aparece na maior parte dos casos em crianças, no primeiro ou segundo ano de vida, instalando-se insidiosamente até ao quadro característico descrito por Cooley. Este é constituído pela anemia, que confere ao doente uma cor pálida amarela suja ou cítrica, pela fácies mongolóide, pelas alterações somáticas que se exprimem pelo atraso de desenvolvimento, alterações ósseas e esplenomegalia.²⁵

A fácies típica resulta da intercorrência de dois factores. Por um lado, a tara hereditária implica já por si certas anormalidades crânio-faciais que são comuns a todas as formas de talassémia e determinam a fácies microcitémica de Silvestroni e Gentili. Nesta reconhece-se o tipo infantil do nariz de perfil côncavo e larga base de implantação, o discreto afastamento do ângulo interno das fendas palpebrais, a proeminência dos arcos



Figura 10 – Aparência facial típica de uma criança com β -talassémia major⁴³

zigomáticos. Por outro lado, como acontece com outras doenças hemolíticas, as alterações circulatórias do osso e a hiperplasia da medula óssea vão deformando o bloco crânio-facial acentuando a nota orientalóide pelo aumento de volume dos ossos zigomáticos e dos maxilares superiores, que por vezes implica a proclividade dos incisivos superiores o que faz lembrar um roedor (esquilo).²⁵

Nos casos avançados o exame radiográfico da cabeça mostra: 1. Inibição da pneumatização dos seios perinasais, sobretudo dos maxilares, com integridade dos seios etmoidais; 2. Aumento do volume dos maxilares superiores; 3. Aumento do diploé



craniano com atrofia da tábua externa e disposição «em escova» das trabéculas diploicas, por estas serem perpendiculares à tábua interna. Esta alteração estrutural costuma iniciar-se no frontal e poupa, na maioria dos casos, a lâmina do occipital.²⁵

Figura 11 – Alterações ósseas na β -talassémia major⁴⁴

Estas alterações, embora já se possam ver antes dos 6 meses, são absolutamente nítidas depois do primeiro ano de vida, porque é entre o 6º e o 8º mês de vida que, na criança normal, a HbF começa a diminuir para progressivamente dar lugar à forma do adulto, a HbA. Nestas crianças a inexistência (β^0/β^0) ou o número muito reduzido de cadeias β (β^+/β^+) impede que a HbA se forme em quantidade normal. As cadeias α em excesso precipitam no interior dos eritrócitos que vão ser destruídos na medula óssea (eritropoiese ineficaz) ou na sua passagem pelo baço (hemólise por sequestração esplénica). Como mecanismos de compensação assiste-se à hiperplasia da série eritrocitária medular e à eritropoiese extra-medular.^{4,13}

Logo de início, verifica-se a existência de hepatomegalia, embora menos nítida do que a esplenomegalia que é elemento obrigatório da síndrome e que, na fase adulta, ocupa todo o abdómen e dificulta os movimentos de flexão do tronco.²⁵

Os ossos longos e a coluna participam também, mais ou menos activamente, na eritropoiese extra-medular, consoante o tempo de evolução e a gravidade da doença e, de uma maneira geral, aparece osteoporose.²⁵

A diminuição da actividade medular dos ossos progride de forma centrípeta, de tal modo que nos adultos se encontra limitada aos ossos do tronco.²⁵

Se a morte não é precoce assiste-se a uma progressiva limitação do crescimento, com dismorfia física muito típica e que se denomina de nanismo esplénico.²⁵

Os sinais cardiocirculatórios resultam da insuficiência e da cardiomegalia, secundária à hemocromatose, que acaba por ser a maior causa de morte.²⁵

A forma clínica descrita corresponde ao tipo mais característico, que atinge as crianças na 2ª e 3ª infância, mas existe uma forma grave do lactente, em que é a anemia que leva à morte, assim como existem formas menos graves, mas igualmente letais, por doença intercorrente ou insuficiência circulatória, que permitem sobrevivências até à 3ª ou 4ª década da vida.²⁵

A anemia hemolítica é grave, com uma grande dependência de transfusões que se iniciam no 1º ano de vida, com garantido risco de sobrecarga de ferro no organismo. Este acumular de ferro leva a complicações cardíacas, hepáticas e endócrinas, como a pigmentação escura da pele, diabetes, hipopituitarismo, hipotiroidismo, hipoparatiroidismo, hipogonadismo e cirrose. Não é desprezível o risco de se poder contrair uma doença infecciosa, como complicação das frequentes transfusões.¹⁰

9.3.2.2. Forma minor

Ocorre em indivíduos heterozigóticos em que só uma cadeia β está afectada:

- ⊕ β^+ -talassémia (β^+/β)
- ⊕ β^0 -talassémia (β^0/β)
- ⊕ $\delta\beta^0$ -talassémia ($\delta\beta^0/\delta\beta$)
- ⊕ Hb Lepore talassémia (Hb Lepore/ β)⁴

É uma alteração geralmente assintomática, que expressa uma anemia microcítica e hipocrómica discreta. A importância do diagnóstico prende-se com a necessidade de aconselhamento genético e a prevenção da administração iatrogénica de compostos ferrosos.¹⁰

Geralmente o traço β talassémico pode ser diagnosticado de forma fiável por HPLC ou electroforese de Hbs, conjuntamente com uma análise quantitativa de HbA₂ e HbF. Doentes com uma β talassémia minor apresentam uma taxa elevada de HbA₂ (>3.5%).⁴⁵

9.3.2.3. Forma Interméda

- ⊕ β^{+S} -talassémia (β^{+S}/β^{+S})
- ⊕ $\delta\beta^0$ -talassémia ($\delta\beta^0/\delta\beta^0$)⁴

O genótipo desta talassémia é muito heterogéneo e por isso a sintomatologia fica compreendida entre a major e a minor. Os portadores podem ser assintomáticos ou interpretados como tendo uma anemia ferropénica, até que uma situação de stress, como a gravidez, venha expor a patologia subjacente e criar uma situação de risco para a mãe, que tem de ser politransfundida, e para o feto, que normalmente apresenta baixo peso ao nascer.^{4,46}

Embora a doença se inicie na infância, em regra a sintomatologia só atinge todo o desenvolvimento na idade adulta. A anemia hemolítica é moderada, com níveis de Hb entre 7 e 9 g/dL, e exige algumas transfusões, mas não de forma crónica.¹⁰

Com o avançar da idade, os doentes podem desenvolver complicações trombóticas e de hipercoagulabilidade, hipertensão pulmonar grave e osteoporose.¹⁰

9.3.2.4. Portador silencioso

- ⊕ β^{++S} -talassémia (β^{++S}/β)

Aplica-se a aos doentes que apresentam alterações genéticas num ou nos dois genes de cadeias β , mas de que não resultam anomalias hematológicas, porque sendo a perturbação tão insignificante, a diminuição de produção de cadeias β não altera muito a proporção de cadeias α /cadeias β .⁴

9.3.2.5. Heterozigotia composta

9.3.2.5.1. Com Hb S

A heterozigotia composta HbS/ β -talassémia é um achado frequente na população que tenha ascendência em África. As duas anomalias genéticas são co-herdadas. A quantidade de HbS encontrada é inferior à dos portadores de traço drepanocítico. Concorrendo para a ausência de sintomas está também a percentagem aumentada de HbF nestes doentes.⁴

A hereditariedade da heterozigotia composta HbS/ β -talassémia é diferente porque um progenitor transmite o gene da β -talassémia e o outro, o da HbS.⁴

Geograficamente encontra-se em África, bacia do Mediterrâneo, Médio Oriente e Índia.⁴

A clínica varia em função do tipo de mutação β -talassémia herdada, sendo a forma mais grave a que envolve a β^0 talassémia em que a clínica é a da drepanocitose e o diagnóstico diferencial faz-se com base na microcitose e aumento de HbA₂.⁴

9.3.2.5.2. Com Hb C

Cursa com hemólise e esplenomegalia. Apresenta anemia microcítica e hipocrómica, com muitos dianócitos. O padrão electroforético varia de acordo com a variedade de β -talassémia, sendo tanto mais elevada a concentração de HbC, quanto menor ou inexistente for a produção de cadeias β .⁴

9.3.2.5.3. Com Hb E

Esta heterozigotia composta é relevante no Sudeste Asiático em que há alta prevalência destas duas mutações genéticas. O quadro clínico oscila entre o de uma talassémia intermédia e o de uma β -talassémia homozigótica, dependente de transfusões.⁴

9.3.3. Quadro Laboratorial

A talassémia major é, provavelmente, a eritropatia em que se verifica a mais acentuada anisocitose e o decréscimo do volume globular não depende apenas da diminuição do diâmetro da célula mas, também, da sua reduzida espessura. Disto resulta que são glóbulos que apresentam uma elevada resistência aos solutos hipotônicos.^{4,25}

A poiquilocitose também é exuberante, com esquizocitose. Os dianócitos podem aparecer em percentagem variável.²⁵

Uma reticulocitose moderada é uma constante, bem como a presença de eritroblastos no sangue periférico.²⁵

Em Pediatria, é a causa mais frequente de anemia microcítica.⁴⁰

Os dados relativos à série branca são variáveis e as plaquetas, geralmente em número normal, podem apresentar algumas plaquetas gigantes.²⁵

Se bem que hipocrômica, a talassémia cursa com elevados níveis de siderémia e a hemossiderina pode encontrar-se na urina. Também há aumento de bilirrubina indirecta e o espectro proteico mostra, na electroforese, discreta redução de albumina, um pouco mais moderada das globulinas α_1 e α_2 e aumento marcado da fracção γ .²⁵

Os tipos de Hb encontrados variam de acordo com o tipo de β -talassémia. Na β^0 -talassémia homozigótica, a Hb A está ausente e a Hb F constitui 92-95% do total da Hb. Na β^+ -talassémia homozigótica e na heterozigotia composta β^+/β^0 -talassémia, o nível de Hb A varia entre 10 e 30% e o de Hb F entre 70 a 90%. A percentagem de Hb A₂ é variável na β -talassémia homozigótica, revelando, contudo um aumento na β -talassémia minor.⁴²

10. DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATIAS

1. **História clínica e antecedentes familiares**
2. **Exame objectivo**
3. **Diagnóstico laboratorial:**

O número de variantes de Hb descritas na literatura tem aumentado significativamente e os métodos e as estratégias de diagnóstico laboratorial, utilizados para a identificação destas patologias, também têm sofrido modificações. Como os defeitos na molécula de Hb têm diversas bases genéticas e diferentes tipos clínicos, são necessários laboratórios de análises especializadas para um correcto diagnóstico, com vista a uma conveniente decisão terapêutica. É unânime o reconhecimento da importância e utilidade da biologia molecular na compreensão e detecção das hemoglobinopatias, porém, e principalmente devido à componente económica, não são utilizadas como testes de primeira linha.

Embora hoje em dia nenhum país esteja imune à sua ocorrência, os programas de prevenção e controlo de hemoglobinopatias variam em função da prevalência local da doença, dos recursos humanos e laboratoriais e sobretudo dos económicos de que possam dispor. É por isso que alguns países como o Reino Unido optam, ao implementarem esses programas, pela utilização preferencial de sistemas automatizados e técnicas mais diferenciadas como o HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Resolução) ou a IEF (Focagem Isoelétrica), em detrimento das separações electroforéticas. Por outro lado há países, como a Itália, que optam por estabelecer uma marcha diagnóstica ou de rastreio que começa por técnicas mais simples e económicas, como é por exemplo o teste de falciformação eritrocitária, a observação de um esfregaço sanguíneo e mesmo a execução de um hemograma.^{21,47}

Cada teste tem a sua importância, isoladamente ou em combinação, para fundamentar com segurança o diagnóstico correcto das hemoglobinopatias.⁴⁸

A escolha da metodologia e dos equipamentos a utilizar deverá ter em consideração aspectos como: o volume de trabalho, o tipo de amostra (sangue líquido ou seco sobre papel), a facilidade de manuseamento, a reprodutibilidade e o custo.⁴⁸

O diagnóstico das hemoglobinopatias é complexo, porque muitas variantes de Hb não apresentam manifestações clínicas e também não produzem alterações em muitos parâmetros hematológicos realizados por rotina.²³

Além disso, vários outros factores, como a idade no momento da colheita ou o tempo e condições de armazenamento da amostra, devem ser tidos em consideração para evitar erros de diagnóstico.⁴⁹

Nos recém-nascidos suspeitos de hemoglobinopatias, principalmente as que envolvem a síntese das cadeias β - globínicas, os testes laboratoriais de triagem ou diagnóstico só poderão confirmar um perfil hemoglobínico anormal após o sexto mês de vida, porque até aí a detecção de HbF pode traduzir uma situação fisiológica e não patológica.⁴⁹

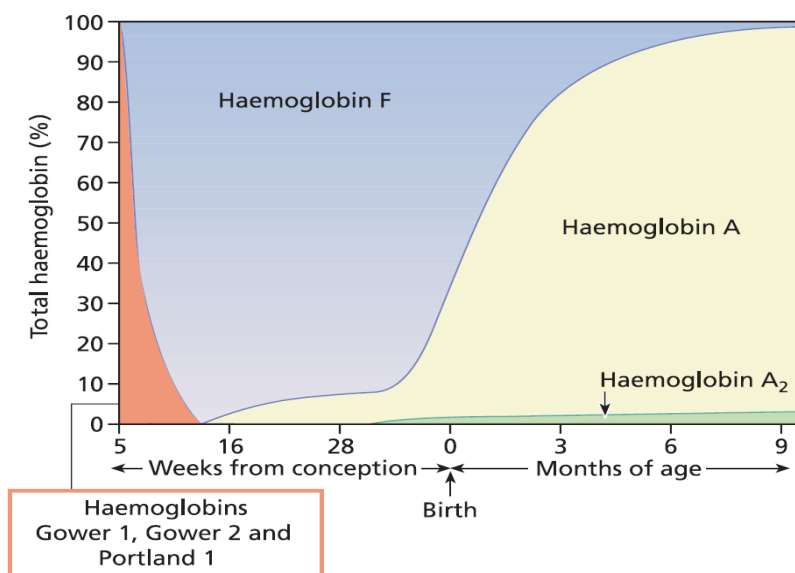


Figura 12 – Expressão das diferentes hemoglobinas durante o desenvolvimento normal.²¹

10.1. Hemograma

A suspeita de hemoglobinopatia, corroborada pelo hemograma anormal e pela história familiar, deve ser o ponto de partida para a execução adicional de outros exames hematológicos que permitam a confirmação do diagnóstico presuntivo e a identificação do tipo de anomalia. No entanto, há que ter em atenção que não permite detectar os heterozigotos das Hbs anormais, HbS, HbC e HbD, uma vez que estes doentes podem apresentar um hemograma com Volume Globular Médio (VGM) e Hemoglobina Globular Média (HGM) normais.^{6,45}

No hemograma, a HGM é um parâmetro mais estável e mais conveniente do que o VGM para o rastreio das talassémias e sempre que se verificar uma microcitose e hipocromia dos eritrócitos, em presença de siderémia normal, essa será a hipótese diagnóstica mais provável. A investigação de hemoglobinopatia deve ser efectuada em qualquer microcitose inexplicável, mesmo que os índices globulares da célula vermelha não sejam típicos de talassémia ou de outra hemoglobinopatia.²¹

Na ausência de uma variante de Hb, de uma β ou $\delta\beta$ -talassémia heterozigótica, a possibilidade de um portador de α -talassémia deve ser considerada sempre que a HGM for $<27\text{pg}$. O diagnóstico diferencial deve ser feito relativamente a uma anemia ferropénica.²¹

Os portadores heterozigóticos de α -talassémias geralmente têm uma HGM entre 25 e 28 pg e um nível normal de HbA₂, pelo que cerca de um terço dos casos é silencioso.²¹

Se a HGM for $<25\text{ pg}$, pode estar-se perante portadores de α^0 -talassémia, portadores de α^+ -talassémia ou anemia ferropénica. Das três possibilidades, só a heterozigotia α^0 -talassémia importa despistar, porque o cruzamento com um heterozigoto β -talassémico pode dar origem a um α^0 -talassémico homozigótico.²¹

O RDW (índice de distribuição dos glóbulos vermelhos) apresenta valores elevados na anemia ferropénica e normais nas talassémias. A observação do esfregaço de sangue periférico pode ser bastante útil como pista para possíveis hemoglobinopatias, nomeadamente na drepanocitose e ajuda a distinguir as talassémias das anemias ferropénicas, porque as primeiras mostram células em alvo e ponteados basófilos, que faltam nas segundas.^{4,6}

10.2. Contagem de reticulócitos em coloração supravital

A coloração supravital dos eritrócitos, com o azul de cresil brilhante, serve, não só para evidenciar a regeneração celular que a hemólise crónica ocasiona, mas também para detectar a possível presença de HbH, em que as inclusões conferem aos eritrócitos o aspecto de “bolas de golfe”. Estas inclusões não são mais do que tetrâmeros β_4 precipitados no interior dos eritrócitos, que na doença da HbH estão presentes em cerca de 5% dessas células.²¹

A sua observação microscópica é possível quando há um excesso de cadeias de β -globina, resultantes da deficiente produção de cadeias de α -globina.²¹

As inclusões de HbH podem ser detectadas em portadores de α -talassémia, na doença da HbH e na tentativa de distinção entre homozigotos α^+ ($-\alpha/-\alpha$) e heterozigotos α^0 ($--/\alpha\alpha$). Estas duas condições são hematologicamente indistinguíveis, embora apenas a última possa originar um feto com Hb de Bart e hidropsia fetal em estado homozigótico.²¹

A ausência de corpos de Heinz não permite descartar totalmente um diagnóstico de α -talassémia num paciente cuja origem étnica é de risco. Quando a deficiência em ferro é descartada para uma mulher grávida que também apresenta uma pesquisa negativa de corpos de Heinz, o rastreio do parceiro é crucial para determinar o risco do feto ser afectados por uma hidropsia fetal associada à Hb de Bart.⁴⁵

10.3. Prova de falciformação eritrocitária

A prova de falciformação é um teste qualitativo simples que procura despistar a presença de HbS, e não de outros tipos de variantes de Hb, nos eritrócitos. O seu princípio baseia-se na indução da falciformação dos eritrócitos por desoxigenação da Hb e, usando ditionito, foi pela primeira vez descrita por Itano e Pauling, em 1949. Melhorado por Nalbandian e colaboradores, este teste era, em 1970, considerado como rápido, automatizável e possível de ser utilizado em grandes rastreios de forma que, em 1974, havia 7 kits disponíveis no mercado. Hoje este teste não deve ser utilizado isoladamente e muito menos como técnica de rastreio em recém-nascidos.⁵⁰

Pode ser executado sempre que surja uma Hb desconhecida conjuntamente com técnicas de electroforese, HPLC ou IEF.⁵⁰

10.4. Teste de Solubilidade da Hb S

Actualmente existem apresentações comerciais destes testes com sensibilidade suficiente para detectar concentrações de HbS inferiores a 20%.²¹

Falsos resultados positivos foram descritos em pacientes com elevados níveis de proteínas plasmáticas e em doentes anémicos, quando se usa o dobro do volume de amostra. Isto pode ser evitado utilizando um concentrado de glóbulos previamente lavados.²¹

Todos os testes de solubilidade com resultados positivos ou duvidosos devem ser confirmados por HPLC ou outra técnica alternativa que não só evidencie a HbS como, simultaneamente, permita distinguir os indivíduos homozigóticos dos heterozigóticos para a drepanocitose.²¹

Em situações de emergência que exijam anestesia, o despiste pode ser realizado, com razoável precisão, combinando o resultado do teste de solubilidade com a observação do esfregaço de sangue periférico e as contagens globulares.²¹

Um resultado negativo não exclui a possibilidade de uma percentagem reduzida de Hb S.²¹

Geralmente, este teste não se executa em crianças com menos de seis meses de idade, porque pode dar um resultado erróneo, visto que a HbS pode ainda não ter substituído em suficiência a HbF, que neste período é a Hb dominante.²¹

10.5. Electroforese de Hemoglobinas

Depois do pioneirismo de Pauling, atrás referido, Smithies descreveu em 1955, um protocolo de electroforese de zona em gel de amido e Kohn, em 1969, usou acetato de celulose para a separação das Hbs, com boa resolução numa migração de apenas 25 minutos.⁵⁰

A electroforese de Hbs a pH 8.2-8.6, utilizando tiras de acetato de celulose, é uma técnica simples, rápida e fiável, amplamente divulgada e que permite a identificação exacta ou presuntiva das Hbs A, F, S/G/D, A₂/C/E/O-Arab, a HbH e de outras variantes menos comuns.²¹

Para a diferenciação de Hbs que migram na mesma zona, a evolução neste tipo de técnicas levou ao aparecimento de outras secundárias, como a electroforese em citrato

agar ou em gel de agarose, a pH ácido, e à adaptação de outras técnicas a este tipo de separação como a HPLC e a IEF, que as têm vindo a substituir.⁵⁰

A utilização das técnicas alternativas permitirá excluir a possibilidade de uma única banda, nas posições de migração da HbS e HbC, poder corresponder a indivíduos heterozigóticos com fenótipos HbSD e HbSG ou HbCE e HbCO-Arab, respectivamente.

A quantificação de HbA₂ por electroforese de hemoglobinas não se recomenda, porque não tem precisão bastante para estabelecer o diagnóstico de traço β-talassémico.²¹

10.6. Quantificação de HbA₂

A quantificação de Hb A₂ pode ser um meio auxiliar importante para o diagnóstico de algumas anomalias da Hb e torna-se essencial quando a HGM é < 27 pg.²¹

A eluição e a leitura espectrofotométrica da banda obtida por separação electroforética em acetato de celulosa, apenas deve ser feita em laboratórios que realizem a técnica regularmente e em que não haja um elevado volume de trabalho. A IEF e a densitometria não se recomendam para este efeito.²¹

HPLC é a técnica mais satisfatória para a quantificação da HbA₂. A sua utilização fica limitada na presença de HbE ou Hb Lepore, de cuja presença se deve suspeitar, sempre que o valor de HbA₂ seja > 10%. Em muitos destes sistemas a presença de HbS inflaciona os valores de HbA₂ e a baixa de ferro diminui-os.²¹

Nenhum teste confirmatório é necessário se a HbA₂ estiver aumentada, mas < 10%, e se os índices hematimétricos forem típicos de β-talassémia.²¹

Valores de Hb A₂ ≥ 3.5% com HGM < 27 pg, são indicadores de β-talassémia heterozigótica. Se HbA₂ > 4% com uma HGM normal isto pode indicar um estado clínico mínimo de portador de β-talassémia.²¹

Outra ajuda em diagnóstico diferencial faz-se entre homozigotia HbSS, em que HbA₂ < 4%, e Sβ⁰-talassémia, em que HbA₂ > 4%.²¹

Também o índice de Mentzer, embora indicativo, pode ajudar a distinguir as anemias ferropénicas das talassémias. Se ao dividir o VGM pelo número de eritrócitos se obtiver um valor > 14 , isso é indicador de anemia ferropénica. Se for < 12 é mais favorável a traço talassémico.⁴

10.7. Quantificação de HbF

A quantificação de HbF é importante porque, fora da infância, está aumentada na homozigotia β^0 -talassémia, β^+ -talassémia, $\delta\beta$ -talassémia, Hb Lepore e persistência hereditária de Hb Fetal (PHHF). Um aumento ligeiro ou moderado, também se pode encontrar na β -talassémia menor.²¹

O teste clássico de desnaturação alcalina baseia-se no facto de muitas Hbs se desnaturarem quando expostas a fortes álcalis, o que não acontece com a HbF. É um teste exacto e preciso nas quantificações de HbF $< 15\%$, porque a concentrações superiores há uma sub-valorização. É também utilizável no esclarecimento das co-eluições da HPLC.²¹

A técnica de eluição ácida em lâmina de Kleihauer-Betke, baseia-se no facto da HbA ser eluída dos eritrócitos, enquanto que a HbF permanece dentro da célula. É uma técnica fastidiosa e vem sendo abandonada, até porque a citometria de fluxo pode tornar-se a técnica padrão para a determinação de HbF.⁴

Num contexto de HGM < 27 pg, com um aumento isolado de HbF $> 5\%$, a possibilidade de identificação de uma heterozigotia $\delta\beta$ -talassémia deve ser equacionada, e deve ser recomendado o rastreio do progenitor masculino.²¹

Por outro lado, uma PHHF deve ser considerada num quadro que inclua valores elevados de HbF e HGM normal.²¹

10.8. HPLC

A sua automatização, sensibilidade e rapidez de execução, levam muitos países, com pesada casuística, a utilizarem esta técnica como a de primeira escolha, para o diagnóstico das hemoglobinopatias.^{21,51}

Utiliza uma coluna de intercâmbio iónico com um gradiente pré-programado que vai aumentando a força iónica da fase móvel, para separar as variantes de Hb existentes. O tempo de retenção, característico de cada variante, é o tempo que decorre desde que se injecta a amostra até que se obtém o ponto máximo de cada pico.⁵²

A capacidade resolutiva desta técnica permite separar e identificar as Hbs A, A₂, F, S, C e D-Punjab e G-Filadélfia.^{21,52}

Embora as quantificações de HbA₂ sejam muito exactas por esta técnica, tanto a HbE como a Hb Lepore e variantes da HbS podem eluir-se com ela, do mesmo modo que outras Hbs podem ser co-eluídas com as Hbs A, S e F, vindo a ser necessário o uso de outras técnicas para diferenciação e confirmação.²¹

A quantificação de HbF, por HPLC, tem a desvantagem da separação excluir os derivados pós-translacionais, como a F₁ (acetilada) e a F₁₁, o que pode subestimar níveis elevados de HbF, de uma forma significativa.²¹

Outra desvantagem da HPLC, reside no facto de também separar a HbA_{1c}, o que pode causar dificuldade na interpretação dos resultados.²¹

10.9. IEF

É uma técnica relativamente barata e muito satisfatória para a análise de amostras de sangue total, hemolisados ou sangue seco. Pode ser semi-automática permitindo a análise de um grande número de amostras.²¹

Proporciona uma boa separação da HbF, HbA e de outras variantes clinicamente significativas (Hbs S, C, D-Punjab, E e O-Arab). No entanto, não está validada para a

quantificação da HbA₂ e tem a desvantagem de separar as Hbs nos seus derivados pós-translacionais o que dificulta a interpretação dos resultados.²¹

Tanto a HPLC como a IEF possuem uma sensibilidade excelente, no entanto, a interpretação dos resultados pode ser dificultada pela prematuridade do recém-nascido e por transfusões sanguíneas prévias.⁵⁰

10.10. Técnicas de Imunoensaio

Parecem ser tecnologias promissoras para identificação de Hbs. Hoje já existem kits de imunoensaio para Hbs A, S, C e E, mas ainda se aguardam melhorias, visto não serem muito fiáveis.

Para as Hbs clinicamente mais relevantes, o nível de detecção que apresentam pode ser a abaixo de 10%, para umas, e de menos de 5% para outras.²¹

10.11. Espectrometria de massa

Usa sangue total e por análise das diferenças de massa das cadeias de globina, detecta as substituições singulares de aminoácidos nessas cadeias.⁴

Complementa as descobertas feitas com base nas electroforeses.⁴

10.12. Determinações bioquímicas

✓ de bilirrubina indirecta no soro

Evidencia a existência de hemólise.⁴

✓ de siderémia

Despista uma anemia ferropénica.⁴

10.13. Estudos Moleculares

As técnicas moleculares conseguem identificar os genes mutantes das cadeias globínicas e usam-se em situações de difícil diagnóstico, para aconselhamento genético e em diagnóstico pré-natal (DPN), especialmente quando as mutações genéticas dos pais são conhecidas ou suspeitadas, por serem as mais frequentes em certos grupos étnicos, o que permite organizar painéis de *micro-chips*, com sondas dirigidas às mutações mais frequentes.^{4,10,53}

Surgida nos anos 80, a técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), constituiu-se como o ponto de partida para outras técnicas que, hoje em dia, detectam as mutações por análise directa do DNA fetal e que apesar de dispendiosas estão já muito divulgadas e disponíveis em sistemas analíticos semi-automatizados. São disso exemplo: a ARMS (*Amplification Refractory Mutation System*), que se esgota quando as mutações, a pesquisar, são muito complexas; a RDB (*Reverse Oligonucleotide-probe Analysis*), que melhora a informação e a eficiência da pesquisa; e a PCR em tempo real que, num só tempo, usando sondas de hibridação fluorescentes e análise de curvas de *melting*, tem a vantagem de detectar, em simultâneo, mutações múltiplas e contaminação materna, se a amostra forem células de trofoblasto ou de líquido amniótico, colhidas num DPN.^{53,54}

Quando não há nenhuma pista a seguir, têm de se usar métodos alternativos, de forma a rastrear todo o gene. São possíveis: a DGGE (*Denaturing gradient gel electrophoresis*); a dHPLC (*Denaturing High Pressure Liquid Chromatography*); e a SSCP (*Single Strand Conformation Polymorphism*), seguidas de sequenciação directa, análise que permite caracterizar a mutação detectada pelos métodos de rastreio.^{53,54}

Se a mutação não for detectada pelas análises de sequenciação, faz-se a pesquisa de pequenas deleções, por electroforese em gel de poliacrilamida, de *amplicons* escolhidos para as mais frequentes deleções do gene da cadeia globínica. As grandes deleções do agrupamento génico podem ser identificadas por Southern-blotting ou, mais recentemente, por MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), para o que já existem kits comerciais.^{53,54}

11. TERAPÊUTICA DE HEMOGLOBINOPATIAS

Na drepanocitose, terapêuticas de suporte, imunizações e antibioterapia profilática iniciadas na infância, transfusões de concentrados eritrocitários e transplante de medula óssea, têm permitido aumentar a esperança de vida a estes doentes. Manter uma boa hidratação, reduz os episódios de vaso-oclusão. Evitar esforço físico exagerado, altitude e viagens aéreas sem pressurização, obvia a falciformação. Profilaxia com penicilina e antibioterapia agressiva perante qualquer sinal de infecção, bem como, nos menores de 6 anos, a imunização contra infecções pneumocócicas, reduzem a morbidade e a mortalidade.^{4,31}

Vários fármacos como a 5-azacitidina (agente hipometilante), o butirato de sódio (inibidor de histona desacetilase) e a hidroxiureia têm por diferentes mecanismos, a capacidade de reactivar os genes γ e elevar a produção de HbF, que não co-polimeriza com a HbS. A toxicidade dessas drogas limita a sua utilização e a hidroxiureia é a única aprovada pela FDA, para uso pediátrico, desde 1998. Estudos multicêntricos têm demonstrado que, quando os doentes respondem, ela é altamente efectiva na redução das crises dolorosas, na síndrome torácica aguda e nas necessidades transfusionais, reduzindo a mortalidade em cerca de 40%.^{4,10}

A hidroxiureia, cujo mecanismo de acção ainda não está completamente esclarecido, é um inibidor da ribonucleótido redutase e tem sido usada, desde 1960 como terapia de doenças mieloproliferativas. Por esta acção mielossupressora consegue baixar, não só os reticulócitos, como os leucócitos circulantes e também os aderentes ao endotélio das pequenas vénulas, diminuindo, deste modo, os fenómenos de vaso-oclusão e reduzindo a inflamação local. É também capaz de produzir NO *in vivo*, afectar a hidratação dos eritrócitos e a sua adesão ao endotélio.^{10,28}

Subsiste alguma reserva quanto ao seu uso a longo prazo, no que respeita ao seu potencial carcinogénio.^{10,28,55}

O aumento da produção de HbF na β -talassémia poderia ser também uma hipótese terapêutica, mas poucos casos respondem à hidroxiureia. Como aqui o excesso é de cadeias α , terapias que possam suprimir a expressão dos genes α seriam a melhor ajuda ao controlo da gravidade da doença.¹⁰

O uso de inibidores da enzima conversora da angiotensina demonstrou sucesso na preservação da função renal. Estudos preliminares observaram estabilização da doença pulmonar crônica e redução do priapismo com inibidores da 5-fosfodiesterase.⁵⁶

Há ainda ensaios com agentes que impedem a desidratação do eritrócito, tais como o magnésio e bloqueadores do canal Gardos, como o clorotrimazol, que ainda está na fase de experimentação animal.⁵⁶

Nas talassémias a terapêutica passa por politransfusões sanguíneas regulares para manter os níveis mínimos de hemoglobina entre 9,5 e 10 g/dL e o uso de agentes quelantes do ferro, porque a sobrecarga inicia-se após transfusão de 10 a 20 concentrados de eritrócitos. Os quelantes do ferro são pequenas moléculas que têm por função ligar-se ao ferro lábil formando complexos quimicamente inertes que serão removidos do organismo. Cada átomo de ferro tem seis locais electroquímicos de coordenação. Para formação de complexos com o ferro e sua eliminação, há quelantes cuja molécula tem capacidade de ligação aos seis locais do ferro – são os hexadentados. Outros, necessitam de três ou duas moléculas para neutralizar uma molécula de ferro – são os bidentados e os tridentados, respectivamente.⁵⁷

Os esquemas terapêuticos podem ser em monoterapia, terapia alternada ou combinada, esta última sequencial ou simultânea. Presentemente, existem no mercado a desferroxamina para uso parentérico e o deferiprone e o deferasirox para uso oral. Outros quelantes estão ainda em fase experimental, como o 4OSDO2, em que a ligação da desferroxamina (DFO) ao hidro-etil-amido vai formar uma molécula de alto peso molecular com semi-vida de vários dias e o GT56-252 como quelante oral.⁵⁷

A DFO é um quelante hexadentado de 1ª linha com alta afinidade para o ferro livre, em que cada molécula de DFO se liga a um átomo de ferro (1:1) formando um complexo estável a ferrioxamina, distribuído pelo espaço extracelular e incapaz de penetrar nas células. É tão eficaz a nível hepático como cardíaco, mas é o agente recomendado para o tratamento da lesão cardíaca. No mercado desde 1963, apresenta como efeitos adversos a espoliação de zinco e reacções no local de punção uma vez que, ao ter uma semi-vida curta de 20 a 30 minutos, é administrado, geralmente, por via subcutânea, durante 8-12h diárias e 5-7 vezes por semana através de uma bomba infusora. A via endovenosa permite doses mais elevadas para usar em situações de urgência, mas é

sempre demorada, cerca de 12-16h. São possíveis associações terapêuticas com a deferiprona (L1).⁵⁷

A L1 é um quelante oral de 2ª linha, bidentado (3:1), utilizado desde 1982 para uso exclusivo em doentes portadores de β -talassémia, em que a DFO não seja possível. A administração faz-se por via oral em três tomas diárias. Não tem grande efeito a nível hepático dada a sua rápida gluconização no fígado. De entre os efeitos adversos salienta-se a espoliação de zinco, principalmente em doentes diabéticos e pré-diabéticos, a artrite e a possibilidade de agranulocitose que exige uma vigilância hematológica semanal.⁵⁷

O deferasirox é um quelante oral de 1ª linha, tridentado (2:1), utilizado desde 2005, que pela sua longa semi-vida, de 11-16h, permite uma só toma diária. Tem uma eficácia semelhante à da DFO com a vantagem de não induzir a excreção de outros iões como o zinco ou o cobre ou alterações hematopoiéticas. Em contrapartida, os seus efeitos colaterais passam por distúrbios gastrointestinais, raras opacidades do cristalino, perda de audição e frequentes aumentos de creatinina e transaminases séricas, que exigem monitorização periódica a par da ferritina. Não está indicado para terapêuticas combinadas.⁵⁷

A sobrecarga de ferro cardíaco monitoriza-se através da ressonância magnética T2* que, para este efeito, é a técnica de referência. Correlaciona-se com a diminuição da fracção de ejeção do ventrículo esquerdo, sendo esta tanto mais grave quanto menor for a T2*. Avalia-se em milissegundos, considerando-se valores normais $T2^* \geq 20$ ms, de sobrecarga ligeira entre 20 e 14 ms, moderada entre 14-10 ms e grave se ≤ 10 ms. O T2* não se correlaciona com o ferro hepático nem com a ferritina.^{1,10,57}

Valores baixos de hepcidina, em doentes politransfundidos, podem ser indicadores de sobrecarga parenquimatosa de ferro e como parece que, nas síndromas talassémicas, há uma inibição da expressão de hepcidina, este achado será outro potencial alvo terapêutico que, nesta doença, poderá ser controlado mediante a administração de hepcidina sintética, ou de agentes que aumentem a sua expressão.^{10,57}

Para todas as hemoglobinopatias, estudos multicêntricos têm revelado que o transplante alogénico de células hematopoiéticas de doadores relacionados e HLA-compatíveis resulta numa taxa de sobrevivência superior a 90% e de sobrevivência livre de eventos de 85%. É a opção de cura para quem tiver um doador compatível na família, especialmente em doentes com menos de 16 anos, que ainda não acumularam as disfunções orgânicas que levam ao insucesso do transplante em doentes mais velhos. O grande problema é que a maioria dos doentes não dispõe de doadores compatíveis relacionados e as outras alternativas como os doadores compatíveis não-relacionados ou as células hematopoiéticas de sangue do cordão não têm sido bem sucedidas.^{10,28,31}

Recentemente denominadas por terapias de reparação proteica, estas terapias génicas têm por finalidade utilizar moléculas específicas para repor a funcionalidade normal da proteína mutada. No que respeita à terapia génica, permanece ainda por desenvolver um sistema eficaz de transferência génica que possibilite a expressão da proteína terapêutica, no tempo/espço e nas quantidades necessárias, para que seja capaz de transformar um indivíduo doente num indivíduo saudável. O aprofundar dos conhecimentos básicos da biologia da célula/tecido e da sua complexa relação com o organismo como um todo, é sem dúvida um factor essencial para o sucesso da terapia génica. O esclarecimento dos efeitos funcionais da proteína anómala, que se pretende substituir e/ou silenciar através da terapia génica, parece também ser um factor fundamental para o seu desenvolvimento.⁵⁸

Vectores virais como os retrovírus, lentivírus, adenovírus, vírus adeno-associados e herpes vírus que poderão corrigir a mutação ou os seus efeitos e que se integram permanentemente no genoma hospedeiro têm sido investigados, em modelos animais, para células estaminais,

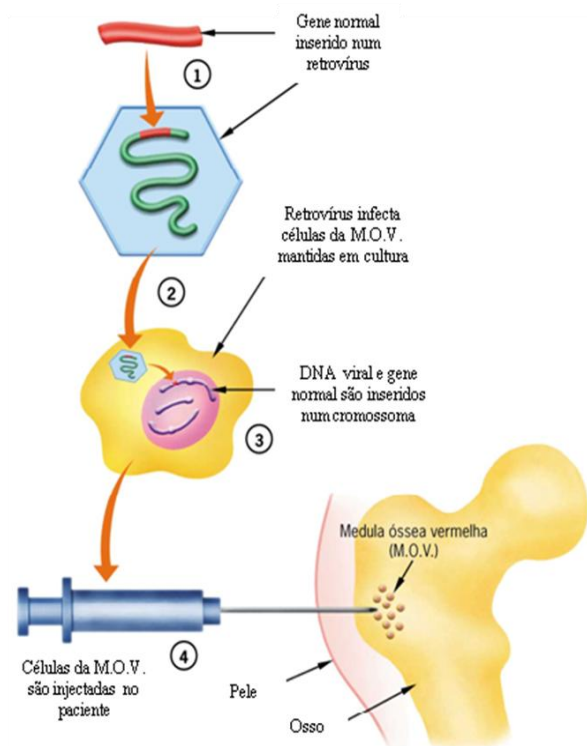


Figura 13 – Esquema de terapia génica utilizando um retrovírus.⁵⁹

mas a sua instabilidade e a dificuldade de integração nesse tipo celular têm sido os principais obstáculos ao seu avanço. Outras abordagens, como o silenciar do gene β^S por RNA de interferência, ou a recombinação homóloga para substituição do gene β^S pelo gene β^A , estão a ser desenvolvidas.^{10,60}

São técnicas promissoras, que ainda requerem melhoria nos métodos de transferência génica e demonstração de eficácia em modelos animais, mas que no futuro virão a corrigir estes defeitos, até porque já se vai sabendo, com precisão, onde eles residem, como é o caso do gene responsável pela variabilidade dos níveis da HbF, que se localiza na região 6q23 e se designa por MYB.²⁸

As β -talassémias, a drepanocitose e outras hemoglobinopatias, sendo patologias monogénicas, possuem um elevado potencial de intervenção genética com sucesso, podendo alcançar-se a cura com a introdução ou correcção de um único gene no compartimento hematopoiético ou uma única célula estaminal.⁶⁰

Também se deve ter em consideração que estes doentes apresentam preocupações relacionadas com o crescimento, aprendizagem, integração profissional, apoio social e dificuldades económicas.¹

12. POLÍTICAS DE RASTREIO E DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATIAS NO MUNDO

Historicamente, a maioria das crianças portadoras de hemoglobinopatias morria das suas complicações durante a primeira década de vida. Recentes e importantes avanços têm promovido o aumento da sua sobrevivência e melhorado significativamente a sua qualidade de vida. Uma melhor compreensão da etiologia e dos mecanismos da anemia, o diagnóstico mais precoce, as novas abordagens terapêuticas e um melhor controlo da sobrecarga de ferro, resultante das repetidas transfusões, tem alterado o curso destas doenças e já há casos bem sucedidos, de gestantes com β -talassémia major que, com a ajuda dos actuais recursos terapêuticos, conseguem atingir uma gravidez de termo, para o que é imperativo uma função cardíaca normal e níveis de Hb na ordem das 10 g/dL.^{10,46}

As hemoglobinopatias, que estão entre as doenças hereditárias mais comuns no mundo, aumentam devido à migração e miscigenação entre pessoas provenientes de regiões endêmicas, onde as taxas de prevalência de portadores heterozigóticos oscilam entre 5 e mais de 30%, de acordo com o ponto geográfico de origem.⁶¹

Podem tornar-se num relevante problema de saúde pública e de prática clínica, exigindo o envolvimento de muitos profissionais de saúde necessários à aplicação de terapêuticas e à implementação de programas de medicina preventiva que deverão ser ajustados à prevalência que a doença apresente nas populações. Estes últimos podem desenvolver-se a vários níveis, como seja o aconselhamento genético pré-concepcional de adultos portadores, de forma à identificação precoce dos casais em risco, e os diagnósticos pré-natal e neonatal.⁷

Por todo o Mundo, países dos vários continentes, com diferentes prevalências das diversas hemoglobinopatias têm desenvolvido políticas de saúde pública, naturalmente mais ou menos limitadas de acordo com a capacidade económica que detenham, mas sempre com o objectivo de exercerem uma medicina preventiva, de identificação dos riscos de transmissão da doença e de redução da morbimortalidade, através de um diagnóstico e terapêutica precoces.

12.1. Portugal

No nosso país, a distribuição das hemoglobinopatias é heterogénea, com zonas de maior prevalência no Centro e Sul do país. As diferenças entre o Norte e o Sul podem ser devidas a vários factores de entre os quais avultam as migrações provenientes da região mediterrânica e certos condicionamentos locais ligados a uma maior prevalência de paludismo nos vales dos rios Sado, Guadiana e Tejo e condições mais favoráveis ao povoamento. Na realidade, as 4 mutações β mais comuns na região mediterrânica são também as mais frequentes em Portugal: β^0 CD39 (CAG-TAG), β^0 IVSI-1 (G-A), β^0 IVSI-1 10 (G-A), β^+ IVSI-6 (T-C) e ainda a β^0 CD15 (TGG-TAG). As deleções α descritas no nosso país são do tipo α^+ ($\alpha 3.7$ e $\alpha 4.2$), sendo muito rara a ocorrência de deleções α^0 , sobretudo entre a população autóctone.^{23,33}

Em 1986, Portugal criou o Programa Nacional de Controlo das Hemoglobinopatias (PNCH), em cooperação com a OMS e o INSA, tendo como objectivos a prevenção, o diagnóstico e o tratamento das formas graves das hemoglobinopatias. Definiu como população alvo os habitantes dos Distritos de Beja, Évora, Faro, Leiria, Lisboa, Santarém e Setúbal e os imigrantes provenientes de regiões do globo com alta prevalência desta patologia: países africanos, sub-continentes indiano, Timor e Brasil.⁷

As recentes alterações demográficas inerentes à migração interna no país e ao acolhimento de imigrantes provenientes não só daqueles países, mas também da Europa de Leste e da Ásia, áreas com prevalência de hemoglobinopatias geneticamente distintas, conduziu, em 2004, à revisão da metodologia até aí utilizada, na detecção de casais em risco de terem filhos com formas graves destas doenças e no estabelecimento de apoios adequados aos mesmos, e às respectivas famílias, através de consultas de aconselhamento genético e de DPN.⁷

Tendo por base estas considerações, a Direcção-Geral de Saúde, recomenda que seja proposta a pesquisa de hemoglobinopatias a todas as mulheres em idade reprodutiva, em particular, nas consultas de planeamento familiar, pré-concepcional ou, com carácter de urgência, na 1ª consulta da gravidez, com a seguinte metodologia:⁷

A detecção de portadores de hemoglobinopatias é feita com base no hemograma e no estudo das hemoglobinas, que compreende uma electroforese de Hbs e a quantificação de HbA₂ e HbF, preferencialmente, por técnicas de HPLC. Quando há suspeita de α -talassémia, a confirmação só poderá ser feita por técnicas de biologia molecular.⁷

A análise dos resultados deve ter em consideração que a alteração da Hb e/ou VGM e/ou HGM com os valores de HbA₂, HbF e electroforese de Hb normal, não exclui a hipótese de se tratar de uma hemoglobinopatia. Se houver hemoglobinopatia no outro elemento do casal, está indicado o estudo molecular dos genes globínicos para a pesquisa de α -talassémia ou de β -talassémia com HbA₂ normal. Do mesmo modo, sempre que for detectado um portador, deve ser proposto e incentivado o estudo dos familiares em idade fértil.⁷

A Circular Normativa determina ainda que o rastreio das hemoglobinopatias não deve ser realizado a crianças, salvo em situações clínicas que o justifiquem.⁷

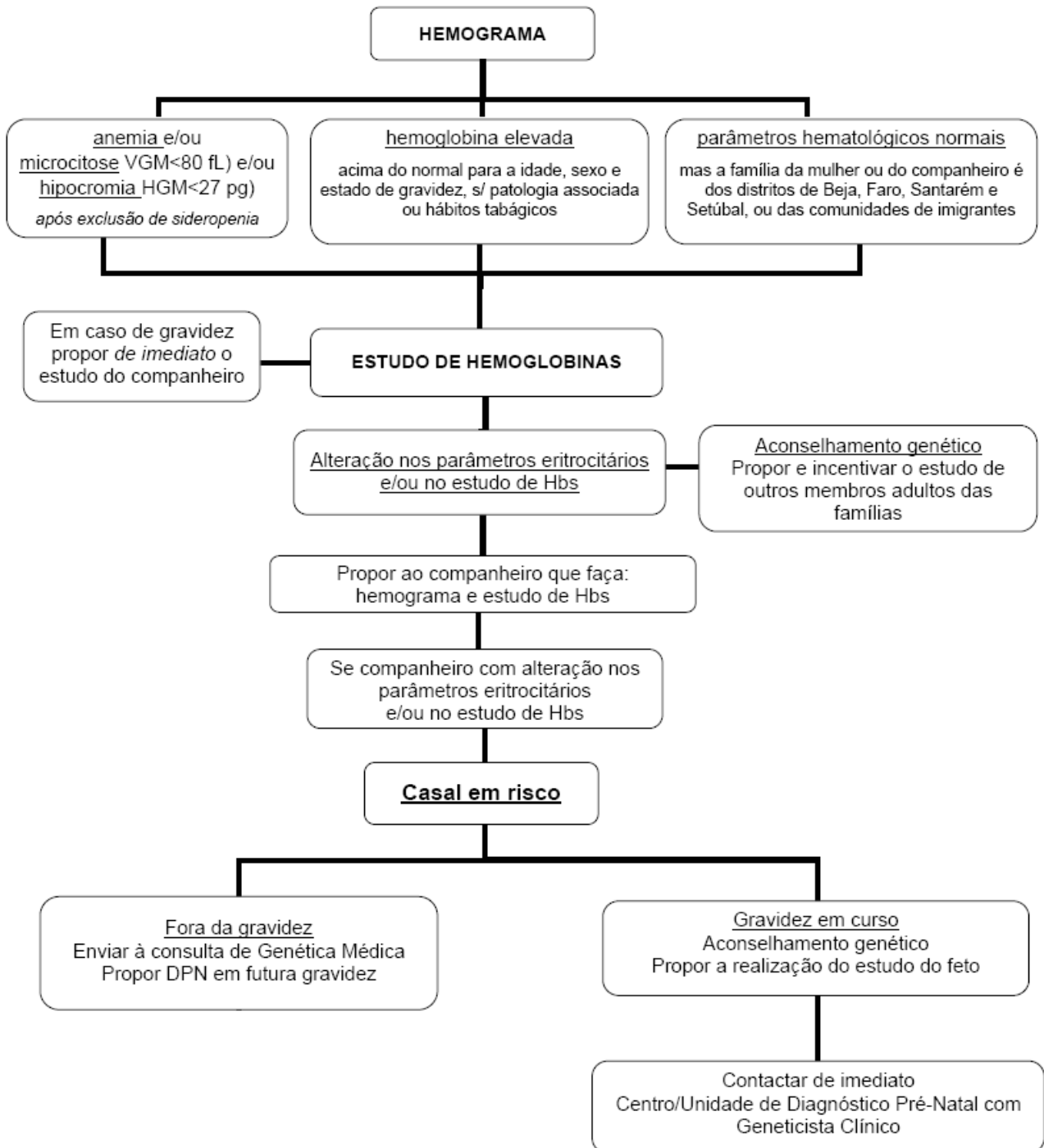


Figura 14 – Orientação para prevenção de hemoglobinopatias em Portugal⁷

12.2. Espanha

Como o fenómeno da imigração em Espanha tem aumentado muito com a maioria dos imigrantes pertencentes a populações de risco para as diversas hemoglobinopatias, a Comunidade Autónoma das Ilhas Baleares fez um estudo piloto anónimo e não relacionado, no ano de 2007, em 6.756 amostras e sob o patrocínio da Associação

Espanhola de Rastreio Neonatal. A pesquisa foi acrescentada ao rastreio de hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria e fibrose cística, já em curso, e executada por HPLC. Concluíram que a incidência global das variantes de Hb foi de 9,9 ‰ recém-nascidos analisados, com uma incidência de drepanocitose (fenótipo FS) de 0,15 ‰ casos analisados e de portadores (fenótipo FAS) de 5 ‰. Perante estes resultados defendem que estas doenças cumprem com os critérios estabelecidos, em 1975, pelo *Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism, Genetic Screening* e que deve respeitar os seguintes 6 pontos: 1. a doença cursa com morbidade mental ou física grave, ou mortalidade, se não se diagnostica no período neonatal; 2. um simples exame físico não identifica a doença nesse período; 3. tem um tratamento efectivo disponível; 4. o tratamento precoce melhora significativamente o prognóstico; 5. a doença tem uma incidência relativamente elevada, superior a 1 em cada 10.000 a 15.000 recém-nascidos, e 6. existe um teste analítico de rastreio, rápido, simples, fiável e de baixo custo.⁵²

Todas as Comunidades Autónomas Espanholas efectuam programas de rastreio neonatal, mas só duas, Madrid e Catalunha, vêm fazendo estudos de prevalência das hemoglobinopatias.⁵²

Os últimos dados de Madrid, num estudo universal de 2007, sobre uma amostra de 190.238 recém-nascidos, revelou uma incidência de homocigóticos para a drepanocitose, de 0,14 ‰ e a de portadores, de 3,9 ‰ casos. Na Catalunha, um estudo selectivo de 2006, não detectou nenhum homocigoto para drepanocitose, numa amostra de 1.569 recém-nascidos de população nativa e na de imigrantes foi de 1,23 ‰, pelo que sugerem que o rastreio desta doença só seja feita em populações de risco.⁵²

12.3. Itália

No início dos anos 60, Silvestroni e Bianco introduziram na região do Lazio, o Centro de Itália que compreende as províncias de Frosinone, Latina, Rieti, Roma e Viterbo, um programa de prevenção de talassémias que, de tão bem sucedido, fez com que, desde 1993, a incidência da β -talassémia major seja, virtualmente, de zero na população nativa e que, desde 1994, toda a população nativa esteja abrangida pelo programa. Privilegiaram a informação e o despiste de portadores, para que os casais de risco pudessem decidir antes que ocorresse uma gravidez ou dispor de acompanhamento precoce no rastreio pré-natal que os ajude a tomar decisões, embora o possam recusar.⁴⁷

A campanha de prevenção é universal e começa nas escolas secundárias, por volta dos 13 anos de idade, onde se faz uma explicação teórica, em sala de aula de biologia, para depois e através de uma prova visual de fragilidade osmótica e observação da morfologia eritrocitária, se obter um primeiro despiste de eventuais portadores. A existirem, os parentes também são examinados através de contagens hematológicas, determinações de ferro e ferritina séricas, separações electroforéticas e identificações por HPLC e técnicas de biologia molecular, como a sequenciação directa dos genes que codificam para as cadeias de β -globina e outras, com o apoio do Centro de Referência de Leiden.⁴⁷

Os últimos dados revelaram: 22,2% de portadores de β -talassémias; 50,25% de portadores suspeitos de α -talassémias; 13,06% com HbS; 3,7% com HbF; 1,64% com HbC e 4,18% portadores de variantes raras de Hb. Os 4,97% restantes, dizem respeito a situações graves, resultantes de associações com HbS, HbC, HbE, α^0 -talassémia e mutações raras de β -talassémias.⁴⁷

Embora ainda não sejam feitas Campanhas de Prevenção dirigidas a grupos étnicos, através do rastreio universal, e no período entre 2002-2007, perceberam que os estudantes, provenientes de 140 nações diferentes, representavam 8,2% do total da população estudantil e que a adesão das suas famílias aos estudos complementares foi da ordem dos 64%, maior do que nos nativos, o que revela que não se sentem estigmatizados pela doença.⁴⁷

12.4. África

As hemoglobinopatias são as doenças autossómicas recessivas mais comuns no homem, porque os portadores estão protegidos da mortalidade infantil devida à malária. Esta vantagem contribuiu para que tivesse havido uma forte selecção em todas as áreas tropicais e sub-tropicais do mundo e, apesar de só 17,8% do total dos nascimentos ocorrer em África, mais de 70% de todas as hemoglobinopatias aí ocorrem em cada ano, sendo que 85% são anemia de células falciformes e 3,5% são β -talassémia major, só a esta última correspondem mais de 1.500 novos casos por ano. A maior parte das α -talassémias não existe em África.^{1,47}

Numa população de 87 milhões, os 5 países do Norte de África: Mauritânia, Marrocos, Argélia, Tunísia e Líbia, apresentam taxas de nascimento que vão dos 16,8 a 40,9% dos habitantes.¹

Muitas das crianças afectadas não atingem os 10 anos de idade e os hábitos sociais de endogamia e elevada consanguinidade, que nos meios rurais ultrapassa os 70%, apontam para que a intervenção se deva fazer através de: 1. Activa sensibilização da população, especialmente junto dos jovens; 2. Obrigação de ter o estudo da Hb como teste pré-marital; 3. Fornecer aconselhamento gratuito a casais de risco; 4. Estender o rastreio neonatal a todas as regiões de risco; e 5. Manter actualizados os registos de hemoglobinopatias detectadas para acções de prevenção prospectivas.¹

12.5. Holanda

Comparativamente com há 10 anos atrás, existe uma melhoria substancial na abordagem a esta problemática. O seu atraso ficou a dever-se não à falta de meios, mas à falta de estratégia, por ser um país não endémico para as hemoglobinopatias, e que passou a ter uma nova situação de saúde pública para resolver.⁴⁷

Começou por seguir um protocolo alemão de despiste de portadores que apenas contemplava as pessoas que, tendo anemia microcítica, não corrigiam com a terapêutica marcial. Logo aqui ficavam por diagnosticar a maior parte de portadores de HbS, C e D o que representava cerca de 230 casais por ano.⁴⁷

Depois de um estudo piloto de controlo às primeiras gestações, na cidade de Gouda, a Holanda iniciou, no dia 1 de Janeiro de 2007, na cidade de Haia, um rastreio neonatal com recurso a HPLC, a par do despiste das metabolopatias do recém-nascido. Também aqui, durante 2 anos, houve uma sub-avaliação de casos de α -talassémia, porque alguns laboratórios de triagem consideraram como sendo normais, valores de 1-2% de HbA, em recém-nascidos não prematuros, quando o valor normal é de 20%.⁴⁷

Embora não esteja, ainda, definido se interessa apenas identificar os doentes ou se também os portadores e os rastreios em escolas estejam apenas a ser ponderados para as grandes cidades, a vigilância dos grupos étnicos e a aposta no controlo precoce das gravidezes parecem ser as iniciativas mais promissoras.⁴⁷

12.6. Reino Unido

Em 1972, foram os investigadores britânicos os primeiros a rastrear a presença de HbSS no sangue do cordão de recém-nascidos, observando os resultados obtidos nas técnicas de separação electroforética, em meio ácido e alcalino. A adesão da população, a este Programa, foi de apenas 45%.⁵⁰

Como no Reino Unido as hemoglobinopatias já são, também um significativo problema de saúde pública e há uma oferta crescente de métodos de diagnóstico, foi preciso estabelecer *guidelines* para o seu rastreio e diagnóstico.²¹

Essas *guidelines* publicadas *online* a 13 de Janeiro de 2010, foram elaboradas por compilação e revisão de vária documentação existente, desde 1988, e após ampla discussão no meio académico, científico e social.²¹

Definem que a identificação presuntiva de hemoglobinopatia deve apoiar-se num mínimo de duas técnicas com fundamentos diferentes e que a identificação definitiva se faça por estudos moleculares, espectrometria de massa ou sequenciação proteica. Os estudos familiares são também importantes para elucidar sobre a natureza da alteração da síntese da Hb e estão bem definidas as várias fases de intervenção.²¹

12.6.1. Rastreio pré-concepcional

O teste pré-concepcional é recomendado em grupos de risco, nomeadamente em grupos étnicos com significativa prevalência para a HbS (africanos, sul americanos, gregos, italianos entre outros), α^0 -talassémias (chineses, cipriotas, turcos entre outros) e β -talassémias (todos os grupos étnicos).²¹

O teste pré-concepcional é importante porque pode ser difícil o rastreio pré-natal, feito nas primeiras 12 semanas de gestação, se o casal não tiver consciência do risco.²¹

É aqui que os clínicos devem estar alerta para a possibilidade dos elementos do casal serem portadores de hemoglobinopatias e necessitarem de testes de rastreio para um, ou para ambos, os progenitores.²¹

Estes testes devem ser realizados em mulheres com problemas de fertilidade que necessitem de reprodução assistida. Se a mulher for portadora de uma hemoglobinopatia significativa, o parceiro ou o dador de esperma deve ser testado e facultado o necessário aconselhamento. Do mesmo modo, dadoras de óvulos devem ser avaliadas para as hemoglobinopatias clinicamente relevantes.²¹

Contrariando esta perspectiva, no Reino Unido, existem alguns religiosos/grupos étnicos que defendem como mais aceitável o rastreio pré-matrimonial em detrimento do rastreio pré-concepcional ou pré-natal.²¹

12.6.2. Rastreio pré-natal

O procedimento recomendado difere consoante se esteja numa área de alta ou de baixa prevalência de drepanocitose e talassémias.²¹

Em áreas de elevada prevalência o rastreio inclui um questionário para avaliar a origem familiar e deve iniciar-se pela execução de um hemograma e HPLC ou outra técnica alternativa, adequada à análise de amostras de sangue materno. Idealmente, os testes efectuados às mulheres devem estar concluídos antes das 11 semanas de gestação e quando for necessária a avaliação do parceiro, ela deve estar finalizada nas primeiras 12 semanas de gestação.²¹

Para áreas de baixa prevalência, o rastreio é baseado na avaliação individual do risco, ao determinar a origem familiar da mulher e do seu parceiro. O hemograma deve ser avaliado da mesma forma que para as áreas de elevada prevalência, mas a caracterização da Hb fica confinada a mulheres cuja própria origem familiar ou do pai da criança, não seja o Norte da Europa ou seja desconhecida.²¹

Mesmo para as mulheres que apenas sejam avaliadas no final da gravidez, o rastreio justifica-se porque os seus resultados poderão ser relevantes tanto naquela como em outras futuras gestações.²¹

12.6.3. Rastreio neonatal

A política do Comité Nacional de Rastreio do Reino Unido impõe que seja pesquisada a drepanocitose a todos os recém-nascidos. Esse despiste também se estende a todos os bebés com menos de um ano e que sejam recém chegados ao país.²¹

Este programa também detecta as β -talassémias major e intermédia, utilizando os métodos analíticos actualmente disponíveis. Adicionalmente, a constatação de apenas HbF no recém-nascido ou de uma percentagem muito baixa de HbA (<1.5%) permite identificar, na maioria dos recém-nascidos, a β -talassémia major.²¹

12.6.4. Rastreio Pré-Operatório

A detecção de drepanocitose antes de qualquer anestesia é importante. Todos os pacientes oriundos de regiões com alta prevalência de HbS devem ser submetidos a testes de rastreio. A presença de doença ligeira ou mesmo de HbS em heterozigotia deve ser previamente conhecida, uma vez que pode influenciar a utilização das técnicas de anestesia, porque os baixos níveis de O₂ podem induzir a falciformação dos eritrócitos.²¹

Em operações programadas de rotina, o hemograma e a análise da Hb, utilizando HPLC ou um método alternativo, devem ser executadas. Em situações de emergência deve ser efectuado um hemograma e um teste de solubilidade.²¹

12.7. Brasil

Mediante estudos realizados na população brasileira estima-se que, em 2008, existiam cerca de 10 milhões de pessoas portadoras de Hbs anormais, e que por ano nascem, aproximadamente, 3 mil pessoas com homozigotia.⁶²

Só para portadores de β -talassémia, na população caucasiana, a frequência média é da ordem de 1%. No Sudeste brasileiro é a mutação β^0 CD39 a mais responsável pela doença, com frequências que atingem os 50 e 60%, e a que corresponde uma forma clínica grave. Na região do Nordeste pontifica a mutação β^+ -IVSI-6, denominada do tipo português, e a que corresponde uma evolução clínica mais benigna.¹⁰

O gene da HbS foi introduzido no Brasil pelo tráfico de escravos e se, no Sudeste do país, a prevalência média de heterozigotos, em população mista, é de cerca de 2%, no Nordeste pode chegar aos 6%.⁶³

Perante este problema de saúde pública e como medida de prevenção e controlo das hemoglobinopatias, o Programa Nacional de Triagem Neonatal, instituído no Brasil pelo Sistema Único de Saúde, passou a incluir, por determinação da Portaria do Ministério da Saúde nº 822/01, de 6 de Junho, a triagem destas doenças a par de outras três doenças genéticas – a fenilcetonúria, o hipotiroidismo congénito e a fibrose cística – através do “teste do pézinho”, realizado, em grande parte, nas maternidades do país.⁶²

As crianças que neste teste de triagem neonatal ainda não apresentem HbA, devem ser reavaliadas após 6 meses ou ao ano para esclarecer, por electroforese, se não são portadores de uma qualquer forma de talassémia ou se apenas eram prematuros.^{46,62}

Após a identificação dos doentes, é imprescindível que haja um adequado e regular acompanhamento clínico e defendem que o primeiro interveniente deve ser o pediatra, a quem compete iniciar a terapêutica profilática ao recém-nascido e o aconselhamento genético aos pais, antes que se inicie o acompanhamento por especialista.^{10,62}

12.8. Estados Unidos da América

Depois de Kohn ter afinado as técnicas de separação electroforética das Hbs, aconteceu que Garrick conjuntamente com Guthrie, o autor do Programa de Despiste de Erros Metabólicos no Recém-nascido, percebeu que a eluição do sangue seco em papel de filtro (Cartão de Guthrie), podia ser usado nas técnicas electroforéticas. Estavam em 1973 e o grande desafio que tiveram de enfrentar foi o de evitar a degradação oxidativa da Hb, que ocorre ao fim de alguns dias neste tipo de amostra e que, gerando bandas extra, complicava a interpretação dos resultados. Idealmente, as amostras devem ser processadas dentro das 72 horas após a colheita. Vencida esta dificuldade, em Abril de 1975, o Estado de New York foi o primeiro a usar esta metodologia para despistar, de forma universal, a existência de HbSS e tornou-se o primeiro programa federal a ter por objectivo o despiste de uma doença genética, com suporte legal de 16 de Maio de 1972, entendida que foi a sua importância na saúde pública. Nesse mesmo ano, foi criado o Laboratório de Referência para as Hemoglobinopatias destinado a elaborar normas e

protocolos analíticos de forma a padronizar, harmonizar e a controlar a prática dos diversos laboratórios que foram começando a estudar as hemoglobinopatias. Esta actividade manteve-se até 1993, altura em que deu lugar ao Laboratório de Garantia da Qualidade para o Rastreio em Recém-nascidos.^{50,51}

Nestes rastreios, a recente introdução da espectrometria de massa permite a identificação simultânea de mais de 30 situações médicas a partir de um único “Cartão de Guthrie”, mas a identificação das hemoglobinopatias não é possível por este método, sendo que a maioria dos estados utiliza HPLC ou IEF, como métodos de primeira linha. Os recém-nascidos com resultados sugestivos de possível hemoglobinopatia devem ser submetidos a um método complementar, utilizando um segundo papel de filtro com sangue ou mesmo uma amostra líquida de sangue total. As políticas e as práticas de testes confirmatórios variam também entre estados.⁵¹

Laboratórios de segunda linha para estudos moleculares existem em New York, Texas, Washington e Califórnia.⁵⁰

Amostras de DNA fetal podem ser obtidas a partir das manchas de sangue, amplificadas por PCR e genotipadas para distinguir definitivamente: talassémia major de PHHF, HbE/ β -talassémia de HbEE ou doença da HbH de portadores de α -talassémia.⁵¹

Mais de 200 mutações causadoras de β -talassémia foram já caracterizadas a nível molecular, e a maioria são mutações pontuais ou pequenas deleções/inserções. Estas mutações possuem uma especificidade regional e a sua frequência determina o risco nas populações. A origem étnica e o estudo familiar são extremamente úteis na orientação da sequência dos testes de diagnóstico para hemoglobinopatias específicas. A tecnologia de *Microarrays* foi recentemente defendida como uma ferramenta com muito potencial para o rastreio neonatal, e a sua vantagem passa pela capacidade de rastrear, num só teste, muitas perturbações genéticas e metabólicas, aumentando a eficiência do rastreio.

Actualmente os 51 Estados Americanos praticam o rastreio universal para a drepanocitose e outras hemoglobinopatias, tendo sido o estado de New Hampshire o último a aderir, em 1 de Maio de 2006, depois de, em 1987, o Instituto Americano da Saúde (ANHI) ter recomendado o rastreio neonatal universal para a anemia falciforme.^{50,51}

Reconhecida a importância de um diagnóstico precoce, alguns estados têm implementado estratégias que combinam programas de rastreio pré-natal e neonatal procurando otimizar o aconselhamento pré-natal.⁵¹

12.9. Canadá

Segundo o recenseamento Canadano de 2001, cerca de 12.5% da sua população (3,7 milhões de habitantes) tem origem em regiões de elevado risco para talassémias e outras hemoglobinopatias e é com base na origem geográfica dessa população migrante que a Directiva Clínica nº 218, de Outubro de 2008, redigida pela Comissão de Genética da Sociedade de Obstetrícia e Ginecologia do Canadá e pelo Comité de Diagnóstico Pré-Natal do Colégio Canadano de Médicos Geneticistas, aprovou as recomendações a adoptar para o despiste de portadores de talassémias e hemoglobinopatias no país. O documento foi elaborado de modo a fornecer indicações aos profissionais do sistema de saúde canadiano para que a detecção destes distúrbios seja efectuada antes da concepção, ou precocemente na gravidez e as áreas geográficas de risco estão organizadas da seguinte maneira:⁴⁵

- ✓ Continente africano;
- ✓ Regiões Mediterrânicas, como Sardenha, Córsega, Sicília, Itália, Espanha, Grécia, Portugal, Chipre, Turquia, Egipto, Argélia, Líbia, Tunísia, Marrocos, Malta;
- ✓ Médio Oriente, como Irão, Iraque, Síria, Jordânia, Arábia Saudita e outros países Península Árabe, Qatar, Líbano, Palestina, Kwait e Israel onde tanto os árabes como os judeus são afectados;
- ✓ Sudeste da Ásia, como Índia, Afeganistão, Paquistão, Indonésia, Bangladesh, Tailândia, Myanmar;
- ✓ Região Oeste do Pacífico, como China, Vietname, Filipinas, Malásia, Camboja, Laos;
- ✓ Países das Caraíbas;
- ✓ Países da América do Sul.⁴⁵

12.9.1. Recomendações

1. O despiste de portadores de hemoglobinopatias é facultado às mulheres e seus parceiros sempre que um, ou ambos, sejam identificados como pertencentes a uma população étnica de risco elevado. Idealmente, o rastreio deve ser efectuado antes da concepção ou precocemente na gravidez;⁴⁵
2. O despiste inicial compreende um hemograma, electroforese de Hbs ou HPLC, com quantificação de HbA₂ e HbF.
Se se verificar um VGM < 80 fL e uma HGM < 27pg com resultados normais na electroforese de Hbs ou HPLC, devem ser pesquisados os Corpos de Heinz e doseada a ferritina;⁴⁵
3. Quando este rastreio inicial é anormal e evidencia uma variante de Hb, o parceiro deve também ser submetido aos mesmos testes para despiste de hemoglobinopatias;⁴⁵
4. Quando se constate que ambos os membros do casal são portadores de uma hemoglobinopatia, devem ser encaminhados para os serviços de aconselhamento genético para que estudos moleculares suplementares clarifiquem o estado dos progenitores e deduzam qual é o risco para o feto;⁴⁵
5. O DPN é disponibilizado a mulheres grávidas/casais que corram o risco de ter um feto afectado por uma hemoglobinopatia clinicamente significativa. Só pode ser efectuado com o consentimento informado do utente. Quando o DPN for recusado, o despiste neo-natal deve ser executado no intuito de obter um diagnóstico precoce e poder encaminhar a criança para um centro de hematologia pediátrica;⁴⁵
6. O DPN, para análise do DNA fetal, pode ser efectuado através de células obtidas por vilocentese ou amniocentese. As gestantes que recusarem esta prática invasiva, mas que corram risco de hidropisia fetal, ligada à Hb de Bart, podem efectuar ecografias fetais seriadas, visando a evolução do índice cardiorácico fetal, que numa situação normal é < 0.5. Se a anomalia for detectada, é recomendado o encaminhamento para centros de cuidados terciários

para a execução de análise do DNA fetal que, ao confirmar-se a patologia, impõe que a interrupção da gravidez seja equacionada;⁴⁵

7. Se a hidropisia fetal só se detectar na ecografia do segundo ou terceiro trimestre de gravidez, numa gestante de origem étnica de elevado risco para α -talassémia, tanto ela como o outro progenitor devem, de imediato, ser estudados para a eventualidade de serem portadores dessa patologia.⁴⁵

A figura abaixo sintetiza a abordagem que o Canadá realiza para o despiste de hemoglobinopatias.⁴⁵

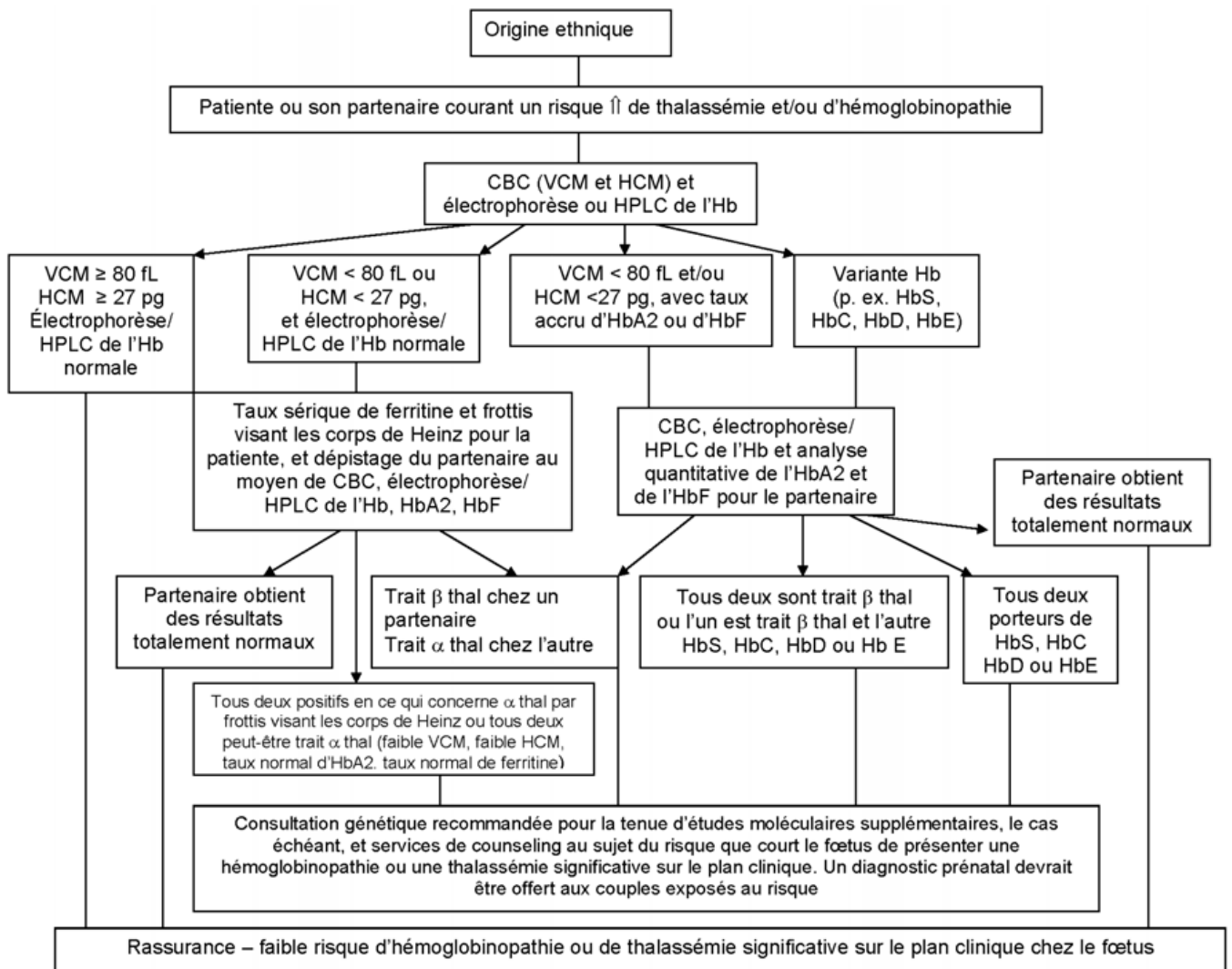


Figura 15 – Protocolo para o rastreio de hemoglobinopatias no Canadá.⁴⁵

12.10. Austrália

A Austrália é um país onde há muitas formas diferentes de α - e β -talassémias. Para além da vertente laboratorial, o estudo familiar é considerado relevante neste processo e, tanto a detecção precoce como a caracterização das hemoglobinopatias, tornam-se essenciais para que se possa accionar o aconselhamento adequado a casais e famílias em risco de desenvolverem estas patologias.⁶

Neste país, o processo de investigação para o diagnóstico das hemoglobinopatias inclui três etapas:⁶

1. Análise do hemograma com esfregaço de sangue periférico e doseamento de ferro sérico;⁶
2. Exames hematológicos especiais, incorrectamente designados de “rastreo das talassémias”, e que incluem vários testes, a realizar em simultâneo, como a electroforese de Hbs, a quantificação de HbA₂ e de HbF, o teste de Kleihauer-Betke, a pesquisa de inclusões de HbH, os testes da solubilidade, instabilidade e afinidade para o O₂ e a espectrometria de massa, para caracterizar as variantes de Hb;⁶
3. Testes de DNA fetal.⁶

Na detecção de casos particulares e no rastreio pré-natal, a análise do DNA deve ser o método escolhido e solicita-se quando a hemoglobinopatia não pode ser confirmada pelos testes hematológicos realizados na fase anterior, ou a mutação procurada seja a base que confirma a hemoglobinopatia.⁶

Um diagnóstico a este nível pode ser realizado, efectuando uma análise das mutações (baseada em PCR), um *scanning* do DNA em que a dHPLC é o método de escolha, ou uma sequenciação do DNA.⁶

13. CONCLUSÕES

O principal objectivo de um rastreio de hemoglobinopatias é a determinação da frequência de portadores na população e a identificação dos casais de portadores em risco de terem filhos com formas graves de anemias, com vista ao aconselhamento genético e, quando indicado, ao diagnóstico pré-natal.

Perante a migração crescente, a informação deve ser adequada às várias culturas das minorias étnicas, não por imposição de deliberação política, mas sim veiculada por médicos de família e/ou pediatras, de forma a não se tornar estigmatizante ou fonte de ansiedade, fazendo-lhes saber que, ao encaminhar os casais de risco para laboratórios de genética, o portador não é um doente, nunca será um doente, mas que pode gerar doença nos seus descendentes.

No geral, como ficou demonstrado pelas políticas relatadas, duas estratégias são possíveis:

- ✦ Nas regiões endémicas fazer: Aconselhamento Pré-marital e Pré-concepcional.⁴⁷
- ✦ Nas não endémicas fazer: Rastreio Neo-natal e prevenção retrospectiva a casais de risco, a partir de casos referenciados pelo pediatra.⁴⁷

Um tema a merecer debate é o de se o rastreio neonatal deve ser selectivo, e em que muitas das vezes se distingue as duas populações, a autóctone e a migrante, ou se deve ser universal. Parece que a maioria dos autores defende a sua universalidade.

O DPN é também uma peça fundamental para o controlo destas graves doenças genéticas. Para que este possa proporcionar um resultado exacto, rápido e tão cedo quanto possível, tem de cumprir com uns quantos requisitos: 1. Identificação atempada dos casais em risco; 2. A caracterização das mutações da sua doença; 3. Obtenção de material fetal de forma rápida e segura; 4. Investigação do genótipo do DNA fetal, com base nas mutações parentais.⁵⁴

Enquanto a investigação progride para tornar o DPN um procedimento não invasivo, ele continua a ser feito por análise de amostras de DNA fetal obtidas a partir de amniócitos,

colhidos por amniocentese, depois das 15 semanas de gestação, seja por via transcervical sob controlo ultrasónico ou por via transabdominal, ou a partir das vilosidades coriônicas obtidas por vilocentese, executada entre as 10-12 semanas de gravidez. Há a considerar 1 -2% de risco de morte fetal.^{10,28}

Nas situações de procriação medicamente assistida, todos os embriões destinados a fertilizações *in vitro* devem ser sujeitos a este despiste e, neste caso, os riscos inerentes são muito mais gravosos e duplicados pela obrigatoriedade de confirmação após o implante.⁵⁴

Os países da bacia mediterrânica foram pioneiros na efectuação de programas de prevenção dirigidos a casais de risco e, depois de 30 anos, Chipre, Itália e Grécia conseguiram reduzir a β -talassémia a níveis próximos do zero, na população nativa.⁴⁷

Outro exemplo bem sucedido é o da Sardenha que, em 1976, quando iniciou o seu programa de DPN para a β -talassémia major tinha uma incidência da doença de 1:250 nascimentos e agora é de 1:4 000.⁵³

Na Europa Ocidental, tirando o Reino Unido, que possui um programa muito abrangente e bem estruturado, só no virar do século é que países como a Bélgica, Holanda, Espanha e França começaram a fazer prevenção.

Os países nórdicos são os mais atrasados nesse propósito, por terem sido os destinos menos visados pelos imigrantes e os que, hoje em dia, podem vir a observar maiores taxas de hemoglobinopatias, visto que os imigrantes de países endémicos tendem a não se cruzar com os habitantes locais, a ter mais filhos em média e a aumentar o seu grau de consanguinidade.⁴⁷

Em Portugal, as variantes de Hb mais frequentes são a HbS e a HbLepore que é uma variante de Hb com uma cadeia híbrida $\delta\beta$, cuja extremidade N-terminal possui a sequência de aminoácidos da cadeia δ e a extremidade C-terminal possui a sequência de aminoácidos da cadeia de β -globina. É o produto de um gene híbrido, resultante de um presumível *crossing-over* desigual durante a meiose, que para os homozigóticos causa anemia grave.²³

Com base nos poucos estudos até agora efectuados e em que ainda não se projectava a actual realidade da imigração existente, estima-se que haja 1% de portadores de

hemoglobinopatias e um total de 500 doentes em todo o país Continental. Isto faz com que estas patologias sejam consideradas doenças genéticas raras, embora crónicas e incapacitantes, porque têm uma prevalência inferior a 5 em 10.000 pessoas, conforme Decisão 1295/1999/CE do Parlamento Europeu e do Conselho de 29 de Abril de 1999.³³

A gravidade das manifestações clínicas dos doentes homozigóticos, faz destas doenças um importante problema de saúde pública. O diagnóstico precoce, associado a um tratamento adequado, pode contribuir para uma redução significativa da sua morbidade e mortalidade, mas como não têm uma cura fácil, seja o transplante alogénico de medula óssea ou as terapias génicas emergentes, não são enquadráveis no Programa Nacional de Diagnóstico Precoce (PNDP) e é duvidoso que o venham a ser, pelo disposto no Despacho n.º 752/2010, de 12 de Janeiro, do Ministério da Saúde, em que se lê;

“O PNDP teve um enorme sucesso e tem revelado uma elevada qualidade, que é bem patente na sua taxa de cobertura superior a 99 % dos recém-nascidos e pelo seu tempo médio de intervenção terapêutica — 11/12 dias. Dirigido inicialmente à fenilcetonúria e ao hipotireoidismo, duas doenças que, na criança, quando não tratadas acarretam atraso mental, foi alargado mais tarde, em 2004, na Região Norte e com âmbito nacional em 2006, a mais 23 doenças hereditárias do metabolismo. Este alargamento da amplitude deve -se à utilização da tecnologia MS/MS, que permite o diagnóstico de doenças hereditárias do metabolismo numa única amostra de sangue. Outras doenças, como a fibrose cística, hiperplasia congénita da supra-renal e deficiência da biotinidase foram rastreadas em estudos-piloto e poderão futuramente vir a ser incluídas no Programa Nacional.”⁶⁴

A Unidade de Rastreio Neonatal deste PNDP, que não é obrigatório, está sediada no Centro de Genética Médica Jacinto de Magalhães (CGMJM), no Porto e anuncia-se como universal e independente da nacionalidade do recém-nascido.

Outro aspecto a merecer destaque, é o facto da Circular Normativa N.º: 18/DSMIA de 07/09/04, da Direcção-Geral da Saúde apenas recomendar que a pesquisa de hemoglobinopatias seja feita a todas as mulheres em idade reprodutiva, em particular, nas consultas de planeamento familiar, pré-concepcional ou, com carácter de urgência, na 1.ª consulta da gravidez e determinar que o rastreio das hemoglobinopatias não deve ser realizado a crianças, salvo em situações clínicas que o justifiquem.⁷

13.1. Considerações finais

Portugal não dispõe de dados actuais que reflectam a realidade do país relativamente à prevalência de hemoglobinopatias. Os únicos resultados disponíveis com algum significado e com relativa abrangência a nível nacional tiveram, como população alvo, os recrutas ao serviço militar entre 1983 e 1985.⁸

As recentes alterações demográficas, com os inerentes fluxos migratórios dentro do país e de imigrantes oriundos de países onde as hemoglobinopatias possuem taxas de incidência significativas, nomeadamente os países de África e, mais recentemente, Brasil e Europa de Leste, alteraram a realidade do país, contribuindo para o aumento destas anomalias genéticas na sociedade portuguesa. Porém, a inexistência de dados recentes, faz com que estas patologias continuem a ser consideradas raras, não sendo por isso associadas a um possível problema de saúde pública, com mortalidade e morbilidade expressivas. Deste modo, as entidades que regulamentam a Saúde em Portugal não irão agir em conformidade com a gravidade que estas doenças hereditárias terão nas actuais e próximas gerações.

A evidência da desarticulação de informação entre as diferentes instituições e os vários profissionais de saúde, que deveriam estar alertados para esta problemática, constitui outro obstáculo à importância do diagnóstico precoce de hemoglobinopatias. Se a Circular Normativa nº18/DSMIA da Direcção-Geral da Saúde (DGS), de 2004, procura de certa forma regulamentar e orientar os intervenientes no planeamento familiar para os procedimentos a adoptar no despiste de hemoglobinopatias, a realidade é que nem todos os profissionais estão em sintonia, nem despertos para a importância da pesquisa destas patologias numa fase pré-concepcional ou o mais precocemente possível na gravidez.

Seria sem dúvida importante, que o Ministério da Saúde como entidade responsável, com poder e capacidade de regulação, publicasse normas efectivas e não apenas de recomendação, que definissem claramente quem faz o quê e em que circunstâncias.

É importante a sensibilização de todos os médicos de família e em particular daqueles que exercem a sua actividade no âmbito do planeamento familiar, para a importância da detecção de portadores.

A consciencialização para a necessidade de rastreio de hemoglobinopatias ao nível dos cuidados de saúde primários, pode assumir grande importância no impedimento da proliferação destas anomalias genéticas.

Concretamente nas grávidas se o perfil de abordagem laboratorial, indicado para o primeiro trimestre (< 13ª semana), incluisse uma electroforese de hemoglobinas e um doseamento de HbA₂ para além do hemograma, que nem sempre revela algumas variantes de Hb, poder-se-ia despistar uma gestante portadora. Perante um resultado positivo, dever-se-ia analisar o cônjuge como forma de fornecer o máximo de informação possível, que no caso de serem ambos portadores, permitisse avançar para o diagnóstico pré-natal ou para a interrupção da gravidez, se fosse essa a escolha do casal.

13.2. Sugestões

Um procedimento efectivo e com utilidade no rastreio de hemoglobinopatias seria, em primeiro lugar, atribuir ao teste do pézinho um carácter obrigatório e, depois, incluir as hemoglobinopatias no Programa Nacional de Diagnóstico Precoce. Seria uma forma de identificar possíveis portadores e garantir que, a partir de determinada data, toda a população estaria caracterizada, facilitando a intervenção das entidades médicas e de aconselhamento genético.

Por outro lado, e à imagem de países como o Reino Unido, todos os imigrantes, ou pelo menos as crianças até determinada idade que entrassem no país, deveriam ser submetidos a um programa de rastreio de hemoglobinopatias e os seus resultados carregados numa base de dados.

Uma outra possível forma de rastreio de portadores de hemoglobinopatias seria, tal como se faz em Itália, regulamentar que crianças de idade pré-puberal fossem submetidas a testes simples que conseguem despistar a presença, pelo menos, das hemoglobinopatias com significado clínico mais relevante. A título de exemplo, a colheita de um simples tubo de sangue com EDTA permite efectuar, simultaneamente, o hemograma, o teste de solubilidade, a pesquisa de corpos de Heinz, a avaliação morfológica do sangue periférico ou até uma electroforese de hemoglobinas.

O diagnóstico precoce de hemoglobinopatias é um meio útil e fundamental para a prevenção destas anemias hereditárias.

14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fattoum S. Evolution of Hemoglobinopathy Prevention in Africa: Results, Problems and Prospect. *Medit J Hemat Infect Dis* 2009; 1; Open Journal System.
2. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization* 2008; 86: 480-487.
3. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* 2001; 79: 704–712.
4. Rodak BF, Fritsma GA, Doig K. *Hematology: Clinical Principles and Applications*, 3rd ed. Saunders Elsevier; p. 333-371.
5. Peng CT, Liu SC, Chiou SS, Kuo PL, Shih MC, Chang JY, Chang JG. Molecular characterization of deletional forms of beta-thalassemia in Taiwan. *Ann Hematol.* 2003; 82:33-36.
6. Trent RJA. Diagnosis of the Haemoglobinopathies. *Clin Biochem Rev.* 2006; 27: 27-38.
7. Divisão de Saúde Materna, Infantil e dos Adolescentes: Prevenção das formas graves de hemoglobinopatia. Circular Normativa Nº: 18/DSMIA de 07/09/04, da Direcção-Geral da Saúde.
8. Martins MC, Olim G, Melo J, Magalhães HA, Rodrigues MO. Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance and control. *J-Med-Genet* 1993; 30(3): 235-239.
9. Patel J, Patel A, Patel J, Kaur A, Patel V. Prevalence of haemoglobinopathies in Gujarat, India: A cross-sectional study. *Int J Hematol.* 2009; 5:1.
10. Sonati MF, Costa FF. Genética das doenças hematológicas: as hemoglobinopatias hereditárias. *Jornal de Pediatria.* 2008; 84 nº 4 (Supl): 40-49.
11. Cigna Medical Coverage Policy. Genetic Testing for Hemoglobinopathies. Coverage Policy Number: 0192
12. Bezerra CM. Diagnóstico molecular da talassemia alfa⁺ (deleção $-a^{3.7}$) em indivíduos com microcitose e/ou hipocromia atendidos no Hemocentro Dalton Barbosa Cunha em Natal, Rio Grande do Norte. Natal; 2009.

13. Lacerda AF, Silva IJ, Ribeiro IMS, Costa MJ, Pereira F. Hemoglobinopatias. *Actas Bioq.* 2007; 8:157-166
14. Silva JM, Saldanha C. *Bioquímica em Medicina Vol II: Metodologias e Programas de Estudo*, Edições Colibri, 2010; p.366-375. [Acesso em Julho de 2010] Disponível em: <http://books.google.pt>
15. Rowe AJM. Structure-function relations of human hemoglobins. *Bayl Univ Med Cent.* 2006; 19: 239-245.
16. Schechter AN. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. *American Society of Hematology. Blood.* 2008; 112 n°10: 3927-3936.
17. Hemoglobin: A Molecule Connecting Us All. [Acesso em Novembro de 2010] Disponível em: <http://shamelesslyatheist.files.wordpress.com/2008/10/hemoglobin.jpg>
18. Neto GCG, Pitombeira MS. Aspectos moleculares da anemia falciforme. *J. Bras. Patol. e Med. Lab. Rio de Janeiro.* 2003v; 39 n°1:51-56.
19. Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Weatherall DJ. *Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management*, Cambridge, UK: Cambridge University Press; 2009.
20. Soares TM. Estudo da Razão entre Os mRNAs da α - e da β -Globina como um Indicador da Expressão dos Respectivos Genes Globínicos. Lisboa; 2009.
21. Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, *et al.* Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. 2010 Blackwell Publishing Ltd, *British J. Hemat*, 149, p. 35-49.
22. Wiwanitkit V. Single amino acid substitution in important hemoglobinopathies does not disturb molecular function and biological process. *Int. J. Nanomed.* 2008; 3 (2): 225-227.
23. Bento C. Hemoglobinopatias Estratégia de Diagnóstico e Rastreamento. *Reunião Anual da Soc. Port. Hemat.* 2007:49-50.
24. U.S. Department of Health & Human Services: National Heart Lung and Blood Institute. [Acesso em Novembro de 2010] Disponível em: http://www.nhlbi.nih.gov/health/dci/Diseases/SCA_Causes.htm
25. Soares AD, Parreira F. *Propedêutica Médica- Hematologia*. 2ª ed. Fundação Calouste Gulbenkian.

26. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigations of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and update. *Clin Chem* 2000; 46: 1284-1290.
27. Komba A, Makani J, Sadarangani M, Agbo TA, Berkley JA, Newton CRJC, Marsh K, Williams TN. Malaria as a Cause of Morbidity and Mortality in Children with Homozygous Sickle Cell Disease on the Coast of Kenya. *Clin Infect Dis*. 2009; 49 (2): 216-222.
28. Frenette PS, Atweh GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. *The Journal of Clinical Investigation*. 2007; 117: 850-858.
29. Alexy T, Sangkatumvong S, Connes P, Pais E, Tripette J, Barthelemy JC, Fisher TC, Meiselman HJ, Khoo MC, Coates TD. Sickle cell disease: Selected aspects of pathophysiology. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010; 44(3):155-66.
30. Okpala, I.E. Practical management of Haemoglobinopathies. Blackwell Publishing, London; 2004.
31. Gonçalves C, Marques JS, Rodrigues HL. Drepanocitose: Novas Perspectivas da Abordagem Terapêutica. *Bol. da SPHM*. 2007; 22 (4): 5-27.
32. Toni-Uebari TK, Inusa BPD. The role of religious leaders and faith organizations in haemoglobinopathies: a review. *BMC Blood Disorders*. 2009.
33. Associação Portuguesa de Pais e Doentes com Hemoglobinopatias. [Acesso em Outubro de 2010] Disponível em: <http://www.appdh.org.pt/>
34. Bachir D, Galacteros F. Hemoglobin C disease. *Orphanet Encyclopedia*. Novembro 2004. [Acesso em Agosto de 2010] Disponível em: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk.-HbC.pdf>
35. Mukherjee MB, Surve RR, Gangakhedkar RR, Mohanty D, Colah RB. Hemoglobin sickle D Punjab-A case report. *Indian J Hum Genet*. 2005; v. 11: 154-155.
36. Bachir D, Galacteros F. Hemoglobin E disease. *Orphanet Encyclopedia*. Novembro 2004. [Acesso em Agosto de 2010] Disponível em: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk.-HbE.pdf>
37. Weatherall DJ. The thalassemias: The Role of Molecular Genetics in an Evolving Global Health Problem. *Am J Hum Genet*. 2004;74:385-392.
38. Rowe AJM. The thalassemias and related disorders. *Bayl Univ Med Cent*. 2007; 20: 27-31.
39. Weatherall DJ. Phenotype-Genotype Relationships in Monogenic Disease: Lessons from The Thalassemias. *Nat Rev Genet*. 2001;2 (4):245-255.

40. Palaré MJ, Ferrão A, Sousa DM, Vieira LMC. Fisiopatologia da Doença Hematológica. *Pediatria II*. 2008.
41. Harteveld CL, Higgs D. α -thalassaemia. *Harteveld and Higgs Orphanet Journal of Rare Diseases*. 2010, 5:13.
42. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Journal of Rare Diseases*. 2010, 5:11.
43. Care of the Child with Thalassemias. [Acesso em Dezembro de 2010] Disponível em: <http://www.unc.edu/courses/2007spring/nurs/842/001/Week%205/Thalassemia.html>
44. Georgetown University Medical Center. [Acesso em Dezembro de 2010] Disponível em: <http://pediatrics.georgetown.edu/residents/visualdiagnosis/week10/117877.html>
45. Langlois S, Ford JC, Chitayat D, Désilets VA, Wilson RD, Johnson JÁ, Audibert F *et al*. Dépistage des porteurs de thalassémie et d'hémoglobinoopathies au Canada. *Directive Clinique Commune SOGC-CCGM. JOGC*. 2008: 960-971.
46. Sakamoto TM, Peruzo GM, Ivo ML, Brum MAR, Domingos CRB. Talassémia β intermediária em gestante; *Rev. Bras. Hematol. e Hemoter*: 2008, 30 (6): 498-500.
47. Amato A, Giordano PC. Screening and Genetic Diagnosis of Hemoglobinopathies in Southern and Northern Europe: Two examples. *Medit J Hemat Infect Dis*: 2009; 1; Open Journal System.
48. Fernandes ARC, Domingos CRB. Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de Hemoglobinas variantes. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*: 2006, 28 (1): 65-70.
49. Ferraz MHC, Murao M. Diagnóstico Laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*: 2007, 29 (3): 218-222.
50. Benson JM, Therrell Jr BL. History and current status of Newborn Screening for Hemoglobinopathies. *Seminars in Perinatology, Elsevier* 2010; 34: 134-144.
51. Hoppe CC. Newborn screening for non-sickling hemoglobinopathies. *American Society of Hematology*. 2009: 19-25.
52. Escribano HL, Vidal MV, Bennassar AB, Prieto MR, Gatnau OA. Cribado neonatal de anemia falciforme en la Comunidad Autónoma Balear. Estudio piloto anónimo no relacionado. *Na Pediatr (Barc)*. 2009; 70(5): 429-433.
53. Rosatelli MC, Saba L. Prenatal diagnosis of β -Thalassemias and hemoglobinopathies; *Medit J Hemat Infect Dis*. 2009; 1; Open Journal System.

54. Hartevelde CL, Kleanthous M, Synodinos JT. Prenatal diagnosis of hemoglobin disorders: Present and future strategies. The Canadian Society of Clinical Chemists. Elsevier. 2009;42:1767-1779.
55. Silva MC, Shimauti ELT. Eficácia e toxicidade da hidroxiureia em crianças com anemia falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter: 2006; 28 (2): 144-148.
56. Almeida A. Drepanocitose- Novos Desafios Terapêuticos. Reunião Anual da Soc. Port. Hemat. 2007:51.
57. Fleming R: Nova estratégia para a quelação do ferro: O estado da arte. Revista ABO nº38, Abr/Jun 2009.
58. Penque D: Terapia Genica: um Objectivo ou uma realidade? Biotecnologia Molecular: Avanços e Aplicações. Boletim de Biotecnologia: 16-19.
59. Academia Wall Street: Terapia Genética.[Acesso em Dezembro de 2010] Disponível em: http://www.wallstreetfitness.com.br/fique_por_dentro/artigo/2706/terapia-genetica/
60. Breda L, Gambari R, Rivella S. Gene Therapy and Hemoglobinopathies. Medit J Hemat Infect Dis 2009; 1; Open Journal System.
61. Kohne E, Kleihauer E. Hemoglobinopathies: A Longitudinal Study Over Four Decades. Dtsch Arztebl Int 2010; 107(5): p. 65-71.
62. Garanito MP: Hemoglobinopatias- Interpretação do teste de triagem neonatal. Pediatria (São Paulo) 2008; 30(3): 172-176.
63. Lima RCF, Castro EFP, Nóbrega MS, *et al.*: Triagem de Hemoglobinas Anormais em Crianças e Adolescentes. NewsLab. 2006; Ed. 76: 130-135.
64. Ministério da Saúde: Gabinete do Secretário de Estado Adjunto e da Saúde. Despacho nº 752/2010. Diário da República, 12 de Janeiro 2010; 2ª série (nº7): 1434-1437.