



CURSO DE BIOMEDICINA

JHENNYEPHER ALEXANDRA SANTOS ALVES

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS ATRAVÉS DA TRIAGEM
NEONATAL EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DE SINOP - MT**

SINOP/MT

2024

CURSO DE BIOMEDICINA

JHENNYEPHER ALEXANDRA SANTOS ALVES

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS ATRAVÉS DA TRIAGEM
NEONATAL EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DE SINOP - MT**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Avaliadora do Departamento de Biomedicina, do Centro Universitário Fasipe - UNIFASIPE, como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Prof. Danielly Kawane Soffientini.

SINOP/MT

2024

JHENNYEPHER ALEXADRA SANTOS ALVES

**INCIDÊNCIA DAS HEMOGLOBINOPATIAS DIAGNOSTICADAS ATRAVÉS DA
TRIAGEM NEONATAL EM UM LABORATÓRIO PRIVADO DE SINOP – MT**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Banca Avaliadora do Curso de Biomedicina do Centro Universitário Fasipe - UNIFASIPE como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: _____/_____/_____

Professora Orientadora: Danielly Kawane Soffientini
Departamento de Biomedicina – UNIFASIPE

Professor(a) Avaliador(a): _____
Departamento de _____ - UNIFASIPE

Professor(a) Avaliador(a): _____
Departamento de _____ - UNIFASIPE

Professor(a) Avaliador(a): _____
Departamento de _____ - UNIFASIPE

Silmara A. Bonani de Oliveira
Coordenador do Curso de Biomedicina

SINOP/MT

2024

DEDICATÓRIA

Em especial a minha mãe e ao meu namorado, por todo o incentivo que me deram e por nunca me deixarem desistir.

E a todos os meus amigos e colegas que fizeram parte desta caminhada comigo, obrigada por todo carinho, amor e apoio de todos vocês.

AGRADECIMENTOS

-A minha mãe em primeiro lugar, por todo o incentivo nos dias difíceis, pelo amor, apoio, ensinamentos, por me guiar e acreditar sempre que eu conseguiria alcançar os meus objetivos.

-Agradeço ao meu companheiro, que me apoiou todos os dias em todas as fases deste trabalho. Seu amor, paciência, compreensão e carinho foram fundamentais para que eu conseguisse concluir esta monografia.

-Aos professores e colegas de trabalho que me ensinaram e me incentivaram, obrigada pela paciência, pelo apoio e por toda a ajuda durante este processo, em especial ao meu querido colega Daniel Izidoro por todo o conhecimento que compartilhou comigo e toda vez que acreditou em mim.

-A minha orientadora, professora, chefe e amiga Danielly Kawane, obrigada por acreditar em mim desde o início, pela oportunidade que me deu, por enxergar potencial em mim e sempre dizer isso, obrigada por todos os ensinamentos, conhecimento, apoio durante esse processo, sua orientação foi fundamental para mim.

-As minhas amigas Danielly Soletti e Yasmin Silva, obrigada por todos os momentos de descontração, todo o incentivo, todo o amor e carinho compartilhados durante a nossa jornada.

-A todos, muito obrigada.

ALVES, Jhennypher Alexandra Santos. Incidência das hemoglobinopatias através da triagem neonatal em um laboratório privado de Sinop – MT. 2024. folhas. Trabalho de Conclusão de Curso – Centro Educacional Fasipe – UNIFASIPE

RESUMO

As hemoglobinopatias, são distúrbios genéticos que afetam a estrutura e a função da hemoglobina, proteína essencial para o transporte de oxigênio no sangue, as principais devido à alta incidência são a Anemia Falciforme, Talassemias e Hemoglobinopatia C. A triagem neonatal, desenvolvida pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) é um dos métodos de diagnóstico mais importantes destas patologias devido a possibilidade de detecção precoce dessas condições, permitindo intervenções clínicas adequadas e melhorando a qualidade de vida dos pacientes. O objetivo desta pesquisa foi analisar a incidência de hemoglobinopatias diagnosticadas por meio da triagem neonatal realizada em laboratório privado no município de Sinop, MT. A pesquisa envolveu a coleta e análise de dados de triagem neonatal dos recém nascidos atendidos pelo laboratório estudado entre o período de 2020 a 2023, a metodologia empregada no diagnóstico foi a cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Os resultados mostraram uma concordância entre a prevalência das hemoglobinopatias presentes na cidade de Sinop e do estado do Mato-Grosso, de 2.595 pacientes analisados, 97% (n=2.527) não apresentaram nenhuma alteração nas hemoglobinas, 1,5% (n=39) são portadores do Traço Falciforme e 0,65% (n=17) são portadores do Traço C. Conclui-se através dos dados obtidos através da pesquisa de que as hemoglobinopatias são graves problemas de saúde, por isso é importante reforçar a relevância da triagem neonatal como uma ferramenta imprescindível para a contribuição da redução da mortalidade e das complicações associadas às hemoglobinopatias.

Palavras-chave: Hemoglobinopatia. Incidência. Triagem Neonatal.

ALVES, Jhennypher Alexandra Santos. Incidência das hemoglobinopatias através da triagem neonatal em um laboratório privado de Sinop – MT. 2024. folhas. Trabalho de Conclusão de Curso – Centro Educacional Fasipe – UNIFASIPE

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are genetic disorders that affect the structure and function of hemoglobin, a protein essential for the transportation of oxygen in the blood, the main ones due to their high incidence are Sickle Cell Anemia, Thalassemia and Hemoglobinopathy C. Newborn screening, developed by the National Neonatal Screening Program (PNTN) is one of the most important diagnostic methods for these of these pathologies due to the possibility of early detection of these conditions, allowing for appropriate clinical interventions and improving patients' quality of life. The aim of this study was to analyze the incidence of hemoglobinopathies diagnosed through neonatal screening carried out in a private laboratory in the municipality of Sinop, MT. The research involved collecting and analyzing neonatal screening data of newborns attended by the laboratory studied between 2020 and 2023, the methodology used in the diagnosis was high-performance liquid chromatography (HPLC). The results showed the prevalence of hemoglobinopathies in the city of Sinop and the state of Mato Grosso. of Sinop and the state of Mato Grosso, of the 2,595 patients analyzed, 97% (n=2,527) were (n=2,527) did not present any alterations in their hemoglobin's, 1.5% (n=39) were carriers of the sickle cell trait and 0.65% (n=17) are C trait carriers. It is concluded from the data obtained through the research that hemoglobinopathies are serious health problems, which is why it is important to reinforce the relevance of neonatal screening as an essential tool for contributing to the reduction of mortality and complications associated with hemoglobinopathies.

Keywords: Hemoglobinopathy. Incidence. Neonatal screening.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da estrutura da Hemoglobina (a) e do Grupo heme (b).....	12
Figura 2 – Representação de uma hemácia saudável e um com Anemia Falciforme.....	19
Figura 3 – Demonstração Traço Falciforme X Doença Falciforme.....	20
Figura 4 – Genética da Alfa Talassemia.....	22
Figura 5 – Genética da Beta Talassemia.....	24
Figura 6 – Leucograma e Plaquetograma.....	29
Figura 7 – Reticulócitos corados com Azul de Cresil brilhante, vistos em microscopia na objetiva de 100x.....	30
Figura 8 – Eletroforese em acetato de celulose com pH alcalino (pH 8,6)	
Figura 9 – Porcentagens de hemoglobinas variantes de um portador de Anemia Falciforme, traço talassêmico e crise hemolítica, retirados de uma eletroforese por HPLC.....	30

LISTA DE SIGLAS

BTT	Beta Talassemia Menor ou Beta Talassemia Traço
BTI	Beta Talassemia Intermediária
BTM	Beta Talassemia Menor
CHCM	Concentração De Hemoglobina Corpuscular Média
DNA	“ <i>deoxyribonucleic acid</i> ” Ácido Desoxirribonucleico
Hb	Hemoglobina
HbA/HbA1	Hemoglobina Variante “A”
HbA2	Hemoglobina Variante do Traço Talassêmico
HBB	Gene Beta hemoglobina
HbC	Hemoglobina Variante “C”
HbD	Hemoglobina Variante “D”
HbE	Hemoglobina Variante “E”
HbH	Doença da hemoglobina “H”
HbS	Hemoglobina Variante da Doença Falciforme
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
NGS	“ <i>Next-Generation Sequencing</i> ” – Sequenciamento de Próxima Geração
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> - Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR	PCR em Tempo Real
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
RDW	“ <i>Red Cell Distribution Width</i> ” - Amplitude De Distribuição Dos Eritrócitos.
RNA	“ <i>ribonucleic acid</i> – Ácido Ribonucleico
SCIELO	“ <i>Scientific Electronic Library Online</i> ” - Biblioteca Eletrônica Científica Online
SUS	Sistema Único de Saúde
VCM	Volume Corpuscular Médio

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Índices hematimétricos de um paciente com Anemia microcítica e hipocrômica.....	17
Tabela 2 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2023.....	36
Tabela 3 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2022.....	37
Tabela 4 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2021.....	37
Tabela 5 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2020.....	38
Tabela 6 – Divisão por gênero dos portadores de hemoglobinopatias da pesquisa.....	38

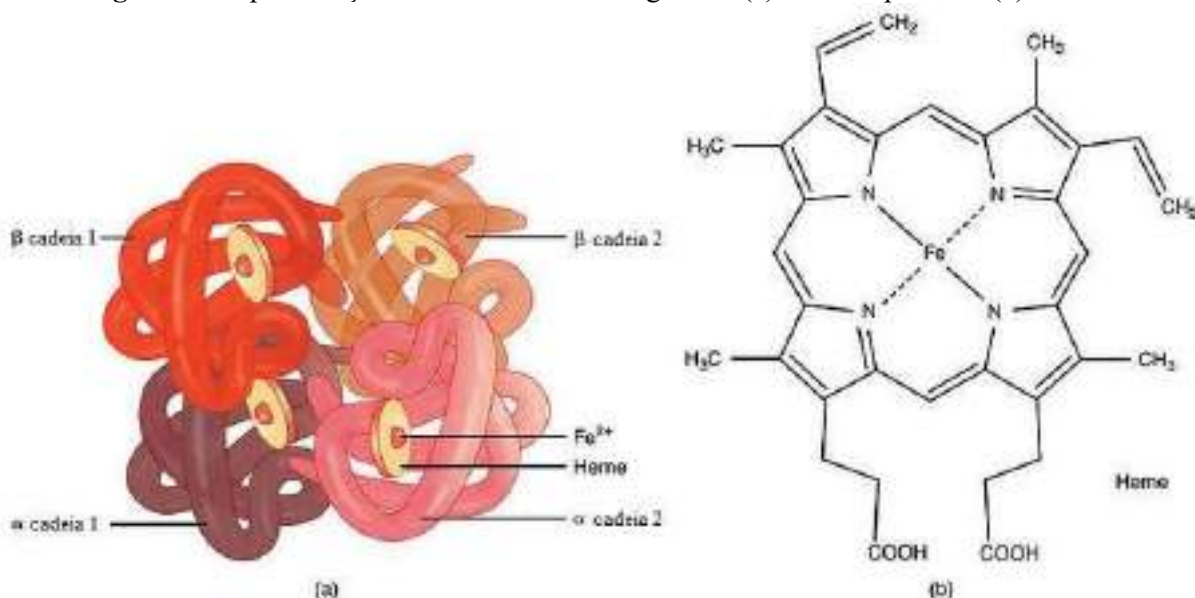
SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.1 Justificativa	13
1.2 Problematização	15
1.3 Objetivos	16
1.3.1 Geral.....	16
1.3.2 Específicos	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Hemoglobinopatias	17
2.1.1 Anemia Falciforme.....	19
2.1.2 Talassemias.....	21
2.1.2.1 Alfa Talassemia.....	23
2.1.2.2 Beta Talassemia.....	24
2.1.3 Hemoglobinopatia C.....	26
2.2 Métodos de Diagnóstico nas Hemoglobinopatias	27
2.2.1 Hemograma.....	28
2.2.2 Contagem De Reticulócitos.....	30
2.2.3 Eletroforese De Hemoglobina.....	31
2.2.4 Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC)	33
2.2.5 PCR (Reação Em Cadeia Da Polimerase)	34
2.2.6 Sequenciamento De Dna.....	35
2.3 Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN)	36
2.3.1 Contexto Histórico.....	36
2.3.2 A Triagem Neonatal das Hemoglobinopatias.....	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. METODOLOGIA	43
4.1 Coleta de Dados	43
4.2 Considerações Éticas	44
5. CONCLUSÃO	45
REFERÊNCIAS	47
ANEXO	49

1. INTRODUÇÃO

A hemoglobina é uma proteína presente nos eritrócitos cuja função está diretamente ligada à sua estrutura. A estrutura molecular da hemoglobina dá-se à quatro cadeias globínicas, duas alfas (α) e duas betas (β) associadas a um agrupamento heme (quatro anéis porfirínicos ligados a um átomo de ferro – Fe^{2+}) (Figura 1). A síntese da globina inicia-se com a leitura dos cromossomos 16 e 11 que contém as informações genéticas para produção das cadeias alfa e beta globínicas respectivamente. O grupo heme dá a globina uma cor característica. Ele é formado por um anel tetrapirrólico e um átomo de ferro, e no estado ferroso, sua síntese é realizada principalmente na mitocôndria através de várias reações bioquímicas (ALMEIDA *et al.*, 2011).

Figura 1 - Representação da estrutura da Hemoglobina (a) e do Grupo heme (b).



Fonte: Lavouras (alterado) (2015).

Esta proteína presente nos eritrócitos tem como função transportar o oxigênio aos tecidos e retornar o gás carbônico dos tecidos para o pulmão, além disso, também é responsável em dar o pigmento vermelho às hemácias. É uma molécula essencial para a formação das

hemácias e as alterações em sua estrutura podem acarretar uma série de problemas, além de doenças como anemias e o desenvolvimento de hemoglobinopatias (HOFFBRAND, 2013).

De acordo com Torres (2016), as hemoglobinopatias pertencem a um grupo de doenças genéticas e hereditárias cuja classificação se dará conforme o defeito presente na hemoglobina, podendo ser alterações estruturais ou em sua síntese, sendo capaz de desenvolver sintomas que variam desde uma anemia leve até quadros letais. A Anemia Falciforme (HbS), as Talassemias (HbA2) e a presença da hemoglobina C (HbC) são as principais hemoglobinopatias diagnosticadas. Além de existir outras variantes como a hemoglobina D e hemoglobina E. Porém o objetivo desse estudo é avaliar as variantes HbS, HbA2 e HbC.

Por serem doenças de origem genética, ela irá envolver a distinção entre indivíduos homocigotos e heterocigotos, especialmente no contexto de alelos recessivos. Portadores Heterocigotos (Aa), ou seja, possuem apenas um alelo recessivo recebido de um de seus genitores, estes possuem apenas o traço da doença, podendo ou não manifestar sintomas, dependendo do tipo de hemoglobinopatia e do grau da mutação cromossômica. Já os portadores Homocigotos (aa) apresentam dois alelos idênticos e recessivos do gene, recebidos então, de ambos os genitores e tendo a característica associada ao alelo recessivo sendo expressa.

O diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias pode ser realizado através de um conjunto de exames hematológicos e moleculares, como através da Eletroforese de Hemoglobina ou por Cromatografia Líquida de Alto Desempenho (HPLC), tendo esta última metodologia maior sensibilidade e especificidade, o que aumenta a segurança dos resultados e o acerto no diagnóstico. Ademais, o diagnóstico das hemoglobinopatias pode ser executado através do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), foi desenvolvido também para o diagnóstico em recém-nascidos, conhecido popularmente como Teste do Pezinho e ofertado em grande parte do território brasileiro (BRASIL, 2015).

No Brasil as hemoglobinopatias são detectadas logo nos primeiros meses de vida, através do Programa Nacional de Triagem Neonatal - PNTN, criado inicialmente para o diagnóstico de doenças como Hipotireoidismo Congênito e Fenilcetonúria em recém-nascidos. Porém desde 2013, foi inserido no programa a triagem e investigação de hemoglobinopatias, principalmente para o diagnóstico precoce da Doença Falciforme. Atualmente, o PNTN pode detectar outras hemoglobinopatias incluindo variantes mais raras e tem-se como objetivo aumentar a cobertura de atuação no país para atender em 100% os nascidos vivos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

1.1 Justificativa

As hemoglobinopatias são distúrbios genéticos que afetam a estrutura da hemoglobina, a proteína responsável pelo transporte de oxigênio no sangue. Dentre todas as hemoglobinopatias, a Anemia Falciforme é considerada a mais comum e mais prevalente, seguida das Talassemias e de outras variantes como a HbC que representam um grupo significativo de doenças genéticas hereditárias com impacto global na Saúde Pública (ROSENFELD *et al.*, 2019).

Dados mundiais apontam que as hemoglobinopatias são o tipo mais comum de doença genética e hereditária em humanos, cerca de 7% da população mundial é portadora, enquanto 2,7% dos nascidos vivos são afetados por esta patologia. Mundialmente, nota-se aproximadamente 270 milhões de pessoas que são portadoras dos genes que formam hemoglobinas variantes. Estudos epidemiológicos sugerem que, de 300 mil a 400 mil crianças nascidas vivas são portadoras de Anemia Falciforme ou um dos tipos de Talassemias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021; SILVA, 2017). No Brasil, a média anual de novos casos de Doença Falciforme em crianças foi de 1.087, com uma incidência de 3,78 a cada 10 mil nascidos vivos. Dados do SUS indicam que a grande parte dos portadores faleceram em sua segunda década de vida, com o Brasil registrando mais de um óbito por dia e uma média de um óbito por semana em crianças de 0 a 5 anos devido a complicações da doença (ARAÚJO, 2023).

Identificar estatisticamente os indivíduos afetados por essas hemoglobinopatias é de grande valia para a Saúde Pública, haja vista que, o diagnóstico tardio dessas doenças pode resultar em complicações futuras e problemas socioeconômicos. Sendo assim, a detecção precoce das hemoglobinopatias, principalmente através da Triagem Neonatal, torna-se imprescindível aos órgãos de Saúde Pública avaliar a incidência e programar melhorias no sistema de diagnóstico e tratamento, contribuindo também para a qualidade de vida dos pacientes portadores homocigotos. Aliás, o diagnóstico precoce permite-se avaliar a probabilidade de um indivíduo portador homocigoto ou heterocigoto de gerar filhos com a doença. No caso dos portadores heterocigotos assintomáticos, eles podem receber aconselhamento genético, evitando ser erroneamente tratados como doentes (SILVA, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

O objetivo deste trabalho acadêmico é ampliar os conhecimentos a respeito das hemoglobinopatias, analisar os dados de incidência das variantes de hemoglobina que foram realizados através da triagem neonatal, em um laboratório privado no município de Sinop – MT. E avaliar a contribuição do PNTN para o diagnóstico dessas doenças, ainda no primeiro ano de vida.

1.2 Problematização

As hemoglobinopatias são doenças causadas por alterações estruturais ou funcionais nas hemoglobinas, molécula proteica presente nas hemácias responsável pelo transporte de oxigênio dos pulmões aos tecidos. As mutações que afetam a hemoglobina podem alterar sua estrutura levando a formação de hemácias deformadas e frágeis ou, alterarem sua funcionalidade levando a uma produção deficiente e inadequada da molécula de hemoglobina prejudicando o organismo inteiro do portador. As hemoglobinopatias são uma das principais e mais comuns doenças hereditárias no mundo, e apesar disso, em muitos casos, pessoas acometidas com essas doenças as descobrem tardiamente ou até mesmo desconhecem a probabilidade de possuírem o traço genético. São doenças que podem ser diagnosticadas através de exames hematológicos e moleculares, porém sua primeira via de diagnóstico é a Triagem Neonatal, também chamada de “Teste do Pezinho” (SILVA, 2017).

A Anemia Falciforme, Talassemias e a HbC são as principais hemoglobinopatias hereditárias e a gravidade de sua manifestação clínica é variável conforme o grau de sua mutação cromossômica. A relevância clínica dessas patologias se dá devido a sua elevada incidência e a gravidade de suas complicações. Na Doença Falciforme, os pacientes podem ter crises álgicas com dor intensa causadas por uma obstrução em vasos sanguíneos, devido a morfologia mutada das hemácias que se tornam rígidas e em formato de drepanócitos (foice), podendo levar o paciente a óbito, dependendo do local no qual ocorrer essa oclusão. Assim como na Anemia Falciforme, as complicações nas Talassemias também irão variar dependendo do nível de sua mutação cromossômica, tendo como consequência ao feto portador do pior grau de Talassemia nascer sem vida, pois a mutação que o atinge impede suas hemácias de transportarem o oxigênio (GONÇALVES, 2022; DAMASCENO, 2021).

Devido o nível de complicações que as hemoglobinopatias podem gerar aos portadores, fica explícito a importância dos métodos de detecção precoce dessas patologias, garantindo assim, o tratamento adequado aos pacientes. Os órgãos de Saúde Pública procuram desenvolver melhorias em seu programa de diagnóstico precoce, estendendo este programa para o máximo de locais possíveis do país, progredindo também a acessibilidade ao tratamento e influenciando na elevação da qualidade de vida dos portadores (SANCHES, 2020; MINISTÉRIO DA SAÚDE 2021).

No Brasil, de 2014 a 2020 foi estimado que entre 60 a 100 mil pessoas no país, sejam portadores das hemoglobinopatias e há uma média de mais de mil novos casos da Doença

Falciforme por ano, além do mais, no Brasil foi registrado uma média de uma morte por semana de crianças com até 5 anos, causadas pelas graves complicações clínicas dessa doença (ARAÚJO, 2023).

Analisando o contexto de estatística acima, e como as complicações das hemoglobinopatias podem ser graves e de grande preocupação para os órgãos de Saúde Pública, questiona-se: Como os dados de incidência das hemoglobinopatias obtidos por meio da triagem neonatal podem ser utilizados para aprimorar políticas de Saúde Pública e programas de cuidados especializados para essas condições patológicas?

1.3 Objetivos

1.3.1 Geral

Desenvolver um estudo descritivo e observacional, com abordagem quantitativa, sobre as principais hemoglobinopatias, sua incidência e metodologias de diagnóstico.

1.3.2 Específicos

- Discorrer sobre as principais hemoglobinopatias;
- Descrever quais as metodologias utilizadas no diagnóstico das hemoglobinopatias;
- Analisar a estatística das hemoglobinopatias no Brasil;
- Compreender o Programa Nacional de Triagem Neonatal – PNTN
- Analisar a incidência das hemoglobinopatias através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop-MT.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Hemoglobinopatias

A hemoglobina (Hb) é uma molécula complexa que pode se ligar ao oxigênio e está presente nos eritrócitos. Essencial à vida, é composta por um grupo heme e quatro cadeias de globina, é uma molécula expressa desde a fase embrionária, porém passa por processos que a modificam. Existem seis tipos de Hb nos humanos: três nos adultos e três nos embriões. As necessidades de oxigênio durante a vida embrionária, fetal e adulta são refletidas na síntese de diferentes hemoglobinas, em cada fase do desenvolvimento. Durante a gestação é expressada as hemoglobinas Gower 1, Gower 2 e Portland, ocorre uma transição da hemoglobina embrionária para a hemoglobina fetal (HbF) e, após o parto, nos adultos é ainda expressado HbF em uma quantidade mínima (1%) , HbA2 também em baixa quantidade (< 3,5%), e a hemoglobina adulta (HbA) essencial e é produzida em maior quantidade. Distúrbios genéticos relacionados às cadeias globínicas podem manifestar-se em diferentes estágios do desenvolvimento e variam de acordo com o grau de mutação que ocorre na molécula de hemoglobina, podendo alterar tanto sua estrutura, quanto funcionalidade, são distúrbios chamados de hemoglobinopatias (SILVA, E., 2023).

Hemoglobinopatias é o termo usado para descrever um grupo de doenças que impactam a produção de hemoglobina. Essas condições são algumas das mais comuns entre as doenças genéticas monogênicas em humanos, afetando aproximadamente 7% da população. São distúrbios genéticos transmitidos de forma recessiva envolvendo a hemoglobina, resultado de mutações nos genes da globina, cerca de 1000 mutações já foram identificadas, elas afetam a estrutura ou a regulação dos genes individuais da globina e conseqüentemente das hemoglobinas que eles codificam. As hemoglobinopatias foram observadas inicialmente em populações ao redor do Mediterrâneo, no Oriente Médio, no Sudeste Asiático e em países da África Subsaariana. Contudo, devido aos deslocamentos populacionais tiveram um impacto significativo na epidemiologia dessas doenças, resultando em sua disseminação global. Como conseqüência, atualmente, a distribuição geográfica dessas condições é muito mais ampla (NUNES, 2023; BRASIL, 2012).

As mutações no DNA resultam em alterações estruturais no produto genético, especialmente nos genes das cadeias de globina, provocando principalmente substituições de aminoácidos. Isso leva à formação de hemoglobinas anormais, algumas das quais apresentam funções, estabilidade e/ou estrutura modificadas. As hemoglobinopatias podem ser categorizadas em duas principais classes, os distúrbios que afetam a síntese de Hb: caracterizados pela produção de cadeias globínicas normais estruturalmente, porém em quantidades reduzidas ou em total ausência de produção (como na Talassemia). E os distúrbios que afetam a estrutura da Hb: A produção das cadeias de globina sofrem mutações que irão levar a modificações estruturais da Hb, com a formação das hemoglobinas S, C, D, ou E, essa alteração de estrutura pode encurtar a vida dos eritrócitos (SILVA, 2017).

Dentre todos os distúrbios, se destacam por sua gravidade clínica e alta prevalência os que levam as doenças: Anemia Falciforme (HbS), Talassemias (HbA2) e Hemoglobinopatia C (HbC).

2.1.1 Anemia Falciforme

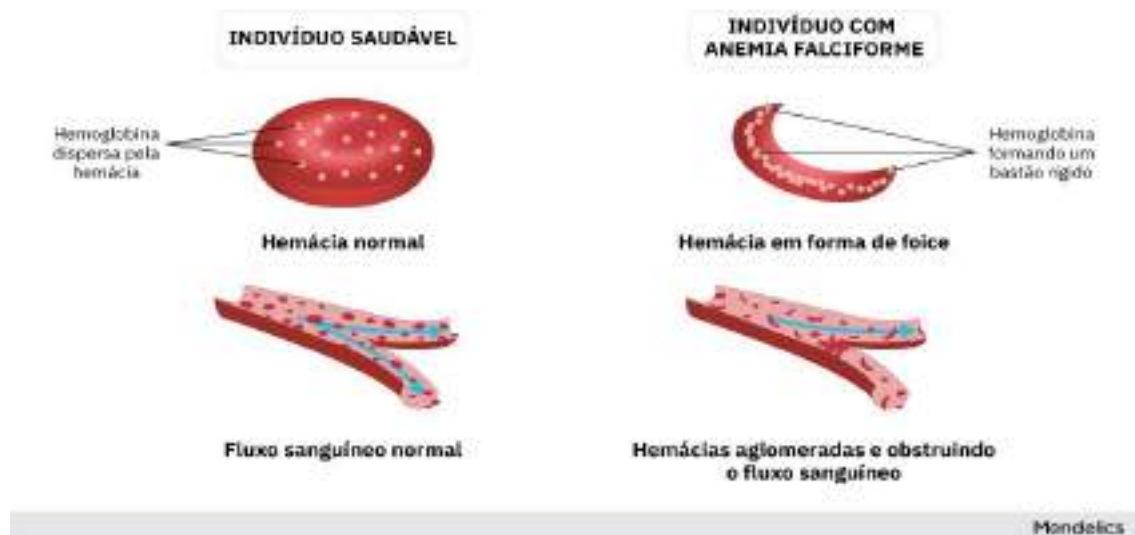
A Anemia Falciforme é uma anemia crônica, hemolítica e hereditária. É a principal e mais comum hemoglobinopatia no Brasil e no mundo, com uma elevada prevalência principalmente em pessoas afrodescendentes. Esta característica deve-se a um fator de proteção ao agente patológico da malária, ou seja, uma hipótese de adaptação, evolução genética de proteção (NUNES, 2023).

Segundo o Ministério da Saúde (2016), no Brasil, nascem em média 3.000 crianças com doença falciforme a cada ano, com uma incidência de aproximadamente 1:1000 para a doença e 1:35 para portadores do traço falciforme. A prevalência da doença falciforme é maior nas regiões Norte e Nordeste do Brasil. Dados avaliados mostram que 4% da população brasileira e aproximadamente 10% dos negros ou afrodescendentes são portadores do traço falciforme (HbAS).

Nesta hemoglobinopatia, irá ocorrer uma mutação nos genes das hemoglobinas levando ao desenvolvimento da hemoglobina S (HbS), que causará uma alteração na estrutura das hemácias levando-as a ficarem em formato de foice, sendo também chamadas de drepanócitos (Figura 2). Neste tipo de mutação ocorre uma translocação de genes na posição 6 da cadeia da beta globina, no qual irá gerar o aminoácido valina ao invés do glutamato. Essa alteração faz com que haja uma polimerização das cadeias da beta globina, fazendo com que as hemácias fiquem em formato de foice e produza uma hemoglobina variante chamada de HbS.

As consequências dessa doença vão desde uma anemia leve a severa, até fortes crises de dor causadas por uma oclusão de vasos (SOUZA, *et al.*, 2021).

Figura 2 – Representação da hemácia de um indivíduo saudável e um com Anemia Falciforme.



Fonte: Gonçalves et al., (2022).

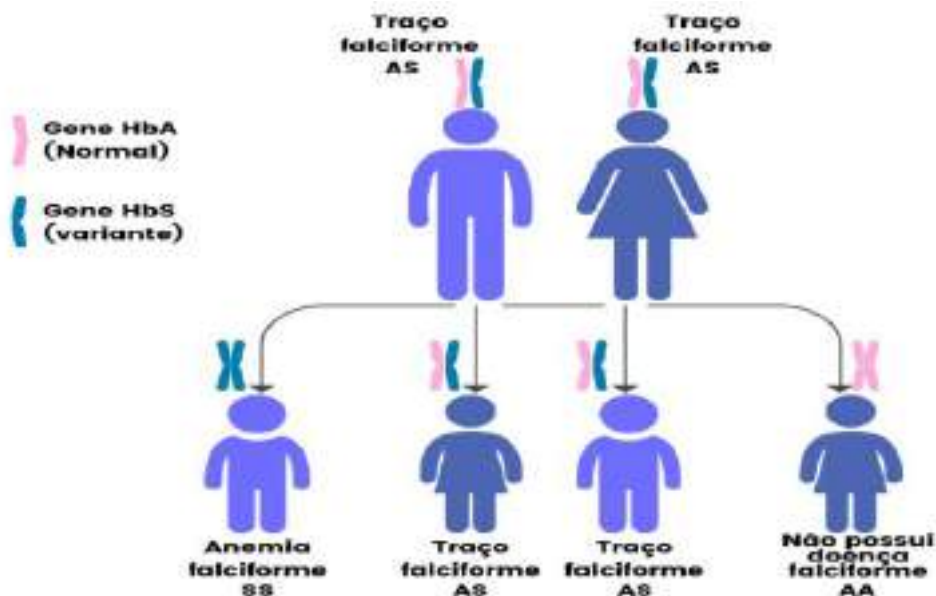
A mutação que ocorre no cromossomo responsável pela produção da beta globina, leva a uma substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia beta. Esta substituição afeta a superfície da proteína, alterando sua carga e mobilidade eletroforética. A polimerização da HbS é influenciada por diversos fatores, incluindo a tensão de oxigênio, concentração intracelular de HbS, temperatura e a presença de outras hemoglobinas como HbA e HbF. Em estados desoxigenados, essa mudança estrutural promove a aproximação das globinas beta S, favorecendo interações moleculares, resultando na formação de polímeros lineares ou helicoidais. A formação desses polímeros altera a morfologia do eritrócito, conferindo-lhe a característica forma de drepanócito (foice). Os polímeros aumentam a viscosidade do citosol dentro do eritrócito, dificultando seu fluxo através dos capilares estreitos da microcirculação. Esse processo contribui para a vaso-occlusão, um dos principais mecanismos patológicos da doença falciforme, que causa crises de dor, danos aos órgãos e outras complicações (DA SILVA, 2020).

Quando muitos eritrócitos deformados se acumulam nos capilares, o fluxo sanguíneo diminui. Podendo se agravar com a queda da temperatura e levando a uma redução do oxigênio nos tecidos. A falta de oxigênio aumenta a quantidade de HbS desoxigenada, o que agrava a circulação já comprometida e danifica os tecidos onde os capilares estão bloqueados. Isso pode resultar em infartos com necrose e formação de fibrose, especialmente em órgãos como baço,

medula óssea e placenta. A hipoxia resultante da obstrução dos vasos sanguíneos pelas células falciformes também pode causar sintomas agudos como crises dolorosas ou crônicas como retinopatia. Em casos graves, os danos aos tecidos podem levar à falência do órgão, especialmente em pacientes mais velhos. As alterações laboratoriais comuns na anemia falciforme incluem redução dos níveis de hemoglobina, baixo hematócrito, aumento dos reticulócitos e diminuição da vida mediadas hemácias. Células falciformes são frequentemente observadas em esfregaços corados (DUARTE, 2023).

Portadores dessa condição genética, detêm os genes recessivos (ss) desta doença, um herdado da mãe e outro herdado do pai. Pessoas que herdam apenas um gene recessivo (As), são portadores apenas do traço falciforme e podem passar este traço aos seus descendentes. Porém, filhos de dois portadores do traço falciforme podem nascer com os genes recessivos (ss) e assim desenvolverem a doença de forma mais grave (Figura 3). Portadores do traço falciforme podem ter presença de drepanócitos, desenvolver uma anemia microcítica leve, entre outros sintomas. Isso irá depender da carga de hemoglobina variante que este portador apresentar (GONÇALVES *et al.*, 2022).

Figura 3 – Demonstração Traço Falciforme X Doença Falciforme.



Fonte: Própria (2023).

Como é possível visualizar na figura acima, dois portadores do Traço Falciforme (As) se tiverem filhos a chance de um nascer com a Doença Falciforme é de 25%, e de possuir o Traço Falciforme é de 50%, e de nascer completamente saudável é de 25%. Esta porcentagem pode variar dependendo da condição dos pais, por exemplo, se um dos pais for um portador homocigoto (ss) e o outro possuir o Traço Falciforme (As), seus filhos tem a possibilidade

apenas de possuírem a Anemia Falciforme (50%) ou o Traço Falciforme (50%) (BRASIL, 2014).

2.1.2 Talassemias

A Talassemia é um tipo de anemia genética e hereditária no qual, a síntese das cadeias de globina é diretamente afetada. Ocorre, devido a uma mutação no gene das cadeias das globinas no qual gera uma deficiência em sua produção. Globalmente, a incidência da talassemia é dividida conforme sua classificação, a Beta Talassemia é prevalente em países do Mediterrâneo, no Oriente Médio, Ásia central, Índia, norte da África e sul da China. No Brasil, segundo a Associação Brasileira de Talassemia, essas doenças chegaram, principalmente por causa dos movimentos imigratórios, especialmente com os italianos, sendo a Talassemia, a hemoglobinopatia mais comum nesses locais (ABRASTA, 2022)

Por outro lado, a forma grave da alfa-talassemia é frequentemente encontrada no Sudeste Asiático. Estima-se que aproximadamente 5% da população mundial seja portadora do traço de Talassemia com milhares de nascimentos afetados a cada ano. No Brasil, a frequência de portadores do traço de Talassemia também é significativa, especialmente em áreas com maior diversidade genética, como é o caso da região sudeste, com destaque para o estado de São Paulo, com o maior número devido à uma elevada taxa de migração para o local (BRASIL, 2016).

Cada molécula de hemoglobina normal é formada por 4 globinas, 2 alfas e 2 betas, que são ligadas por um átomo de ferro. Os seres humanos possuem em normalidade 23 pares de cromossomos, totalizando 46 cromossomos. Esses cromossomos contêm as informações genéticas necessárias para produzir as diferentes partes do nosso corpo. No cromossomo 11 estão as informações para produzir as cadeias de globina beta, enquanto no cromossomo 16 estão as informações para produzir as cadeias de globina alfa. A falta de produção das cadeias de globina alfa ocorre devido a um problema no cromossomo 16, enquanto a falta de produção das cadeias de globina beta ocorre no cromossomo 11. Essas mutações resultam em uma diminuição ou ausência das globinas (DAMASCENO, 2021).

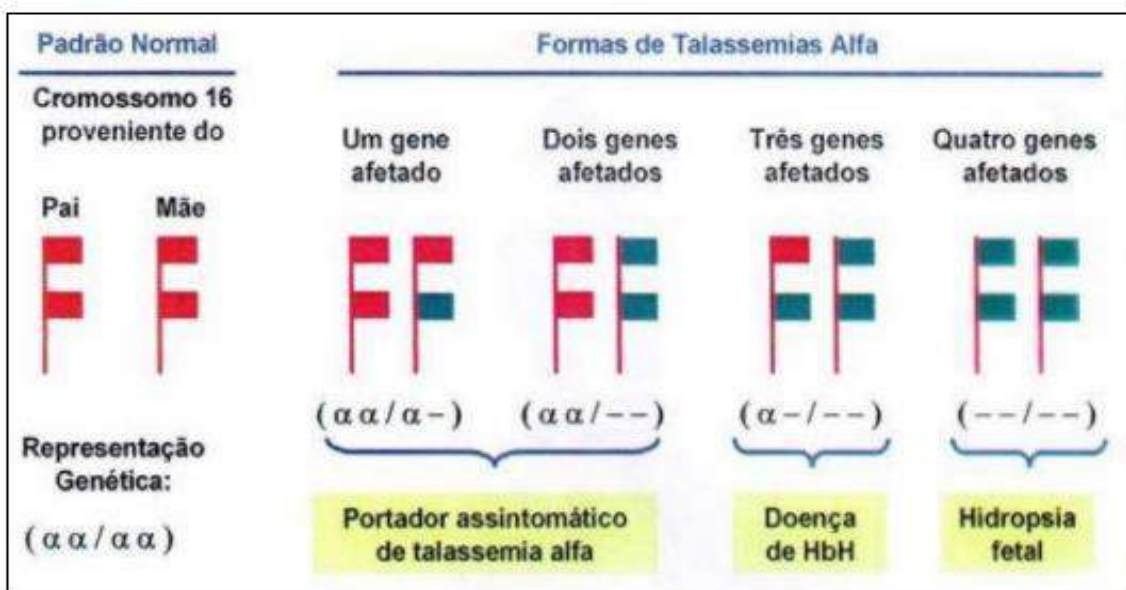
A mutação que ocorre na Talassemia é chamada de deleção e assim como os sintomas clínicos, a classificação da Talassemia irá depender de quantas deleções ocorreram e quais cadeias foram afetadas. Se a cadeia alfa for afetada, é chamada de Alfa Talassemia, se ocorrer nas cadeias betas, é chamada de Beta Talassemia. Assim como na Doença Falciforme, é possível ser apenas portador do Traço Talassêmico, devido a herança genética do gene recessivo. Na

alfa-talassemia, ocorre uma deficiência na produção das cadeias alfa da hemoglobina, devido a deleções nos genes HbA e HbA2. Já na beta-talassemia, as mutações nos genes HBB resultam em uma redução ou ausência na produção das cadeias beta. Essas alterações comprometem a formação da hemoglobina normal (HbA), levando a sintomas variáveis que vão desde assintomáticos até severos, dependendo da gravidade e do tipo de talassemia (MAMAN; MENEZES, 2019).

2.1.2.1 Alfa Talassemia

A Alfa Talassemia é causada pela ausência ou diminuição da síntese das cadeias de globina alfa, resultante na maioria dos casos de deleções nos genes HbA e HbA2. A redução da síntese das cadeias de globina alfa leva à formação de agregados de globina beta que ficam em excesso, os tetrâmeros de beta são conhecidos como HbH, possuem uma alta afinidade pelo oxigênio, resultando em uma entrega ineficiente de oxigênio aos tecidos. Além disso, o excesso de tetrâmeros danifica os precursores eritróides em maturação, causando eritropoiese ineficaz. Portadores de Alfa Talassemia apresentam diferentes níveis de hemólise devido à destruição precoce dos eritrócitos com HbH. A deleção ocorrerá nos genes da cadeia Alfa da globina e os sintomas variam conforme o número de deleções em seu par de cromossomos 16, este que é o responsável por carregar as informações para a produção da cadeia Alfa conforme Figura 4. Podem ocorrer de 1 até 4 deleções nos genes das cadeias da Alfa globina, e a condição clínica do portador irá variar de acordo com número de deleções, podendo ir desde um portador silencioso até uma doença fatal (DAMASCENO, 2021).

Figura 4 – Genética da Alfa Talassemia



Fonte: Dotto (2005).

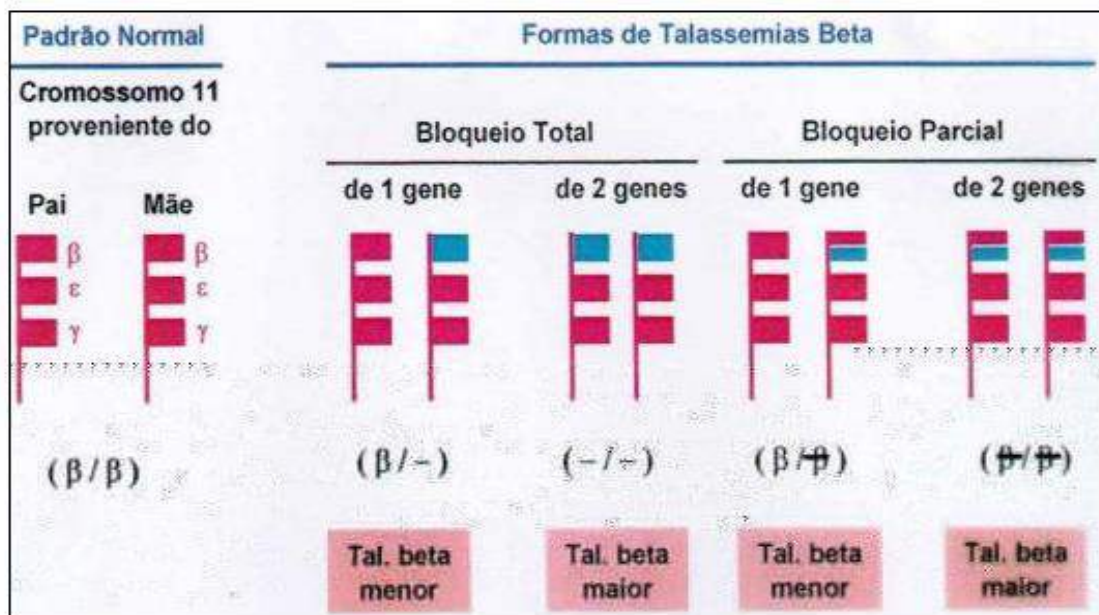
Apenas uma deleção irá fazer com que o portador não apresente nenhum sintoma clínico, ou seja é apenas um portador silencioso, duas deleções e o portador deste traço talassêmico tende a desenvolver uma anemia microcítica de leve a moderada. Três deleções levam a Doença da Hemoglobina H, uma condição na qual, a produção da cadeia Alfa está muito comprometida e isso resulta na formação de tetrâmeros de cadeias beta em excesso denominadas HbH, essa complicação resulta em Anemia hemolítica sintomática e esplenomegalia. A deleção dos quatro genes da globina Alfa leva a uma doença chamada Síndrome de Hidropsia Fetal, uma doença letal intrauterina, incompatível com a vida, pois a hemoglobina que não contém cadeias Alfa, não poderá transportar oxigênio (GONÇALVES et al, 2022).

2.1.2.2 Beta Talassemia

Caracterizada por sua ineficiência em produção de cadeias beta, e alta prevalência de cadeias Alfa, o que causa um desequilíbrio e leva a diferentes tipos de sintomatologia. A Beta Talassemia é mais evidenciada do que a Alfa, por ser geralmente a mais prevalente entre as formas de Talassemia. É considerada a forma mais severa das Talassemias, englobando três apresentações clínicas distintas: Talassemia Beta Maior, Intermediária e Talassemia Beta Menor (MAMAN; MENEZES, 2019).

Os genes beta da globina provenientes do cromossomo 11 são adquiridos um do pai e um da mãe. A clínica desta doença varia conforme o número de deleções de genes, portadores do traço da doença são portadores heterozigotos e possuem geralmente apenas um gene afetado (As ou β^-), portadores homozigotos são os que tem o traço recessivo e carregam os dois genes da Beta globina afetados (ss ou $-/-$) como mostra a figura 5 (GONÇALVES et al, 2022).

Figura 5 – Genética da Beta Talassemia



Fonte: Dotto (2005).

Assim como mencionado anteriormente, a Beta Talassemia pode-se apresentar clinicamente de três maneiras, Beta Talassemia Menor, Beta Talassemia Intermediária e Beta Talassemia Maior.

A Beta Talassemia Menor ou Beta Talassemia Traço (BTT) é a forma clínica mais leve da Beta Talassemia. Indivíduos acometidos por esta condição são geralmente assintomáticos, apresentando níveis de hemoglobina normais ou levemente reduzidos, os parâmetros hematológicos em sua grande maioria são normais, exceto pelo VCM (Volume Corpuscular Médio) que geralmente é encontrado abaixo do valor de referência e pelo número de eritrócitos que se encontra mais elevado em comparação aos indivíduos normais. Esse tipo de Talassemia é frequentemente confundido com a anemia Ferropriva na prática clínica e laboratorial, pois ambas apresentam microcitose. No entanto, o diagnóstico da BTT pode ser facilmente estabelecido pela dosagem de HbA2 que apresenta valores aumentados (>3,5%). Em contraste, pacientes com anemia por deficiência de ferro apresentam valores de HbA2 normais ou diminuídos, o que ajuda a diferenciar as duas condições (MELGAREJO, 2015).

Já a Beta Talassemia Intermediária (BTI) é amplamente diversificada quando se trata de manifestações clínicas podendo ser assintomáticas, possuir uma leve anemia ou desenvolver um quadro grave de anemia com níveis acentuadamente baixos de hemoglobina, podendo requerer transfusões sanguíneas. Essa variação clínica resulta da base genética da BTI, que é extremamente heterogênea e está associada à herança de um ou dois alelos mutantes. A

eritropoese dos portadores de BTI é ineficaz e promove uma elevação na absorção do ferro, levando a uma grave complicação a esses portadores, a sobrecarga de ferro (HOGEN, 2017).

O excesso de ferro no organismo é prejudicial e altamente tóxico para as células, causando danos variados e em grande maioria irreversíveis como cirrose hepática, doenças cardíacas, entre outros. Os portadores utilizam quelantes de ferro como tratamento e para evitar essas complicações. Para diferenciar esses tipos de talassemia, é necessário realizar a caracterização molecular do gene HBB. Realizado através de análise molecular, ajuda a determinar a forma específica de talassemia e a definir o tratamento adequado, melhorando o manejo da doença e a qualidade de vida dos pacientes (LAVALLE, 2019)

Os pacientes com Beta-Talassemia Maior (BTM) são incapazes de produzir moléculas de hemoglobina (Hb) normais e, por isso, dependem de transfusões sanguíneas ao longo da vida. Devido à ausência de HbA, os sintomas clínicos começam a aparecer nos primeiros meses após o nascimento. Esses pacientes enfrentam inúmeras complicações que afetam sua saúde e qualidade de vida, incluindo quadros de anemia grave, disfunção endócrina, problemas renais e de crescimento, sobrecarga de ferro devido às transfusões frequentes, a esplenomegalia é quase sempre maciça devido à alta hemólise, por consequência, o sequestro esplênico pode-se desenvolver acelerando ainda mais a destruição dos eritrócitos normais e levando a uma hiperatividade medular. Na ausência de transfusões de concentrado de hemácias, os níveis de Hb desses indivíduos são acentuadamente baixos, geralmente abaixo de 7 g/dL. Na eletroforese apresenta níveis de HbA₂ > 5%, com predominância de HbF, na análise da série vermelha, os índices do VCM indicam intensa microcitose (BERTOLDI; ABREU; DONADEL, 2020).

2.1.3 Hemoglobinopatia C (HbC)

A hemoglobinopatia C é uma patologia relativamente rara e causada pela formação de hemoglobinas variantes “C” ou HbC, tem como característica tornar os eritrócitos mais enrijecidos e por isso, mais facilmente destruídos pelo baço. Essa Hb anômala é formada através de uma mutação no gene da globina beta, se assemelhando a mutação que ocorre na Anemia Falciforme, para a formação da HbC ocorre uma troca de bases no códon 6 (GAG-AAG) e leva a uma substituição do antes formado aminoácido ácido glutâmico pela então formada após a mutação, o aminoácido lisina. A HbC possui como característica semelhante também a Anemia Falciforme o seu local de origem, o norte da África, também é associada como fator de proteção a malária, principalmente por ser comum em regiões endêmicas desta patologia, recorrente em populações da África Ocidental e em afrodescendentes, porém, também pode ser encontrada

em outras partes do mundo, principalmente devido a miscigenação (ÂNGULO; PICADO, 2009).

Estima-se que até 25% da população em algumas regiões da África Ocidental sejam portadoras do gene HbC. Apesar da sua prevalência, a HbC geralmente não resulta em uma anemia severa, e muitas pessoas com a condição são assintomáticas. No entanto, a epidemiologia da HbC torna-se mais complexa quando considerada em conjunto com outras hemoglobinopatias. Por exemplo, a coinfeção com HbS, resultando na doença da hemoglobina SC, é uma condição mais grave que combina características da anemia falciforme e da HbC, aumentando a morbidade e a necessidade de intervenções médicas. A vigilância epidemiológica e os programas de triagem genética são essenciais para identificar portadores e manejar adequadamente as complicações associadas à HbC e suas variantes (DUTRA, *et al.*, 2022)

A fisiopatologia da HbC envolve a formação de cristais dentro dos eritrócitos, especialmente em condições de desidratação. Esses cristais deformam as células, tornando-as mais rígidas e menos flexíveis, o que facilita sua destruição feita pelo baço, levando a quadros de hemólise e destruição prematura dos eritrócitos. Apesar disso, grande parte dos portadores de HbC são portadores heterozigotos, ou seja, possuem apenas o traço, e a anemia resultante desses portadores tende a ser leve. Já os portadores homozigotos da doença podem desenvolver anemias hemolíticas mais graves, levando ao aumento do baço e do fígado, também nesses casos é comum encontrar no esfregaço sanguíneo desses pacientes achados como codócitos, esferócitos e os cristais de HbC presente nos eritrócitos (SILVA, E., 2023).

A HbC é comumente detectada durante investigações de anemias inexplicadas, através de rastreamentos genéticos ou por meio da triagem neonatal. Portadores heterozigotos são frequentemente assintomáticos, porém podem ser encontrados com associação a outras variantes, principalmente a variante do traço Falciforme, apresentando então a Hemoglobinopatia SC, neste caso os portadores geralmente manifestam os mesmos sintomas da Anemia Falciforme, porém de forma menos intensa, podem ter crises álgicas, no entanto, suas complicações são relativamente menores em comparação com os portadores homozigotos da Doença falciforme. A eletroforese de hemoglobina ou a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) são métodos de diagnósticos essenciais para confirmar a presença de HbC. Níveis elevados de bilirrubina indireta e a presença de reticulocitose (aumento do número de reticulócitos) são indicativos de hemólise compensatória (COSTA, S., 2023).

2.2 Métodos de diagnóstico nas hemoglobinopatias

Os métodos de diagnósticos das hemoglobinopatias podem ser hematológicos ou moleculares, juntos eles fornecem as informações necessárias e específicas da clínica do paciente, auxiliando no correto manejo terapêutico. Alguns dos exames hematológicos utilizados no diagnóstico das hemoglobinopatias é o hemograma e a contagem de reticulócitos, esses são exames iniciais e auxiliam na identificação primária da doença, sinalizando a anemia através dos índices hematimétricos e da quantidade de células imaturas da linhagem eritrocitária (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Outros exames hematológicos mais específicos são a Eletroforese, utilizada para detectar e identificar as variantes de hemoglobinas e a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), um exame mais específico e por isso, mais utilizado e indicado para o diagnóstico das hemoglobinopatias, sua finalidade é identificar e quantificar as hemoglobinas variantes, até mesmo as que se encontram em baixas concentrações (RODRIGUES, 2011).

Já os exames moleculares desempenham um papel fundamental no diagnóstico e aconselhamento genético de pacientes com hemoglobinopatias, permitindo uma compreensão detalhada das mutações genéticas. São exames complexos que identificam a mutação no DNA e definem os traços genéticos dos portadores, o estudo dos exames moleculares permite o diagnóstico e diferenciação dessas doenças hematológicas auxiliando na determinação do tratamento adequado e de um prognóstico fidedigno (SOUZA *et al.*, 2023).

2.2.1 Hemograma

O hemograma completo é um exame acessível e muito solicitado pelos médicos para avaliação periódica, pré-operatória e diagnóstica de doenças que acometem o sangue. Classificado como um importante exame de rotina, o hemograma é utilizado como base para diagnóstico de diversas patologias. É um exame completo sobre as células sanguíneas dividido em três partes, avaliando as três linhagens do sangue, sendo eles, o eritrograma que avalia as hemácias, o leucograma que avalia os leucócitos e o plaquetograma que avalia as plaquetas (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

O eritrograma avalia o hematócrito, contagem de células vermelhas, concentração de hemoglobina e os índices hematimétricos que nos dá parâmetros de tamanho, concentração de hemoglobina e variação da morfologia das hemácias (VCM, HCM, CHCM e RDW) (RODRIGUES, 2011). Segue quadro com os Índices Hematimétricos de um paciente com Anemia:

Tabela 1 – índices hematimétricos de um paciente com Anemia microcítica e hipocrômica.

Série Vermelha	Resultado	Valores de Referenciais
Hemácias	5,26 milh. /mm ³	3,90 a 5,40
Hemoglobina	8,20 g/dL	12,80 a 17,80
Hematócrito	37,00%	39,00 a 53,00
V.C.M	62,58 fL	80,00 a 98,00
H.C.M	20,1 pg	26,50 a 31,00
C.H.C.M	26,80 g/dL	31,50 a 36,00
R.D.W	17,20 %	11,60 a 14,80

Fonte: Hoffbrand (2013).

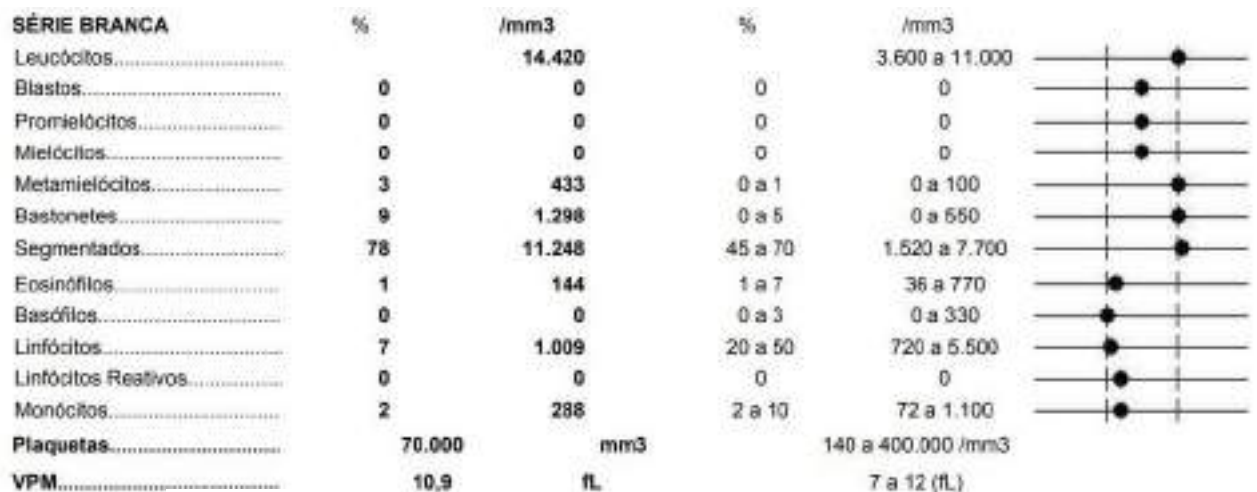
O eritrograma é a parte do hemograma que quantifica e qualifica as hemácias através dos índices hematimétricos. A contagem total de Eritrócitos, Dosagem de Hemoglobina (Hb), Dosagem de Hematócrito (Ht), o Volume Corpuscular Médio (VCM) que avalia o tamanho das hemácias, podendo este variar em microcítica (valores baixos) e macrocítica (valores altos). A Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) avalia a quantidade de hemoglobina e seus parâmetros são hipocromia se estiver com valores baixos e hiperchromia, se os valores estiverem altos. A Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) e Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos (RDW), este último avalia a variação de tamanho das hemácias quando presente é chamado de anisocitose. Com esses critérios de avaliação, o analista tem uma grande variedade de informações que possibilitam uma investigação, diagnóstico e acompanhamento de várias patologias (OLIVEIRA *et al.*, 2022).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), anemia é considerada uma condição, na qual há presença de concentrações baixas de hemoglobina na circulação, abaixo dos valores de referência, sendo detectada através da avaliação do eritrograma e de seus índices hematimétricos. O eritrograma é a avaliação da série vermelha podendo sua análise ser feita através de equipamentos automatizados, ou da confecção de uma lâmina de esfregaço sanguíneo devidamente corado, sendo visualizada, quantificada e qualificada pelo analista. Utiliza-se o microscópio para identificar diferentes morfologias, como no caso da Anemia Falciforme, no qual observa-se a presença de drepanócitos (hemácias em formato de foice). Se for constatada a presença de duas ou mais variações morfológicas de hemácias, trata-se de uma poiquilocitose (XAVIER *et al.*, 2022).

O Leucograma é a segunda parte do hemograma, nele estão contidas informações a respeito dos leucócitos, responsáveis por diversas funções voltadas a defesa do organismo. O aumento do número de leucócitos é classificado como leucocitose e sua diminuição como leucopenia. A contagem de leucócitos é relativa ao tipo de leucócito observado, diferenciando-

os por suas características celulares e são divididos em granulares: neutrófilo, basófilo e eosinófilo, e agranulares: monócito e linfócito. É possível constatar também no leucograma, se há presença de células imaturas da linhagem dos leucócitos, indicando um desequilíbrio medular, além de infecções virais ou bacterianas, crises alérgicas, parasitoses e aplasias. Abaixo a imagem de um hemograma contendo as informações do leucograma e plaquetograma, dois importantes parâmetros de avaliação laboratorial (Figura 6) (ROSENFELD, 2012).

Figura 6 - Leucograma e Plaquetograma



Fonte: Cedido por Laboratório Bioclínico de Análises Clínicas (alterado) (2023).

O Plaquetograma é a parte do hemograma que avalia as plaquetas, fragmentos do citoplasma de um megacariócito, fazendo parte de mecanismos de coagulação. A avaliação destes restos celulares é feita através da contagem automatizada ou manual, seus resultados podem ser classificados como plaquetopenia (baixa de plaquetas) ou plaquetose (aumento de plaquetas). Também está presente o Volume Plaquetário Médio (VPM), que assim como o VCM, avalia o tamanho das plaquetas, podendo estas ser diferenciadas em macro plaquetas e plaquetas gigantes (COMAR; DANCHURA; SILVA, 2009).

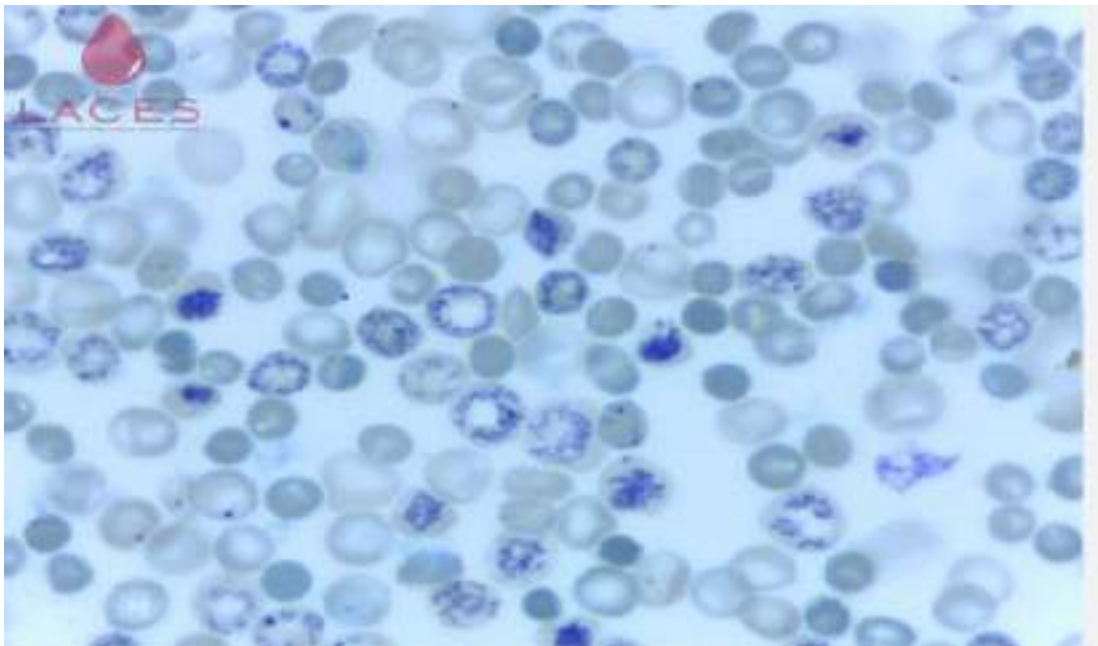
2.2.2 Contagem de Reticulócitos

Os reticulócitos são eritrócitos imaturos que ainda contêm resíduos de material genético (RNA ribossômico) em seu citoplasma, visíveis como uma rede de filamentos e grânulos quando corados e observados ao microscópio. Eles representam a fase final do desenvolvimento dos eritrócitos antes de se tornarem células maduras. Após serem liberados da medula óssea para a corrente sanguínea, os reticulócitos circulam por aproximadamente um a dois dias antes de perderem seus resíduos de RNA e se tornarem eritrócitos maduros. A

contagem de reticulócitos no sangue é um indicador importante da atividade da medula óssea e da capacidade do corpo de produzir novos eritrócitos. Uma contagem elevada pode indicar uma resposta a uma anemia ou perda de sangue, enquanto uma contagem baixa pode sugerir problemas na produção de eritrócitos (JOÃO; PINTO; COSTA, 2008)

Na contagem de reticulócitos podem-se observar células imaturas da linhagem dos eritrócitos que contém resquícios de material genético (figura 7). A presença elevada de reticulócitos indica um estímulo medular de forma compensatória, como é o caso de anemias hemolíticas, ou devido à algum outro distúrbio patológico envolvendo a linhagem eritrocitária. Por outro lado, uma porcentagem normal ou baixa de reticulócitos em um paciente anêmico indica que a medula está com baixa atividade proliferativa ou a eritropoese está ineficaz (ARAI *et al*, 2010).

Figura 7 – Reticulócitos corados com Azul de Cresil brilhante, vistos em microscopia na objetiva de 100x.



Fonte: Atlas Online de Hematologia da Universidade Federal de Goiás (alterado) (2022)

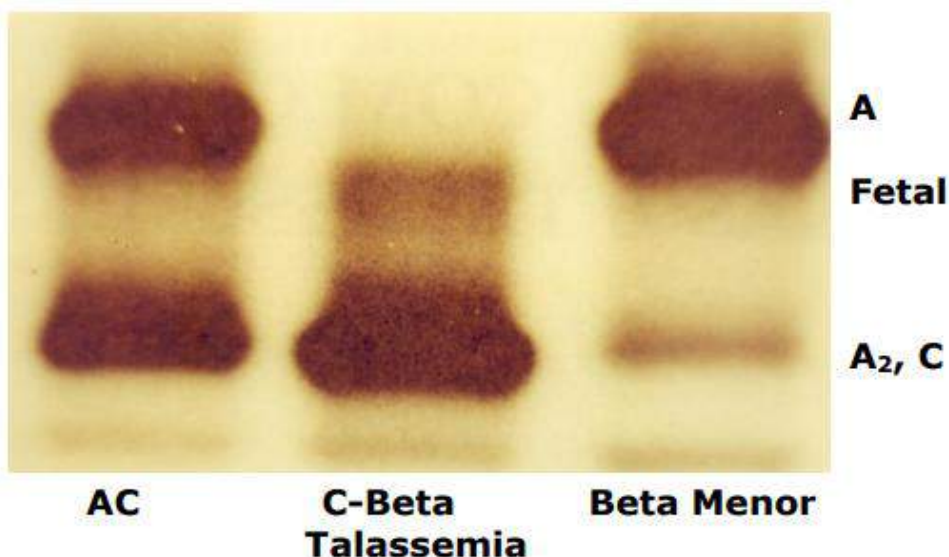
Diante disso, a contagem de reticulócitos é realizada para avaliar a função medular, a gravidade de uma doença, ou como monitoramento para acompanhamento terapêutico, já que pacientes que recebem transfusões sanguíneas ou terapias com medicamentos, a contagem de reticulócitos pode ajudar a avaliar se a medula óssea está respondendo adequadamente. Pode ser utilizada como auxiliar no diagnóstico diferencial das Anemias, como no caso da Anemia Falciforme, no qual os reticulócitos encontram-se frequentemente aumentados (reticulocitose) nesta patologia, sendo esta contagem utilizada como parâmetro de acompanhamento desta hemoglobinopatia (LEONART, 2009).

2.2.3 Eletroforese de hemoglobina

As hemoglobinas são proteínas carregadas que ao serem expostas a um campo elétrico, migram a uma velocidade em direção específica dependendo do sinal e força da carga total. A eletroforese de hemoglobina é uma das técnicas mais comuns para a detecção, quantificação e caracterização inicial de suas variantes. A análise da hemoglobina por meio de eletroforese requer a coleta em um tubo com anticoagulante de uma amostra de sangue venoso. Através da centrifugação, é possível separar os componentes do sangue, como os glóbulos vermelhos do plasma. Em seguida, ocorre uma hemólise liberando a hemoglobina. Essa hemoglobina é então colocada em um suporte, que pode ser um gel ou papel e imersa em uma solução tampão. Utilizando-se de uma corrente elétrica, é possível observar o movimento das diferentes formas de hemoglobina no suporte, sendo que cada forma variante se desloca em uma direção (NAOUM, 2011).

A eletroforese de hemoglobina pode ser realizada em diferentes meios como membranas de acetato de celulose com um pH de 8,4-8,6 (Figura 8), papel de filtro e gel de agarose (6,0). Contendo um pH de 8,6, as hemoglobinas humanas detêm uma carga total negativa e que conseqüentemente, irão migrar em direção ao polo positivo no sistema eletroforético. Mutações que não afetam sua carga podem passar despercebidas na eletroforese. Contudo, a interação com a matriz (acetato de celulose ou gel de agarose) também pode influenciar a velocidade de migração. Uma membrana de acetato de celulose com um pH de 8,4-8,6 possibilita a separação e identificação de várias hemoglobinas como A, F, S, A₂, C, e outras variantes menos conhecidas. Entretanto, a eletroforese das hemoglobinas é menos confiável na quantificação de variantes com menor concentração, como por exemplo, da hemoglobina variante do traço talassêmico a HbA₂ (GONÇALVES *et al.*, 2022).

Figura 8 – Eletroforese em acetato de celulose com pH alcalino (pH 8,6)



Fonte: Naoum, 2011.

A eletroforese ácida é desenvolvida em gel de agarose, sendo tamponada em solução de citrato, com um pH variando entre 5 e 6. Embora o princípio básico seja o deslocamento das moléculas de hemoglobina por seu ponto isoelétrico, outro fator que afeta a mobilidade elétrica é a eletroendosse, este fenômeno físico-químico resulta da interação elétrica entre as diversas moléculas de hemoglobina e as proteínas da agarose. O grande benefício da eletroforese ácida é a capacidade de distinguir a HbS das outras 22 principais variantes de hemoglobinas, as quais migram para o mesmo ponto quando submetidas à eletroforese alcalina. Portanto, a aplicação combinada de eletroforese alcalina e ácida de hemoglobina desempenha um papel importante na identificação de diferentes genótipos de hemoglobinas (NAOUM, 2011).

2.2.4 Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC)

A Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC, do inglês *High-Performance Liquid Chromatography*) é metodologia analítica utilizada para separar, detectar e quantificar os componentes de uma mistura de compostos em uma solução líquida. Essa técnica é uma evolução da cromatografia líquida convencional, oferecendo maior eficiência e resolução, é possível realizar a separação de diversos compostos, mas principalmente de compostos proteicos, como a hemoglobina (POLAINAS, 2017).

O método de diagnóstico realizado pela HPLC proporciona a identificação de baixas concentrações dos elementos ou substâncias, devido a isto é considerada uma técnica de elevada especificidade. A HPLC desempenha um importante papel na detecção e caracterização das hemoglobinopatias, principalmente das variantes cuja as concentrações são baixas, como as Talassemias (HbA2) e a sua associação com outras variantes, como a Anemia Falciforme ou a Hemoglobinopatia C, além do mais detecta diversas outras variantes de hemoglobina (JESUS; SOUZA; JERALDO, 2022).

A base da Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) reside na troca iônica em conjunto com um gradiente de eluição, possibilitando a separação dos diferentes subtipos e variantes de hemoglobina (Hb). As frações de Hb separadas são minuciosamente acompanhadas por um detector espectrofotométrico, operando frequentemente em um comprimento de onda de 415nm (POLAINAS, 2017).

Esta técnica possui alta sensibilidade e especificidade, sendo recomendada pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) para detecção de hemoglobinopatias em

neonatos, além de ser utilizado na fragmentação e identificação de substâncias tóxicas à saúde. Reconhecida como técnica preferencial na investigação de variações das hemoglobinas, a HPLC é capaz de quantificar as concentrações de HbA₂, HbF, HbA, HbS, HbC (figura 9), entre outras (ROQUE; ANDRADE; SIERPE, 2022).

Figura 9- Porcentagens de hemoglobinas variantes de um portador de Anemia Falciforme, traço talassêmico e crise hemolítica, retirados de uma eletroforese por HPLC.

Resultado:

A1:.....	0,0	%
A2:.....	4,4	%
F:.....	4,2	%
S:.....	47,1	%
C:.....	44,3	%
Outras.....	0,0	%

Valor de Referência:..... Valores de referência: hemoglobina A1: Superior a 95,0%

Hemoglobina A2 : de 1,5 a 3,7%

Hemoglobina fetal: inferior a 2,0%

Hemoglobina S : ausente

Hemoglobina C : ausente

Fonte: Cedido por Instituto Hermes Pardini S.A(alterado)(2023).

As variantes de hemoglobina que podem ser detectadas pela técnica de HPLC são diversas e dentre elas as de maior relevância são: HbA – hemoglobina normal, sendo 95% das hemoglobinas; HbA₂ -hemoglobina variante do traço talassêmico, importante na identificação das síndromes talassêmicas, principalmente da Beta Talassemia; HbF – hemoglobina Fetal, alta prevalência em crianças e diminui sua porcentagem conforme o crescimento, sendo em adultos encontrado o valor de 0,0% a 2,0%.; HbS – hemoglobina variante da Anemia Falciforme, produzida no lugar da HbA devido a uma mutação no gene da hemoglobina, levando as hemácias a ficarem em formato de foice; HbC – hemoglobina variante que pode levar a uma Anemia Hemolítica, ou crises hemolíticas. Outras variantes não tão conhecidas, também podem ser identificadas pela HPLC, porém as citadas acima são a de maior importância clínica por apresentarem maior prevalência (MELO *et al.*, 2008).

2.2.5 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é frequentemente utilizada no diagnóstico de hemoglobinopatias por amplificar regiões específicas do DNA que contêm mutações detectadas em genes da hemoglobina. A PCR é uma ferramenta específica para amplificar o DNA de interesse, permitindo alterações específicas, tornando mais fácil a detecção de mutações pontuais ou deleções. A PCR em tempo real (qPCR) também é usada para quantificar a expressão de genes da hemoglobina. O processo para diagnosticar hemoglobinopatias por PCR envolve várias etapas, a primeira delas é a extração de DNA, após isso para amplificar regiões específicas dos genes da hemoglobina, são usados oligonucleotídeos curtos chamados de primers, projetados para se ligarem às sequências franqueadoras da mutação de interesse. Os primers são projetados de modo a permitir a amplificação da mutação adequada na amostra (DE OLIVEIRA, 2019).

A PCR é conduzida em um termociclador. A mistura contém o DNA extraído, primers específicos para a região alvo dos genes da hemoglobina, nucleotídeos, enzimas de DNA polimerase e danos de ocorrência. A ocorrência de PCR ocorre em ciclos, onde o DNA é aquecido para desnaturar, em seguida resfriado para permitir que os primers se liguem às sequências-alvo e a enzima DNA polimerase amplifica o DNA. Após a conclusão da PCR, os produtos amplificados são analisados. Em um gel de agarose, os fragmentos de DNA amplificados serão separados de acordo com o tamanho. A presença ou ausência da banda de DNA esperada para a mutação indicada é observada. Se a PCR indicar a presença de uma mutação, a sequência do DNA amplificado pode ser determinada para confirmar e identificar a mutação específica. Isso é frequentemente feito usando técnicas de sequenciamento de DNA, como sequenciamento Sanger ou sequenciamento de próxima geração (NGS) (SOUZA *et al.*, 2023).

2.2.6 Sequenciamento De DNA

O diagnóstico de hemoglobinopatias, pode ser realizado através de técnicas moleculares como o sequenciamento do ácido desoxirribonucleico (DNA), esta técnica tem como principal finalidade a determinação da sequência das bases nitrogenadas Adenina, Citosina, Guanina e Timina, ela é realizada a partir de uma série de procedimentos bioquímicos que desencadeia na amplificação do DNA. Este procedimento permite a identificação de mutações nos genes que codificam a hemoglobina, como o gene HBB (que codifica a globina beta, afetando a anemia falciforme) e os genes alfa e beta da globina (que afetam a talassemia) (HEPP; DE NONOHAY, 2016)

A primeira etapa desse exame envolve a coleta de uma amostra de DNA do paciente. Isso pode ser feito através de coleta de sangue, *swabs* de bochecha, saliva ou outros métodos, dependendo da preferência e disponibilidade do laboratório. O DNA é extraído da amostra coletada, geralmente por meio de kits de extração de DNA que utilizam diferentes métodos, como pesquisas de proteínas e separação de componentes celulares. O próximo passo é amplificar as regiões dos genes de interesse usando a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR). Isso permite que regiões específicas dos genes, onde as mutações são esperadas, sejam amplificadas para análise (SOUZA *et al.*, 2023).

As regiões amplificadas dos genes de interesse são então submetidas ao sequenciamento de DNA. Existem várias tecnologias de sequenciamento disponíveis, como sequenciamento Sanger, sequenciamento de próxima geração (NGS) e sequenciamento de terceira geração (por exemplo, PacBio ou nanopore). O método exato utilizado pode variar dependendo do laboratório e da disponibilidade. Após o sequenciamento, os dados são analisados para identificar quaisquer alterações ou variantes nos genes relacionados à hemoglobinopatia. Isso pode ser comparado às sequências obtidas com uma referência conhecida ou com as sequências normais de controle. As lesões responsáveis pela hemoglobinopatia são identificadas nesse estágio (SANTOS *et al.*, 2013).

2.3 Programa Nacional De Triagem Neonatal

2.3.1 Contexto Histórico

Em 2001, o Ministério da Saúde a partir dos membros da Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal, criou uma comissão de assessoria técnica, a fim de regulamentar a triagem neonatal no Brasil. Inicialmente, o levantamento de cobertura populacional era insuficiente e desigual, com muitas variações em diversas regiões do país. Diante desta situação, o Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), regulamentado pela Portaria nº 822, de 6 de junho de 2001 (MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria GM/nº. 822: Cria o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). 2001).

Nos primeiros seis meses, após a publicação da portaria de instituição do programa, até 31 de dezembro de 2001, foram habilitados no PNTN 22 estados e o Distrito Federal, totalizando 30 Serviços de Referência em Triagem Neonatal (SRTN), sendo um em cada estado, dois no Rio de Janeiro e quatro em São Paulo. Apenas quatro estados – Amapá, Piauí, Rio Grande do Norte e Roraima – não solicitaram habilitação nesse período. A diversidade estrutural entre os estados e, conseqüentemente, entre os próprios SRTN gerou as principais

dificuldades no processo de habilitação. Apesar disso, foi surpreendente a mobilização dos 22 estados e do Distrito Federal para a formação e inclusão do PNTN em suas redes estaduais em um curto espaço de tempo (MENDES *et al.*, 2019).

Inicialmente, o PNTN foi estabelecido em três fases de acordo com a organização, nível e cobertura de cada estado, possibilitando o rastreamento de quatro doenças. Na Fase I era realizado o diagnóstico apenas da fenilcetonúria e do hipotireoidismo congênito; na Fase II o diagnóstico de hemoglobinopatias foi incluído aos testes da Fase I, porém apenas para o diagnóstico da Anemia Falciforme; já na Fase III foi acrescentado o diagnóstico de fibrose cística aos demais testes já inseridos no programa, e o diagnóstico das hemoglobinopatias passou a englobar mais variações de Hb anômalas. Em novembro de 2013, foi incluída a Fase IV sendo nesta incorporada a triagem a detecção da hiperplasia adrenal congênita e a deficiência de biotinidase, compondo a última fase do programa, por enquanto (BRASIL, 2021).

Em 2011, o programa havia passado por uma reformulação visando efetivar a conformação nos estados no qual o programa já havia sido implementado. Um plano de ação foi preparado para diminuir a desigualdade entre os estados na triagem neonatal em todo o país. Em 2012, oito estados se tornaram aptos na Fase III (Bahia, Ceará, Distrito Federal, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Pará e Pernambuco), e em 2013, ocorreu a universalização da Fase II e III, além da aptidão de 12 estados na Fase IV. Em junho de 2014, a universalização da Fase IV foi concluída com a habilitação de 15 estados (MENDES, L., 2013; BRASIL, 2021).

As perspectivas para o futuro do PNTN envolvem a consolidação das fases já implementadas, a expansão da cobertura populacional e a inclusão de novas doenças no escopo da triagem neonatal. A reformulação contínua do programa, aliada ao desenvolvimento de sistemas de informação robustos e programas de capacitação contínua, visa garantir uma triagem neonatal mais eficaz e equitativa em todo o território brasileiro, assegurando a detecção precoce e o tratamento adequado de um número crescente de doenças congênitas.

2.3.2 A Triagem Neonatal das Hemoglobinopatias

O teste do pezinho como é popularmente conhecido faz parte do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), desenvolvido pelo SUS, como uma forma de diagnosticar doenças hereditárias e genéticas ou traço destas doenças em recém-nascidos. As hemoglobinopatias adentraram ao programa inicialmente envolvendo o diagnóstico e tratamento da Anemia Falciforme em recém nascidos, porém atualmente é utilizado para detectar outros tipos de Hb variantes através da HPLC, dentre elas a HbC e a HbA2 (GONÇALVES *et al.*, 2022).

O objetivo do programa é a identificação precoce de doenças congênitas e metabólicas em recém nascidos, contribuindo para uma intervenção médica imediata, o que pode prevenir ou minimizar as complicações graves dessas patologias, promover um bom prognóstico e o desenvolvimento saudável dessas crianças, reduzindo as taxas de mortalidade infantil e prolongando a longevidade dos portadores (BRASIL, 2016).

A avaliação de hemoglobinas variantes em neonatos por método de HPLC é essencial para um diagnóstico mais preciso das hemoglobinopatias, tendo em vista que esta metodologia quantifica e diferencia variantes que outras metodologias não conseguem, outro fator importante a se ressaltar desta metodologia é a identificação do traço das hemoglobinopatias, sendo esse um fator de importância para o aconselhamento genético dos portadores. Realizar a análise da incidência dessas hemoglobinopatias é de importância para a constante avaliação da situação epidemiológica dessas doenças de cunho genético tão comuns e com complicações tão graves (REIS *et al.*, 2018).

Atualmente o programa de triagem neonatal PNTN possui uma cobertura ampla e heterogênea entre os estados do país, porém, campanhas de conscientização ainda são necessárias, visando alertar e informar aos pais a importância da triagem neonatal na identificação das hemoglobinopatias e das outras doenças congênitas, na qual o recém-nascido pode desenvolver. Os profissionais de saúde envolvidos no processo da triagem neonatal, inclusive os biomédicos que podem atuar desde a coleta até a análise dos resultados, desempenham também um papel fundamental nesse contexto de conscientização, podendo atuar em campanhas educativas e consultas, fornecendo informações claras e acessíveis sobre os benefícios da triagem e as possíveis implicações das doenças detectadas (MENDES *et al.*, 2019).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Aproximadamente 15% da população mundial é portador assintomático de tipos de anemias hereditárias. No Brasil, a miscigenação influenciou na propagação dos genes anormais, levando ao aumento de doenças como a Anemia Falciforme, a Hemoglobinopatia C e as Talassemias. A Anemia Falciforme e a Hemoglobinopatia C descendem principalmente de afrodescendentes, enquanto as Talassemias são frequentes em locais onde houve colonização italiana. Entre as hemoglobinas variantes, as mais frequentes na população brasileira são a HbS, HbC e HbA2, o grau de anemia causado por essas doenças é variável. Entretanto, quando em homozigotos (aa), o fenótipo é clinicamente mais significativo e geralmente cursa com anemia grave, entre outras complicações, enquanto em heterozigotos (Aa) os sintomas são leves, ou os portadores podem ser assintomáticos (CAVALCANTI, 2011; DA SILVA, A., 2020).

O objetivo deste estudo foi avaliar a incidência de hemoglobinopatias em pacientes neonatais atendidos por um laboratório privado na cidade de Sinop - MT. Foram analisados 2.595 exames de triagem neonatal realizados entre os anos de 2020 a 2023 no laboratório, os testes a serem realizados foram feitos através da metodologia de HPLC, a análise dos resultados individuais foi interpretada utilizando as informações contidas nos laudos, sendo estes ditos como parâmetros normais, portadores homozigotos ou heterozigotos (Traço) das seguintes variantes: HbS, HbC, HbA2, entre outros.

Em uma visão geral, dentre 2.595 pacientes analisados, 97% (n=2.527) não apresentaram nenhuma alteração nas hemoglobinas, 1,5% (n=39) são portadores do Traço Falciforme e 0,65% (n=17) são portadores do Traço C. Não houveram presentes portadores do traço de HbA2 ou portadores homozigotos das hemoglobinopatias no geral.

3.1 Tabelas de dados coletados em um laboratório privado na cidade de Sinop-MT

Tabela 2 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2023.

HEMOGLOBINA	NEONATOS ANO DE 2023 (648)	PERCENTUAL
HBFA1 (NORMAL)	632	97,53%
HBFA2 (TRAÇO FALCÊMICO)	7	1,08%
HBFS (FALCIFORME)	0	0,00%
HBFA2 (TRAÇO TALASSÊMICO)	0	0,00%
HBFC (HEMOGLOBINOPATIA C)	0	0,00%
HBFA2 (TRAÇO DE HEMOGLOBINOPATIA C)	7	0,93%
OUTRAS	0	0,00%
PERCAS	2	0,46%
TOTAL DE EXAMES NO ANO DE 2023	648	100,00%

Fonte: Própria, (2024).

Em **2023** o (n) de testes a serem analisados foi de 648 no total, 97,5% (n=632) dos testes obtiveram resultados dentro do padrão normal para recém nascidos, 1% (n=7) dos analisados possuem o Traço Falciforme, ou seja, são portadores heterozigotos e 0,93% (n=6) da população analisada são portadores heterozigotos do Traço C. Neste ano 3 testes tiveram resultados inconclusivos.

Tabela 3 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2022.

HEMOGLOBINA	NEONATOS ANO DE 2022 (739)	PERCENTUAL
HBFA1 (NORMAL)	720	97,43%
HBFA5 (TRAÇO FALCÊMICO)	14	1,89%
HBFS (FALCIFORME)	0	0,00%
HBFA2 (TRAÇO TALASSÊMICO)	0	0,00%
HBFC (HEMOGLOBINOPATIA C)	0	0,00%
HBFA5C (TRAÇO DE HEMOGLOBINOPATIA C)	2	0,27%
OUTRAS	0	0,00%
PERCAS	3	0,41%
TOTAL DE EXAMES NO ANO DE 2022	739	100,00%

Fonte: Própria, (2024).

No ano de **2022** o número de testes realizados foram de 739, dentre estes, 97% (n=720) dos recém nascidos obtiveram resultados normais, 1,9% (n=14) dos testes indicaram a presença de HbA5, ou seja, portadores heterozigotos do Traço Falciforme, enquanto 0,27% (n=2) foram classificados como portadores heterozigotos do Traço C. Além disso, 3 testes neste ano tiveram resultados inconclusivos.

Tabela 4 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2021

HEMOGLOBINA	NEONATOS ANO DE 2021 (640)	PERCENTUAL
HBFA1 (NORMAL)	625	97,65%
HBFA5 (TRAÇO FALCÊMICO)	8	1,25%
HBFS (FALCIFORME)	0	0,00%
HBFA2 (TRAÇO TALASSÊMICO)	0	0,00%
HBFC (HEMOGLOBINOPATIA C)	0	0,00%
HBFA5C (TRAÇO DE HEMOGLOBINOPATIA C)	4	0,62%
OUTRAS	0	0,00%
PERCAS	3	0,47%
TOTAL DE EXAMES NO ANO DE 2021	640	100,00%

Fonte: Própria, (2024).

Em **2021**, o n de pacientes aumentou, um total de 640 testes foram realizados, dentre os quais 3 obtiveram um resultado inconclusivo, 97,6% (n= 625) dos recém nascidos tiveram

resultados dentro dos padrões normais, 1,25% (n=8) foram classificados como portadores de Traço Falciforme e 0,6% (n=4) de portadores de Traço C.

Tabela 5 - Variantes de hemoglobina através da triagem neonatal em um laboratório privado do município de Sinop no ano de 2020

HEMOGLOBINA	NEONATOS ANO DE 2020 (568)	PERCENTUAL
HBFA1 (NORMAL)	550	96,83%
HBFA5 (TRAÇO FALCÊMICO)	10	1,76%
HBFS (FALCIFORME)	0	0,00%
HBFA2 (TRAÇO TALASSÊMICO)	0	0,00%
HBFC (HEMOGLOBINOPATIA C)	0	0,00%
HBFA4 (TRAÇO DE HEMOGLOBINOPATIA C)	4	0,70%
OUTRAS	0	0,00%
PERCAS	4	0,70%
TOTAL DE EXAMES NO ANO DE 2020	568	100,00%

Fonte: Própria, (2024).

No ano de **2020**, o (n) total da pesquisa foi de 568 testes. Dentre estes, 4 obtiveram resultado inconclusivo, entretanto, 96,8% (n=550) dos neonatais deste ano possuíam suas hemoglobinas fetal e adulta em quantidades normais, 1,7% (n=10) sendo classificados como portadores heterozigotos do Traço Falciforme e 0,7% (n=4) sendo portadores heterozigotos do Traço C.

Tabela 6 – Divisão por gênero dos portadores de hemoglobinopatias da pesquisa.

PORTADORES DE HEMOGLOBINOPATIA (TOTAL = 55)	SEXO FEMININO	SEXO MASCULINO
TRAÇO FALCIFORME (n=39)	23	16
TRAÇO DE HEMOGLOBINOPATIA C (n=17)	8	9

Fonte: Própria (2024).

Os dados obtidos do Quadro 2, revelam maior prevalência de Traço Falciforme em recém nascidos do sexo feminino (n=23) do que no sexo masculino, no qual a prevalência foi de (n=16). Já no caso do Traço de hemoglobinopatia C de 17 portadores, (n=9) são do sexo masculino e (n=8) do sexo feminino, diante do exposto, é visto que na pesquisa houve uma diferença significativa de gênero apenas entre os portadores do Traço Falciforme.

A análise dos dados de hemoglobinopatias diagnosticadas através da triagem neonatal em um laboratório privado de Sinop-MT revelou importantes informações sobre a prevalência e distribuição dessas condições na região. No Brasil, a anemia falciforme e as talassemias são as hemoglobinopatias mais comuns. Segundo o Ministério da Saúde, cerca de 3.000 crianças

nascem com anemia falciforme a cada ano no Brasil, com uma incidência de aproximadamente 1:1.000 nascimentos para a doença e 1:35 para portadores do traço falciforme. A prevalência da hemoglobinopatia C e da Doença falciforme é maior nas regiões Norte e Nordeste, devido a um maior número de pessoas afrodescendentes, em média 4% da população do nordeste é portadora do traço falciforme, já as Talassemias são mais predominantes nas regiões Sul do país devido a influência genética de italianos na região (BRASIL, 2021; BRASIL, 2012).

Em uma pesquisa utilizando dados do PNTN, foi estimado que nasçam cerca de 180 mil crianças por ano com Traço Falciforme. Segundo dados dos programas estaduais de triagem neonatal, a incidência do Traço Falciforme em recém nascidos de alguns estados foi de 1:17 na Bahia, o que significa que a cada criança nascida viva que portava o Traço Falciforme, 17 não apresentavam esta condição. Nos estados de Pernambuco e no Maranhão a relação fica em 1:23; em Goiás, 1:25; Espírito Santo, 1:28; em Minas Gerais, 1:30; em São Paulo, 1:40; e nos estados da região sul 1:6520. Confirma-se, então, maior presença de Traço Falciforme, principalmente em regiões do nordeste, enquanto no Sul, os números de casos, apresenta ser menos comum (ROSENFELD *et al.*, 2019).

Castro (2018), utilizando dados registrados de um período de 6 anos (2010-2016) do Serviço de Referência de Triagem Neonatal (SRTN) de Mato Grosso, localizado no Hospital Universitário Júlio Muller, é evidenciado que o Traço Falciforme e o Traço de hemoglobinopatia C foram as formas mais prevalentes de hemoglobinopatias registradas no estado do Mato-Grosso seguindo a epidemiologia Nacional, no qual também se dá destaque o traço, sendo mais predominante do que a doença. Dando destaque em outro tópico da pesquisa, no qual é dito que as três cidades com maior incidência de hemoglobinopatias, respectivamente são Cuiabá, Rondonópolis e Sinop.

Ainda sobre o município de Sinop, foram registrados 808 casos de Traço Falciforme, 5 casos de Anemia Falciforme, 189 casos de hemoglobinopatia C e 21 casos de Alfa Talassemia, esses dados foram obtidos entre o período de 2010 a 2016. Ao comparar com os dados obtidos da pesquisa atual, no município de Sinop, há uma alta incidência de Traço Falciforme seguida de Traço C, o que pode explicar essa alta incidência de “Traços” das hemoglobinopatias são a alta diversidade genética da população local, incluindo diversos descendentes de populações afro-brasileiras associada a um grande número de migrações das regiões nordeste e sul ao estado de Mato-Grosso (CASTRO, 2018).

Conclui-se então que pela análise de dados obtidos nesta pesquisa, a uma maior incidência de Traço Falciforme e Traço C na região de Sinop – MT, principalmente devido a região ter uma população muito miscigenada. Diante do exposto, percebe-se o quão

fundamental é o diagnóstico precoce através da triagem neonatal, a identificação de hemoglobinopatias ou do traço em portadores heterozigotos nos recém nascidos permitindo intervenções terapêuticas e preventivas oportunas, o que pode melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes e reduzir complicações a longo prazo. Além do mais, um diagnóstico precoce é importante até mesmo para os portadores do traço devido ao aconselhamento genético, ter informações sobre suas condições genéticas e evitar a propagação de uma hemoglobinopatia aos seus descendentes (ROSENFELD *et al.*, 2019).

4. METODOLOGIA

Este é um estudo descritivo e observacional, com abordagem quantitativa e foco nas principais hemoglobinopatias suas manifestações clínicas, metodologias de diagnóstico e análise de sua incidência através da triagem neonatal realizadas por um laboratório privado do município de Sinop. Para este estudo descritivo, foram feitas pesquisas principalmente de artigos e livros com referencial teórico em base de dados como Scielo, PubMed, OMS, Google Acadêmico e Diretrizes do Ministério da Saúde. O período de tempo delimitado para a pesquisa foi desde 2000 até 2024.

As palavras chaves utilizadas para pesquisa foram “hemoglobinopatias” “falciforme” “talassemias” “hemoglobinas” “Epidemiologia Hemoglobinopatias” “Incidência hemoglobinopatias” “Traço Falciforme” “eletroforese” “HPLC” “PCR hemoglobinopatias” “diagnóstico hemoglobinopatias”.

Serão realizadas pesquisas em bases de dados da OMS do Ministério da Saúde para utilização de dados epidemiológicos, além da utilização dos dados fornecidos pelo Laboratório Bioclínico de Análises Clínicas situado na cidade de Sinop – MT, para análise da incidência de hemoglobinas variantes em neonatos pelo período de 4 anos entre os anos de 2020 a 2023.

4.1 Coleta de dados

A coleta de dados foi realizada através do sistema Unilab, um *Software* de Gerenciamento para Laboratórios de Análises Clínicas com certificações MPS.SV e MPS.SW que está presente em 460 cidades de 27 estados e possui 20 anos de mercado. Neste *software* é possível gerar relatórios capazes de fornecer informações como a quantidade de exames realizados e de resultados alterados, assim como o download dos laudos necessários para a pesquisa.

O local no qual os dados foram coletados trata-se de um laboratório de análises clínicas, de natureza privada, que se localiza na Avenida dos Jacarandás, nº 2895, e abrange os serviços de coletas de material biológico e realização de exames laboratoriais dos tipos hematológicos, bioquímicos, imunológicos, microbiológicos, entre outros, com o fornecimento de laudo para diagnóstico. O laboratório conta ainda, com mais nove unidades de coleta, das quais também foram selecionados laudos para análise através do sistema, que presta serviço a toda rede do Laboratório Bioclínico.

4.2 Considerações Éticas

Inicialmente, para que esta pesquisa fosse realizada, foi necessário o consentimento pelo responsável técnico e administrativo do Laboratório Bioclínico, o farmacêutico/bioquímico Dr. Fernando Cruz Gimenes, com a sua assinatura coletada no Termo de Compromisso de Utilização de Dados (TCUD). Após a aprovação, o procedimento para a obtenção de dados consistiu na coleta de laudos de exames disponíveis no banco de dados do laboratório Bioclínico, através do acesso ao sistema Unilab.

Sendo assim, esta pesquisa seguiu os critérios da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, comprometendo-se em não gerar danos e riscos aos participantes e garantindo sigilo e anonimato dos dados estudados, nesta pesquisa foram utilizados os dados apenas de forma indireta, sendo assim não necessitando de autorização direta do Comitê de Ética em Pesquisa. Por isso, o presente projeto de pesquisa obedeceu aos critérios dessa Resolução e pediu autorização ao Laboratório participante, através de Termo de Compromisso de Utilização de Dados (ANEXO), conforme disponibilizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa e pela Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT).

5.CONCLUSÃO

As hemoglobinopatias são distúrbios causados por uma mutação genética que podem afetar a estrutura ou função da hemoglobina, uma proteína essencial para o organismo, pois tem como função o transporte de oxigênio para os tecidos. As principais hemoglobinopatias devido a incidência, complicações clínicas e também as que foram abordadas no presente estudo são a Anemia Falciforme, Hemoglobinopatia C e as Talassemias. O intuito deste trabalho acadêmico foi avaliar a prevalência das hemoglobinopatias utilizando dados de triagens neonatais, coletadas em um laboratório privado no município de Sinop-MT e demonstrar através de dados do PNTN a relevância da triagem neonatal como metodologia de diagnóstico precoce.

A pesquisa foi realizada utilizando uma base de dados do sistema privado do laboratório em estudo, foram feitos 2.595 exames de triagem neonatal em um período de 4 anos (2020-2023), após análise dos dados, foi determinado que 97% dos recém nascidos que realizaram o exame não apresentaram porcentagem relevante de hemoglobinas variantes, 1,5% foram classificados como portadores heterozigotos de Traço Falciforme, 0,65% dos analisados são portadores do Traço de hemoglobinopatia C. Destaca-se então, a incidência de Traço Falciforme e Traço C na população analisada de Sinop-MT, um fator em comum com o estado de Mato Grosso que após pesquisas mostrou o mesmo resultado, uma incidência maior de Traço Falciforme seguido de Traço C e depois de Alfa-Talassemia.

A metodologia utilizada para realização dos testes foi a HPLC, recomendada pelo PNTN devido a sua alta especificidade na diferenciação das variantes. Para ser realizada a análise dos resultados fornecidos por esta metodologia é necessário profissionais habilitados na área de análises clínicas, além de um conhecimento significativo em genética e hematologia. Os profissionais de saúde, especialmente os biomédicos, se encaixam nos requisitos acima e estão envolvidos com a triagem neonatal desde a coleta das amostras de sangue à análise e a interpretação dos resultados, a atuação desses especialistas é fundamental para garantir a eficácia do programa. O conhecimento técnico e científico desses profissionais assegura que os resultados sejam precisos e confiáveis, permitindo a identificação precoce destas condições e o início imediato de tratamentos apropriados.

Por fim, através dos dados estatísticos mundiais, nacionais e regionais apresentados foi possível compreender que as hemoglobinopatias podem ser um grave problema de saúde pública devido a sua alta prevalência e as complicações graves geradas nas vidas dos portadores destas condições. Isso associado aos dados apresentados da região de estudo (Sinop/MT) evidencia-se a necessidade da busca pelo desenvolvimento constante das políticas públicas

relacionadas as hemoglobinopatias, como a ampliação da cobertura do PNTN, mais conscientização sobre a importância do diagnóstico precoce associados a um tratamento adequado aos portadores homocigotos, e ao aconselhamento genético para os portadores heterocigotos, visando sempre reduzir ainda mais as taxas de mortalidade e as complicações associadas a estas condições e melhorar a qualidade de vida dos portadores.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. P. *et al.* **O laboratório clínico na investigação dos distúrbios da hemoglobina.** J Bras Patol Med Lab, [S. l.], p. 271-278, 20 jun. 2011. *Ebook online*.
- ARAI, M. *et al.* **Reticulocitograma em pacientes com anemia falciforme e hemoglobinopatia SC.** Publicatio UEPG: Ciências Biológicas e da Saúde, v. 17, n. 1, p. 53-58, 2010. *Ebook online*.
- ARAÚJO R. C. L., & COSTA A. A. **Avaliação da triagem neonatal para o diagnóstico da anemia falciforme.** Revista Foco (Interdisciplinary Studies Journal), 2023. *Ebook online*.
- BERTOLDI, J. G. A.; ABREU, K. M. D.; DONADEL, L. L. V. **Evolução terapêutica da anemia falciforme e talassemia beta.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina, 2020. *Ebook online*.
- COMAR, S. R.; DANCHURA, H. S. M.; SILVA, P. H. **Contagem de plaquetas: avaliação de metodologias manuais e aplicação na rotina laboratorial.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 31, n. 6, p. 431–436, 2009. *Ebook online*.
- DAMASCENO, A. L. S. S. **Síndromes talassêmicas e o risco gestacional: uma revisão de literatura.** 2021. 47 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2021. *Ebook online*.
- DE OLIVEIRA, E. H. D. *et al.* **A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).** Genética na escola, v. 14, n. 2, p. 88-97, 2019. *Ebook online*.
- DOTTO, F. R. C. **Talassemias Alfa e Beta: Revisão.** Talassemias Alfa e Beta: Revisão, Santa Maria, 2005. *Ebook online*.
- GONÇALVES, A. P.; AQUINO, M. G. S.; SABUGARI, V. A. **Diagnóstico e os tratamentos disponíveis das hemoglobinopatias,** [S. l.], 2022. *Ebook online*.
- HOFFBRAND, P. A. H.; MOSS, J. E. Pettit – **Fundamentos em Hematologia,** 6ª ed. – Artmed, 2013. *Ebook online*.
- HOGEN, L. F. C. **Aspectos laboratoriais das talassemias beta.** Academia de Ciências & Tecnologia. São José do Rio Preto, 2017. *Ebook online*.
- LAVOURAS, L. I. C. *et al.* **Abordagem de diagnósticos para hemoglobinopatias.** [S. l.], 2019. *Ebook online*.
- LIMA, R. *et al.* **Anemia falciforme: uma abordagem clínica e laboratorial.** Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 23, n. 9, p. e13812-e13812, 2023. *Ebook online*

MAMAN, M. J. Cavaler De; MENEZES, R. T. M. de. **Talassemias**. In: RICCI, Vitor Hugo Parpinelli; MAMAN, M. J. Cavaler De; MENEZES, R. T. M. de. Guia prático de hematologia. Criciúma: Unesc, 2019. p. 56-65. *Ebook online*.

MELO, L. M. S. *et al.* **Rastreamento de hemoglobinas variantes e talassemias com associação de métodos de diagnóstico**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 30, n. 1, p. 12–17, jan. 2008. *Ebook online*.

MENDES, I. C.; REBELO, A. C. S.; CARNEIRO, L. C.; JESUINO, R. S. A.; PINHEIRO, D. S. Aspectos Gerais da Triagem Neonatal no Brasil: Uma Revisão. **Revista Médica de Minas Gerais**, [s. l.], 8 dez. 2019. *Ebook online*.

MENDES, L. C.; SANTOS, T. T. DOS.; BRINGEL, F. DE A. **Evolução do programa de triagem neonatal no estado do Tocantins**. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, v. 57, n. 2, p. 112–119, mar. 2013. *Ebook online*.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **Doença Falciforme**: o que se deve saber sobre herança genética. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 49 p. *Ebook online*.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Atenção à Saúde. **Doença Falciforme**: Diretrizes Básicas da Linha de Cuidado. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. 84 p. *Ebook online*.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). Secretaria de Atenção à Saúde. **Triagem neonatal biológica**: manual técnico. 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 83 p. *Ebook online*.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL, Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. **Caderno de informação**: triagem neonatal: dados 2014-2016 [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. 55 p.il. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/caderno_informacao_triagem_neonatal_2014_2016.pdf>. ISBN 978-85-334-2894-2. *Ebook online*.

NAOUM, P. C. **Eletroforeses**: Hemoglobinopatias, Proteínas Séricas, Lipoproteínas, DNA. Editora GEN, 2011. *Ebook online*.

NUNES, H. T. de S. **Doenças falciformes**: revisão de literatura com enfoque ao tratamento com hidroxiureia. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. *Ebook online*.

OLIVEIRA, A. S. de; LIMA, A. M. S. de; SEGATI, K. D.; PINTO, E. M. H.; BERNARDES, C. T. V.; LABRE, L. V. Q.; MENDES, M. A. S. **Hemograma**: correlação entre hemoglobina e índices hematimétricos. Revista Brasileira de Desenvolvimento, [S. l.], v. 2, p. 13304–13316, 2022. *Ebook online*.

POLAINAS, S. S. M. *et al.* **Talassemias**: etiologia, fisiopatologia, diagnóstico e abordagens terapêuticas. 2017. Tese de Doutorado. *Ebook online*.

REIS, F. M. DE S. *et al.* **Incidence of variant hemoglobins in newborns attended by a public health laboratory**. Einstein (São Paulo), v. 16, n. 2, p. eAO4150, 2018. *Ebook online*.

RODRIGUES, A. P. **Prevalência de Hemoglobinopatias e talassemias em pacientes com anemia na cidade de São Carlos.** AC&T Científica, v. 1, n. 2, 2011. *Ebook online.*

ROQUE, J. J. G. de; ANDRADE, C. S.; SIERPE, J. V. de L. **Utilização de cromatografia líquida de alta eficiência para o diagnóstico laboratorial.** Caderno de Graduação - Ciências Biológicas e da Saúde - UNIT - Sergipe, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 11, 2022. *Ebook online.*

ROSENFELD, L. G. et al. **Prevalência de hemoglobinopatias na população adulta brasileira:** Pesquisa Nacional de Saúde 2014-2015. Revista Brasileira de Epidemiologia, v. 22, p. E190007.SUPL.2, 2019. *Ebook online.*

ROSENFELD, R. **Hemograma.** Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 48, p. 244-244, 2012. *Ebook online.*

SANTOS, W. F. et al. **Sequenciamento de DNA:** métodos e aplicações. In: Proceedings of Safety, Health and Environment World Congress. 2013. p. 139-141. *Ebook online.*

SILVA, E. P. P. da. **Etiologia molecular de hemoglobinopatias raras.** 2023. *Ebook online. Ebook online.*

SILVA, L. C. de Moraes. **Hemoglobinopatias:** relato de caso familiar. RBAC, v. 49, n. 3, p. 307-311, 2017. *Ebook online.*

SILVA, R. C.; LIMA, A.; SOUZA, L. C. dá S. **Principais métodos de sequenciamento de DNA.** Scientific Electronic Archives, [S. l.], v. 15, n. 10, 2022. DOI: 10.36560/15820221603. Disponível em: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1603>. Acesso em: 10 nov. 2023. *Ebook online.*

SOUZA, A. M.; SANTOS, N. D. S. R.; SOUZA, Y. G. **Anemia falciforme:** tratamento atual no Brasil e perspectivas futuras. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2021. *Ebook online.*

SOUZA, L. A. et al. **Sequenciamento de DNA para conclusão de diagnóstico na triagem neonatal:** primeiro relato no Brasil da Hemoglobina Basking Ridge. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, v. 45, p. S102, 2023. *Ebook online.*

TORRES, G. A. **Hemoglobinopatias:** manifestações clínica e diagnósticos. [S. l.], 2016. *Ebook online.*

XAVIER, G. L. et al. **Alterações hematológicas em hemogramas de pacientes portadores de hemoglobinopatias:** Hematologia, Transfusão e Terapia Celular, [S. l.], p. S556, 2022. *Ebook online.*

ANEXO

Termo de Compromisso e Uso de Dados

Solicito anuência/autorização para a realização do projeto de pesquisa *Incidência das Hemoglobinopatias através da Triagem Neonatal em um Laboratório privado de Sinop - MT*, do(a) Acadêmico(a) *Jhennypher Alexandra Santos Alves*, (66) 99202-8507, do Curso de Biomedicina, do Centro Universitário UniFasipe.

Para esta pesquisa, será necessário acesso ao *Unilab* para consultar os resultados de triagens neonatais realizadas no laboratório no período de 2020 a 2023, com o objetivo de analisar a incidência das variantes de hemoglobina, principalmente das variantes que causam as hemoglobinopatias: *Anemia Falciforme, Hemoglobinopatia C e Talassemia*. A coleta/produção de dados *será realizada pelo período de janeiro de 2024 até junho de 2024*.

Informo que, como acadêmico e pesquisador, tomarei todos os cuidados éticos, conforme as resoluções 466/12 e 510/16 da CONEP, com especial cuidado em relação a garantir a privacidade dessas informações, bem como seu sigilo e confidencialidade. *Neste sentido, os dados serão utilizados apenas para finalidades acadêmicas, sem riscos de qualquer natureza relacionada ao vazamento de informações, sendo de responsabilidade do pesquisador cuidar da integridade e privacidade dos indivíduos que participarão indiretamente da pesquisa.*

Informo que os dados serão armazenados em computadores privados, no qual *somente o acadêmico e o pesquisador responsável* terão acesso, até o final do desenvolvimento da pesquisa em junho de 2024.

Comprometo-me, como benefício para a instituição que após a finalização do projeto de pesquisa, *que haverá intenção de publicar o estudo em revistas acadêmicas.*

Por fim, a partir das informações acima, informo a necessidade de dispensa do TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO para a realização deste projeto, tendo em vista que o mesmo utilizará somente dados secundários obtidos a partir do estudo de material já coletado para fins diagnósticos através da consulta dos resultados das triagens neonatais. A pesquisadora responsável chama-se *Danielly Kawane Soffientini Martins* e pode ser localizada no *Laboratório Bioclínico, no município de Sinop – MT*, fixado no endereço:

Av. Dos Jacarandás, 2895, Setor Residencial Sul, Sinop – MT, 78550-003, ou pelo telefone (43) 9152-3477.

Nome do Acadêmico(a): Jhennypher Alexandra Santos Alves:

Data:03/06/2024

Eu, Fernando Cruz Gimenez, Proprietário e Diretor Técnico do Laboratório Bioclínico de Análises Clínicas, autorizo a realização da pesquisa conforme solicitado acima.

Data: 03/06/2024

Assinatura e carimbo institucional: _____