

Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura

Sickle Cell Disease and laboratory approach: a brief literature review

Renata Araujo de Almeida¹

Ana Laura Remédio Zeni Beretta²

Resumo

Anemia Falciforme é uma doença hemolítica de caráter autossômico recessivo presente em indivíduos homocigóticos para a hemoglobina S, ocorrendo uma mutação na posição 6 da extremidade N - terminal do cromossomo 11, substituindo o ácido glutâmico por valina. A HbSS em condições de hipóxia se polimeriza no formato de foice. A anemia nos pacientes ocorre pela diminuição de hemoglobina devido ao aumento de hemólise no baço. As hemácias falciformes contribuem para os processos inflamatórios, vaso-oclusão, aumento de coagulação, lesão tecidual. Os processos infecciosos são críticos em crianças menores de 6 anos devido à autoesplenectomia e sua susceptibilidade a infecções. O objetivo do estudo foi estabelecer os principais meios para o diagnóstico laboratorial da anemia falciforme, baseando-se na revisão bibliográfica em artigos científicos e banco de dados do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (Bireme/Lilacs). A triagem laboratorial fornece subsídios para o norteamo clínico, desde exames simples, como o hemograma com a contagem de reticulócitos, até exames mais sofisticados, como resistência osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%, eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose, pesquisa de corpos de Heinz e agregados de hemoglobina H, entre outros. O estudo mostrou que a eletroforese de hemoglobina é o exame padrão-ouro para a confirmação do diagnóstico.

Palavras-chave

Doença da Hemoglobina SC; Anemia Falciforme; Anemia Hemolítica; Diagnóstico

INTRODUÇÃO

A Anemia Falciforme (AF) é uma doença hemolítica de caráter autossômico recessivo, presente em indivíduos homocigóticos para Hemoglobina S (HbS). É originada por uma mutação na posição 6 da extremidade N - terminal do cromossomo 11, onde ocorre a substituição de um ácido glutâmico pela valina. A HbS é responsável pela polimerização dos eritrócitos em condições de hipóxia, fazendo com que esses assumam o formato de foice. Esses polímeros podem lesar a estrutura da membrana eritrocítica, causando hemólise. A diminuição do número de eritrócitos pela hemólise associada à alta destruição das hemácias pelo baço leva ao quadro de anemia comum em pacientes falciformes.^(1,2)

AAF é a doença hereditária de maior prevalência no país, afetando cerca de 0,1% a 0,3% da população negra,

sendo observada também em decorrência da alta taxa de miscigenação em parcela cada vez mais significativa da população caucasiana brasileira. Estimativas indicam que 5% a 6% da população carrega o gene da Hemoglobina S (HbS) e que a incidência fica em torno de 700 - 1000 novos casos por ano.⁽³⁾

A hemoglobina S (HbS) é obtida através da mutação genética que ocorre na cadeia beta (β), posição seis da globina onde há a substituição da base adenina no aminoácido ácido glutâmico pela base timina, formando assim o aminoácido valina. Essa mutação altera a estrutura molecular da membrana celular da hemácia (que é bicôncava) em baixas concentrações de oxigênio circulante no sangue, conferindo-lhe a forma de foice. Por esta razão, a hemoglobina modificada recebe o nome de hemoglobina S (S deriva da palavra inglesa *sickle*, que significa foice em português).⁽⁴⁾

¹Bacharel em Ciências Biológicas pela PUC-Campinas e pós-graduanda no curso de especialização de Análises Clínicas pela FHO Uniararas/Centro Universitário Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

²Profa. titular A5 em Microbiologia. Coordenadora de cursos de Especialização em Análises Clínicas, Controle e Prevenção de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde e Farmácia Hospitalar Oncológica/Centro Universitário Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

Instituição: Universidade Hermínio Ometto (Uniararas). Araras, SP, Brasil.

Artigo recebido em 25/08/2016

Artigo aprovado em 17/02/2017

DOI: 10.21877/2448-3877.201700530

Durante o evento de falcização a membrana da hemácia em foice enrijece, aumentando o contato da superfície celular com as moléculas de adesão circulantes no sangue. Essa interação impede a circulação adequada dessas hemácias na corrente sanguínea, fazendo com que dificulte o transporte de oxigênio celular e tecidual, além de contribuir para o processo de vaso-oclusão causado pela aderência dessas células no endotélio vascular, ocasionando os processos inflamatórios e infecciosos.^(5,6)

É importante que as pessoas estejam informadas sobre a existência da doença falciforme e consigam identificá-la. Além da crescente difusão do aconselhamento genético, o governo federal empenhou-se também em políticas nacionais educativas e, nos anos 90, na formação de um grupo de trabalho para a elaboração do Programa Anemia Falciforme.⁽⁷⁾

A pesquisa exploratória teve por objetivo estabelecer os principais meios usados para o diagnóstico laboratorial da Anemia Falciforme por meio da pesquisa em sites de coleção de artigos científicos como Medline, Lilacs, Bireme, SciELO e Biblioteca Cochrane, a fim de discorrer e discutir sucintamente sobre as características da doença.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Doença Falciforme (DF) apresenta alguns genótipos, sendo que os mais conhecidos são: a homozigose da Hemoglobina S (HbSS); e as heterozigoses da Hemoglobina S, a HbAS, a HbS-beta-talassemia, associação da hemoglobina falciforme com a hemoglobina que possui o gene que expressa a beta talassemia; e a dupla heterozigose HbSC, associação entre a Hemoglobina S e a hemoglobina C, e HbSD, associação entre a Hemoglobina S e a Hemoglobina D.⁽⁸⁾

Os genótipos da Doença Falciforme determinam a gravidade e a presença ou não de sintomas clínicos. A HbS-beta-talassemia, a HbSC e HbSD são consideradas genótipos de gravidade média, enquanto que os genótipos HbAS, que é responsável pelo traço falciforme, e HbSS, que caracteriza a Anemia Falciforme, possuem maior relevância clínica.^(8,9)

No traço falciforme, o indivíduo apresenta heterozigose para Hemoglobina S, sendo portador de um gene de hemoglobina normal (HbA) e um gene com a mutação falciforme (HbS), formando o genótipo HbAS. O indivíduo HbAS é assintomático.⁽¹⁰⁾

A Anemia Falciforme (AF) possui a manifestação mais grave da DF. O indivíduo possui homozigose para a Hemoglobina S, com dois genes da hemoglobina falciforme, formando o genótipo HbSS. Na AF, o paciente apresenta complicações e sintomas característicos da doença.⁽¹⁰⁾

Principais manifestações clínicas da Anemia Falciforme

Processos inflamatórios

Os processos inflamatórios da AF estão inter-relacionados e ocorrem de forma concomitante. O mecanismo primário desses processos é a vaso-oclusão, fenômeno causado pela adesão das hemácias falciformes e de leucócitos no endotélio vascular, responsável pela obstrução na circulação sanguínea nos microcapilares. A obstrução no sistema vascular pode causar hipóxia e infarto tecidual.^(11,12)

A forma crônica da doença é caracterizada pela inflamação recorrente no processo de vaso-oclusão; pelo aumento da viscosidade sanguínea, que diminui o fluxo e, conseqüentemente, diminui a oxigenação do sangue; pelo aumento de lesões teciduais; pelo aumento no número de hemácias falcizadas em baixas concentrações de oxigênio; e pelo aumento da fagocitose desses eritrócitos.⁽¹¹⁾

O quadro de anemia ocorre quando há diminuição no número de hemácias circulantes no sangue. As hemácias falciformes do indivíduo que tem AF são hemolisadas constantemente, diminuindo a concentração sanguínea de hemoglobina. As reduções rápidas na concentração de hemoglobina dão origem às crises aplásticas.^(2,11)

A grande quantidade de hemólise na AF causa o sequestro esplênico, que aumenta o volume do baço e agrava o quadro de anemia e hipovolemia. A autoesplenectomia ocorre quando o sequestro esplênico das hemácias é recorrente, tornando-o fibrótico e calcificado.^(2,6)

Processos infecciosos

Os pacientes de AF possuem maior propensão a infecções causadas por micro-organismos no trato respiratório, como pneumonia, meningite, otite média, entre outras.⁽¹³⁾

Os pacientes de AF também podem apresentar: síndrome torácica aguda, episódios de crise de dor, priapismo, úlceras de perna e insuficiência múltipla dos órgãos.^(14,15)

TRATAMENTO

Ainda não existe tratamento específico para a doença, porém alguns procedimentos preventivos ou paliativos são adotados para minimizar seus efeitos, tais como: fármacos como a 5-azicitidina utilizam-se de moléculas covalentes (isocianatos e clofibrato), suplementação com arginina, fito medicamentos, transfusões sanguíneas regulares, medicamentos quelantes de ferro, introdução da hidroxiureia. Os pacientes acometidos pela anemia falciforme apresentam susceptibilidade às infecções, sendo as-

sim importante a vacinação desses contra as principais patologias.^(2,16)

Exames laboratoriais para o diagnóstico da Doença Falciforme

O hemograma é o primeiro passo do diagnóstico laboratorial, pois é possível visualizar as hemácias falciformes presentes através do esfregaço sanguíneo, o número de leucócitos elevado. A heterozigose de HbS-Beta-Talassemia apresenta VCM e CHCM baixos devido à diminuição nos níveis de hemoglobinas em razão da fagocitação eritrocitária das células falciformes.⁽¹⁷⁾

O teste de falcização consiste em observar a presença de drepanócitos (células em foice) durante a leitura. É um exame para pré-diagnóstico, pois há muitas variáveis que podem interferir no resultado (falsos positivos e falsos negativos); dentre elas, a execução correta da técnica, a experiência na interpretação dos resultados, conservação do reagente, etc.⁽¹⁸⁾

O teste de solubilidade consiste em avaliar a solubilidade da hemoglobina. A HbS é insolúvel e neste teste é visualizada através da opacidade que confere ao filtro de papel. Este exame não é recomendado para neonatos, pois pode apresentar um falso negativo.⁽¹⁹⁾

A eletroforese alcalina em acetato de celulose diferencia as hemoglobinas A (hemoglobina de cadeia alfanormal) e hemoglobinas F (fetais), e as variantes HbS e HbC. Entretanto, como as HbS aparecem na mesma posição (banda) do gel eletroforético que as outras hemoglobinas, faz-se necessária a realização da eletroforese ácida em ágar citrato ou agarose para confirmação do resultado.⁽²⁰⁾

A eletroforese ácida em ágar citrato ou agarose confirma a presença das hemoglobinas HbA, HbF, HbC e HbS, servindo, portanto, como diagnóstico confirmatório para doença falciforme quando apresenta HbS positivo no exame.⁽¹⁹⁾

A Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) é feita pelo sistema automatizado Variant (Bio-Rad), onde ocorre a detecção de anomalias hemoglobínicas, além da quantificação e triagem de variantes. É um teste quantitativo, que permite o diagnóstico das hemoglobinopatias, como a doença falciforme, de forma rápida e precisa.⁽¹⁹⁾

A focalização isoelétrica utiliza um sistema de alta voltagem automatizado que permite a separação nítida das bandas de hemoglobinas, identificando-as precisamente quantitativa e qualitativamente, permitindo um diagnóstico preciso e concreto das hemoglobinopatias.⁽²¹⁾

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

O hemograma completo fornece, através da observação no microscópio óptico, a possibilidade de visualizar

a drepanocitose eritrocitária (aumento de hemácias falcizadas) presente no sangue total, que é característica da AF.⁽¹⁷⁾

O aparelho automatizado de hemograma fornece informações complementares por meio dos índices hematimétricos e da contagem leucocitária, que são importantes na evolução da doença. A anemia falciforme é considerada grave quando o RDW (índice relacionado ao tamanho eritrocitário) está acima de 19%, apesar de apresentar CHCM (concentração de hemoglobina na hemácia) normal. A presença de leucocitose (aumento leucocitário) indica aumento de hemólises, processo pelo qual os monócitos destroem as hemácias através da fagocitação.⁽¹⁸⁾

A contagem de reticulócitos pode ser feita manualmente através da microscopia ótica ou por aparelho automatizado. Na AF, o aumento dos reticulócitos indica atividade proliferativa compensatória da medula óssea frente ao aumento de hemólise.⁽²²⁾

Os testes de falcização e de solubilidade são feitos através de lâmina e lamínula, onde se aplicam substâncias redutoras de oxigênio na amostra de sangue contida na lâmina e coloca-se sobre ela uma lamínula. Essas substâncias ocasionam o processo de falcização que contribuem no aumento da viscosidade sanguínea (baixa solubilidade). Porém, esses testes são inadequados para o recém-nascido, pois os níveis de HbS são menores que os níveis de HbF (hemoglobina fetal), levando a resultados falso-negativos.⁽²³⁾

Após a realização dos exames de triagem, recomenda-se a realização de testes confirmatórios por meio da detecção de HbS e suas associações nos exames de eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose (eletroforese alcalina), eletroforese de hemoglobina em agarose (eletroforese ácida) e dosagem de hemoglobina fetal (HbF). Estes exames são feitos por grandes centros laboratoriais especializados em biologia molecular.

Atualmente utilizam-se métodos confirmatórios mais modernos como a Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) e a Focalização isoelétrica por serem métodos mais precisos e eficazes.⁽²⁰⁾

A triagem de doença falciforme em neonatos inclui o teste do "pezinho" (teste de solubilidade) e a eletroforese de hemoglobina, sendo esta atualmente substituída pelos exames de focalização isoelétrica e pela HPLC.⁽²⁴⁾

Pelos resultados laboratoriais, o profissional médico poderá avaliar a necessidade de exames moleculares confirmatórios e do acompanhamento clínico ao portador da doença falciforme.

Os exames de triagem fornecem subsídios para o norteamiento do pensamento clínico, porém, são nos exames eletroforéticos que ocorre a confirmação diagnóstica. O estudo sugere que o exame padrão-ouro para definição

diagnóstica da AF continua sendo a eletroforese de hemoglobina.

Abstract

Sickle cell anemia is a hemolytic disease of autosomal recessive character present in individuals homozygous for Hb (hemoglobin S) caused by a mutation at position 6 of N-terminus - terminus of chromosome 11, with the substitution of a glutamic acid for valine. The HbSS is responsible for the polymerization of erythrocytes in hypoxia conditions, when they assume sickle cell shape; causing hemolysis. The disease contributes to the processes of vaso-occlusion, coagulation increase, tissue injury, inflammatory and infectious processes, being more critical in children under six years old due to self-splenectomy and susceptibility to infections. Sickle cell disease has preventive measures that can be taken by the patient under medical supervision. The objective of the study was to establish the main media used for the laboratory diagnosis of sickle cell anemia based on literature review research in journals and scientific papers, birem database, lilac, etc. It was observed that laboratorial tests help the clinician, from CBC with reticulocytes count, to more sophisticated tests as osmotic resistance in sodium chloride solution 0.36 %, alkaline pH electrophoresis on cellulose acetate, among others. The diagnostic confirmation occurs in the electrophoretic exams, which the gold standard laboratorial confirmation test is the hemoglobin electrophoresis.

Keywords

Hemoglobin SC disease; Anemia, Sickle cell; Anemia, Hemolytic; diagnosis

REFERÊNCIAS

- Santos JL, Chin, MC. Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. Rev. Quím. Nova. (São Paulo). 2012;35(4): 783-90.
- Brunetta DM, Clé DV, Haes TM, Roriz-Filho JS, Moriguti JC. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. Rev. Medicina (Ribeirão Preto) 2010;43(3):231-7.
- Giovelli LL, Danieli K, Bortolotto AN, Mastella AK, Prior MP, Castro SM, et al. Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue. J Bras Patol Med Lab. 2011 Apr;47(2):137-40.
- Holsbach DR, Salazar EAVM, Ivo ML, Araujo OMR de, Sakamoto TM. Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007. Acta Paul Enferm 2010;23(1):119-24.
- Silva-Pinto AC, Ladeira SO, Brunetta DM, De Santis GC, Angulo IL, Covas DT Sickle cell disease and pregnancy: analysis of 34 patients followed at the Regional Blood Center of Ribeirão Preto, Brazil. Rev. bras. hematol. hemoter. [Internet]. 2014 Oct [cited 2017 Feb 01]; 36(5):329-33.
- Jesus JA de. Doença falciforme no Brasil. Gaz. Méd. Bahia. 2010 Ago-Out;80(3):8-9.
- Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007;29(3):204-6.
- Valêncio LFS, Domingos CRB. O processo de consentimento livre e esclarecido nas pesquisas em doença falciforme. Rev Bioét. [Internet]. 2016 Dec [cited 2017 Feb 01]; 24(3): 469-477.
- Furtado AN, Motta J, Santos MDD. Estudo do perfil dos pacientes portadores de Síndromes Falciformes acompanhados no Serviço de Hematologia do Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia do Espírito Santo (HEMOES). Rev. Bras. Pesq. Saúde. Vitória. 2014 Out-Dez;16(4):105-12.
- Carvalho SC, Carvalho LC, Fernandes JG, Santos MJS. Em busca da equidade no sistema de saúde brasileiro: o caso da doença falciforme. Saude soc. [Internet]. 2014 June [cited 2017 Feb 01];23(2):711-8.
- Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007 Sep;29(3):207-14.
- Santos JL dos, Chin CM. Anemia Falciforme: Desafios e avanços na busca de novos fármacos. Química Nova. 2012;35(4):783-90.
- Hirst C, Owusu-Ofori S. Prophylactic antibiotics for preventing pneumococcal infection in children with sickle cell disease. Cochrane Database Syst Rev. 2014 Nov 6;11 (CD003427)
- Steinberg MH. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. Scientific World Journal. 2008 Dec 25;8:1295-324.
- Lottenberg R, Hassell KL. An evidence-based approach to the treatment of adults with sickle cell disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2005;58-65.
- Wagner SC, Silvestri MC, Bittar CM, Friedrichs JR, Silla LNR. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(1):37-42.
- Nogueira KDA et al. Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. Rev. cient. ITPAC. (Araguaína). 2013 Out; 6(4), pub 2:5p.
- Prudencio BCAB, Covas DT, Bonini-Domingos CR. Comparação de metodologia utilizada para a detecção de Hemoglobina S (Hb S) em doadores de sangue. Rev. bras. hematol. hemoter. 2000;Aug; 22(2): 99-109.
- Zanatta T; Manfredini V. Comparação entre métodos laboratoriais de diagnóstico de Doenças Falciformes. Newslab. 2009; 94: 180-194.
- Duarte BG. Métodos de diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. In: Anais do Conic-Semesp; 2014; São Paulo, SP-Brasil. 2: 11p.
- Bertholo LC, Moreira HW. Focalização isoeétrica na identificação das hemoglobinas. J. Bras. Patol. Med. Lab. 2006 June;42(3): 163-8.
- Arai M et al. Reticulocitograma em pacientes com anemia falciforme e hemoglobinopatia SC. Publ. UEPG Biol. Health Sci. (P. Grossa). 2011 jan/jun;17(1): 53-8.
- Monteiro ACB et al. Anemia falciforme, uma doença caracterizada pela alteração no formato das hemácias. Rev. eletr. Saúde em foco/ UNISEPE. (Amparo). 2015;07:107-18.
- Figueiredo AKB de, et al. Anemia falciforme: abordagem diagnóstica laboratorial. Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança. 2014 jun;12(1): 96-103.

Correspondência

Renata Araujo de Almeida

Av. Dr. Maximiliano Baruto, 500 – Jd. Universitário
13607-339 – Araras, SP