

ISSN 2448-3877



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Suplemento Especial de Hematologia
Volume 50 - Número 02 | Supl. 02 | Ano 2018



RBAC

Revista Brasileira de Análises Clínicas
Brazilian Journal of Clinical Analyses

Editor-chefe/Editor-in-Chief
Paulo Murillo Neufeld (RJ)

Editor Emérito/Honorary Editor
Mateus Mandu de Souza (RJ)

Editores Associados/Associate Editors
Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)
Paulo Jaconi Saraiva (RS)

Publicação oficial da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas – SBAC
Official Publication of Brazilian Society of Clinical Analyses

Edição online - Suplemento Especial de Hematologia
ISSN 2448-3877

Produção Editorial/Publisher
Trasso Comunicação Ltda
www.trasso.com.br



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

DIRETORIA EXECUTIVA/EXECUTIVE BOARD

Luiz Fernando Barcelos (RS)
Presidente/President

Maria Elizabeth Menezes (SC)
Vice-Presidente/Vice-President

Lenira da Silva Costa (RN)
Secretária-Geral/General Secretary

Mauren Isfer Anghebem (PR)
Secretária/Secretary

André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)
Tesoureiro/Treasurer

Paulo Aparecido Brandão Pinto (SP)
Tesoureiro Adjunto/Assistant Treasurer

Conselho Fiscal/Fiscal Board Titulares/Holders

Vanderlei Eustáquio Machado (MG)
Alverne Passos Barbosa (GO)
Jurandi David da Silva (PE)

Suplentes/Alternates

Nilson Lima Lopes (BA)
Tereza Neuma de Souza Brito (RN)
Paulo Roberto Hatschbach (PR)

Endereço para correspondência/Editorial Office

Rua Vicente Licínio, 99 - Tijuca
Rio de Janeiro, RJ - Brasil
20270-902 – Fone: 21 2187-0800 – Fax: 21
2187-0805 E-mail: rbac@sbac.org.br

Afiliações/Affiliations



Comitê Editorial/Editorial Board

Bioquímica Clínica/Clinical Biochemistry

Álvaro Largura (PR), Marcelo Quintão Mendes (MG), Geraldo Picheth (PR), Marileia Scartezini (PR), Arício Treitinger (SC), Paolo Mocarelli (ITA), Dulcineia Saes Parra Abdalla (SP), Ary Henrique Filho (GO), Daniel Mazziota (AR), Antenor Henrique Pinto Pedrazzi (SP), Jane Maciel Almeida Baptista (MG), Marinez Oliveira Sousa (MG), José Edson P. da Silva (RS), Rafael Noal Maresco (RS)

Citologia Clínica/Clinical Cytology

Rita Maria Amparo Bacelar Palhano (MA), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ), Carlos Eduardo de Queiroz Lima (PE), Rita Gorete Amaral (GO), Alexandre Sherley Casimiro Onofre (SE), Sílvia Helena Rabelo Guimarães (GO)

Controle de Qualidade/Quality Control

José Abol Corrêa (RJ), Luiz Fernando Barcelos (RS), Mateus Mandu de Souza (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Gabriel de Souza Lima Oliveira (SP)

Endocrinologia/Endocrinology

Carlos Alberto Camargo (SP), Ana Maria Menezes (SP)

Toxicologia/Toxicology

Regina Helena Queiroz (SP), Maria da Graça Almeida (RN)

Microbiologia Clínica/Clinical Microbiology

Antônio Márcio Lopes (MG), Raimundo Diogo Machado (RJ), Estevão José Colnago (RJ), Amauri Braga Simionetti (RS), Cássia Maria Zoccoli (SC), Carmen Paz Oplusti (SP), Raissa Mayer R. Catão (PB)

Imunologia Clínica/Clinical Immunology

Mateus Mandu de Souza (RJ), Paulo Jaconi Saraiva (RS), Antônio Walter Ferreira (SP), Adelaide José Vaz (SP), Sílvia Fernandes R. da Silva (CE), Manuela Berto Pucca (SP)

Parasitologia Clínica/Clinical Parasitology

Antônio Pedro Soares (MG), Geraldo Atilio de Carli (RS), Jerolimo Lopes Aquino (MT), Alverne Passos Barbosa (GO), Mauren Isfer Anghebem Oliveira (PR)

Micologia Clínica/Clinical Micology

Paulo Murillo Neufeld (RJ), Maria José Gianini (SP), Regina Célia Candido (SP), Rosane Rhan (MT)

Biologia Molecular/Molecular Biology

Mario Hiroyuki Hirata (SP), Rosário Dominguez Crespo Hirata (SP), Marcelo Ávilla Mascarenhas (RS), Kelly Melo (SP), Maria Elizabeth Menezes (SC)

Hematologia Clínica/Clinical Hematology

Jorge Fernando Teixeira Soares (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Celso Spada (SC), Paulo César Naoum (SP), Julio Cezar Merlin (PR), Paulo Henrique da Silva (PR), Robson Ferreira Ferraz Santos (RJ), José Edson Paz da Silva (RS)

Entidades mantidas pela SBAC Entities maintained by the SBAC

PNCQ – Programa Nacional de Controle de Qualidade/National Program of Quality Control

Coordenador/Coordinator:
Francisco Edison Pacifici Guimarães (RJ)

SNA / DICQ – Sistema Nacional de Acreditação/ National System of Accreditation

Coordenador/Coordinator:
André Valpassos Pacifici Guimarães (RJ)

CEPAC – Centro de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas

Post Graduation Center
Coordenadora/Coordinator:
Maria Elizabeth Menezes (SC)

CB-36 – ABNT

Superintendente/Superintendent:
Humberto Marques Tiburcio (MG)

CSM-20

Coordenador Técnico/Technical Coordinator
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Comissões Institucionais/ Institutional Comissions

Coordenador Geral/General Coordinator

Luiz Fernando Barcelos (RS)

Comissão de Congressos/Congress Comission

Coordenador Geral de Congressos/
General Congress Coordinator: Irineu K. Grinberg (RS)
Assessoria Científica/Scientific Advice:
Jerolimo Lopes Aquino (MT); Luiz Fernando Barcelos (RS),
Marcos Kneip Fleury (RJ)

Normas e Habilitação/Norms and Qualification

Coordenação/Coordination:
Celso Rubens Loques Mendonça (RJ)
Membros/Members: Elvira Maria Loureiro Colnago (RJ),
Mateus Mandu de Souza (RJ), Estevão José Colnago (RJ),
Luiz Fernando Barcelos (RS)

Ensino/Education

Paulo Murillo Neufeld (RJ), Celso Rubens Loques Mendonça (RJ), Marcos Kneip Fleury (RJ), Mateus Mandu de Souza (RJ)

Ética/Ethics

Henrique Tommasi Netto (ES), Francisco Einstein do Nascimento (CE), Maria da Conceição L. Oliveira (SE)

Sumário/Contents

ARTIGO DE REVISÃO/REVIEW

- 03** Avaliação de clone HPN em pacientes com síndromes mielodisplásicas
HPN clone evaluation in patients with myelodysplastic syndromes
 Larrazábal BR, Santos ALC, Costa FR, Brito AE, Neves MAB, Machado CGF
- 08** Triagem neonatal de hemoglobinopatias em Maringá - PR
Hemoglobinopathy newborn screening in Maringá - PR
 Balensiefer TK, Yamaguchi MU
- 14** Alterações hematológicas correlacionadas ao tabagismo
Hematological changes related to smoking
 Feitosa ACN, Zanqueta EB, Morais JF, Yamaguchi MU
- 21** Análise estatística dos registros de aspirado de medula óssea no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina
Statistical analysis of bone marrow aspirate records in the University Hospital of Federal University of Santa Catarina
 Campos SF, Del Moral JAG, Lino MRde O
- 25** Prevalência de hemoglobinopatias nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia – UFOP
Prevalence of hemoglobinopathies in patients attending by the Clinical Analysis Pilot Laboratory of the Pharmacy School – UFOP
 Nicolato RLC, Paula CA, Carneiro CM, Sabino AP, Santos PCS, Costa TR, Granato FS
- 30** Triagem neonatal: aspectos clínicos e laboratoriais
Neonatal screening: clinical and laboratory aspects
 Pilar BC, Manfredini V
- 42** Prevalência das fenotipagens RH dos receptores da Agência Transfusional do Hospital Universitário de Santa Maria - RS no período de outubro de 2009 a março de 2010
Prevalence of RH phenotyping in blood receptors in Transfusional Agency of University Hospital of Santa Maria - RS in the period of october 2009 to march 2010
 Paula HL, Machado MM, Vintacourt EV, Cabral BM, Bortolotto ANS, Athayde ML
- 47** Comparação entre o diagnóstico citogenético e por biologia molecular das leucemias mieloides crônicas (LMC): uma revisão bibliográfica
Comparison between cytogenetic and molecular biology diagnosis of chronic myeloid leukemias (CML): a bibliographic review
 Bonavigo AG, Cardoso MM, Santana MC, Sarturi PR
- 51** Prevalência de traço falciforme em doadores de sangue no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí - Hemopi
Sickle cell trait prevalence in blood donors at the Center of Hematology and Hemotherapy in the state of Piauí - Hemopi
 Campos IC, Chaves TVS, Rosal VMS, Cavalcante AACM, Lima IB
- 56** Avaliação de plaquetas relacionada à anemia ferropriva
Evaluation of platelet related to iron deficiency anemia
 Silva D
- 60** Alterações hematológicas, terapia antirretroviral e exercícios físicos: impacto no paciente soropositivo
Hematological alterations, antiretroviral therapy and physical exercise: impact on seropositive patient
 Costa KM, Fernandes FB, Ardenghi PG
- 70** Diagnóstico de anemia ferropriva em crianças de 0 a 59 meses internadas em um hospital no município de Cruz Alta - RS por meio da avaliação do hemograma
Diagnosis of iron deficiency anemia in children aged 0 - 59 months admitted to a hospital in the city of Cruz Alta - RS by blood count evaluation
 Scalcon PP, Marisco PC, Zavalhia LS

RELATO DE CASO/CASE REPORT

- 75** Avaliação do eritrograma de mulheres pós-menopausa do município de Catuípe - RS
Erythrogram evaluation of postmenopausal women in the municipality of Catuípe - RS
 Ott JN, Pletsch MU
- 83** Ácido metilmalônico no diagnóstico das anemias megaloblásticas
Methylmalonic acid in diagnosis of megaloblastic anemias
 Domingueti CP, Fernandes APSM, Borges KBG, Dusse LMS, Carvalho MG
- 90** Diagnóstico laboratorial do mieloma múltiplo
Laboratory diagnosis of multiple myeloma
 Salvador BT, Franzon CMR

96 INSTRUÇÕES AOS AUTORES / INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Avaliação de clone HPN em pacientes com síndromes mielodisplásicas

HPN clone evaluation in patients with myelodysplastic syndromes

Bruna Rios de Larrazábal^{1,2}

André Luiz Cavalcanti Santos¹

Felipe Rocha da Costa¹

Ana Elita de Brito¹

Maria Amélia Batista Neves¹

Cíntia Gonsalves de Faria Machado^{1,2}

Resumo

A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem da célula-tronco hematopoiética, resultante de uma mutação somática no gene PIG-A, que está envolvido na síntese do glicosilfosfatidil-inositol (GPI), âncora de vários antígenos de membrana, como as proteínas CD55 e CD59. Uma variável população de células com deficiência nessas proteínas pode estar presente em pacientes com anormalidades na medula óssea sem apresentar sinais da síndrome HPN clássica, constituindo uma subcategoria classificada como HPN associada a desordens medulares. As síndromes mielodisplásicas (SMDs) são doenças hematológicas clonais com apresentação heterogênea que resultam em insuficiência medular progressiva e evolução para leucemia aguda. Para avaliar a evolução da doença, novos parâmetros vêm sendo considerados, como, por exemplo, a necessidade transfusional, onde os subtipos de pior prognóstico tendem a cursar com maior aporte de transfusões. Além disso, a presença de clone HPN vem sendo avaliada também como um possível indicador da necessidade transfusional. Este trabalho avaliou a presença de clone HPN por citometria de fluxo em 27 casos de SMDs, identificando uma frequência de clone em 14,8% dos casos, aparentemente não havendo relação entre presença de clone com a necessidade de transfusões. No entanto, observou-se que os subtipos de pior prognóstico (AREB II e AREB I) foram os mais dependentes de transfusão, além de identificar entre os grupos de melhor prognóstico (AR e ARSA) aqueles com maior necessidade transfusional, correspondendo a 44,5% e 33,3% respectivamente. Estes achados consolidam dados da literatura recente contribuindo com a melhor compreensão do curso clínico e uma atualização diagnóstica/prognóstica para as SMDs.

Palavras-chave

Hemoglobinúria paroxística noturna; Síndromes mielodisplásicas; Citometria de fluxo; Dependência transfusional.

INTRODUÇÃO

A hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma desordem da célula-tronco hematopoiética resultante de uma mutação somática no gene PIG-A, localizado no cromossomo X, que está envolvido na síntese do glicosilfosfatidil-inositol (GPI), âncora de vários antígenos de membrana, como as proteínas CD55 (Fator acelerador da degradação das convertases do complemento ou DAF) e CD59 (Inibidor da lise de membrana ou MIRL), que são reguladoras do sistema complemento. Nas células HPN, a síntese desta âncora é deficiente e, como consequência, as múltiplas proteínas ligadas ao GPI poderão não se expressar na superfície celular, tornando-as vulneráveis ao efeito lítico do complemento ativado.⁽¹⁻⁵⁾ A prova mais sen-

sível, específica e considerada o padrão ouro para o diagnóstico de HPN é a determinação, por citometria de fluxo (CMF), da ausência ou diminuição das proteínas ligadas ao GPI dos eritrócitos, leucócitos ou plaquetas. A utilização da CMF tem vantagens sobre os outros métodos clássicos: analisa o defeito molecular nos leucócitos (não só nos eritrócitos), quantifica a deficiência (número de células HPN em proporção) e permite avaliar a evolução da doença com base na quantificação do número de células HPN.^(2,4,6-8) Apesar de ser a ferramenta de escolha para o diagnóstico e monitoramento de HPN, ainda não há um consenso de qual seria a melhor escolha de anticorpos monoclonais para identificação da doença. Historicamente são analisadas as deficiências dos antígenos CD55 e CD59,⁽⁹⁾ e, mais recentemente, foram estabelecidos crité-

¹Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – Hemope – Recife - PE, Brasil.

²Universidade de Pernambuco – UPE – Recife - PE, Brasil.

Trabalho realizado na Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco – Hemope – Recife - PE, Brasil.

Artigo recebido em 05/08/2011

Artigo aprovado em 28/09/2016

rios, pela *Clinical Cytometry Society PNH Guidelines*, indicando outras associações de anticorpos mais sensíveis para a identificação de clone HPN nas diferentes linhagens celulares. Por outro lado, por este mesmo *guideline*, a determinação da sensibilidade (*cut off*) é conceituada como uma análise de alta sensibilidade (0,01%) e/ou análise de rotina (a partir de 1%). No entanto, porcentagens de clone a partir de 10% é que são consideradas com significância clínica.⁽⁸⁾

Uma variável população de células com deficiência nessas proteínas ancoradas à GPI pode estar presente em pacientes com anormalidades na medula óssea sem apresentar sinais clínicos ou laboratoriais da síndrome HPN clássica, constituindo uma subcategoria classificada como HPN associada a desordens medulares.^(8,9)

Por sua vez, as síndromes mielodisplásicas (SMD) compreendem um grupo de alterações hematopoiéticas de natureza clonal com ampla variação de manifestações clínicas, as quais têm em comum diferentes graus de insuficiência medular. São caracterizadas, principalmente, pela associação de hematopoiese displásica e citopenias periféricas combinadas. São comuns nos indivíduos com idade superior a 60 anos, também podendo ocorrer após exposição a agentes mielotóxicos, quimioterapia antineoplásica e transplantes autólogos. O diagnóstico das SMDs é baseado em dados do hemograma, na análise citológica, citotóxica e histopatológica da medula óssea, o estudo citogenético e a exclusão de causas não clonais.⁽¹⁰⁻¹⁵⁾ A classificação atual das SMDs é a preconizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), que identifica os seguintes subtipos: citopenias refratárias com displasia unilinhagem (CRDU), anemia refratária com sideroblastos em anel (ARSA), citopenia refratária com displasia multilinhagem (CRDM), citopenias refratárias com displasia multilinhagem sem ou raros blastos (CRDM), anemia refratária com excesso de blastos (AREB), síndrome mielodisplásica com del(5q) isolada, SMD não classificada e síndrome mielodisplásica da infância. No prognóstico das SMDs emprega-se o *International Prognostic Scoring System* (IPSS), um índice de escore prognóstico baseado no percentual de blastos, nas alterações citogenéticas e no número e na magnitude das citopenias. Recentemente foi proposta a integração do IPSS com a classificação da WHO – o WPSS (*WHO classification based prognostic scoring system*) – que considera a dependência transfusional como fator de impacto prognóstico negativo na sobrevida global dos pacientes com SMDs, em especial nos pacientes de baixo risco, e propõe um modelo de estratificação de risco em cinco categorias com sobrevida mediana que varia de 8 meses a 136 meses.⁽¹²⁻¹⁴⁾

Aproximadamente 12,8%-20% dos pacientes com SMDs apresentam clone HPN, detectado através da citometria de fluxo. Esta associação entre SMDs e HPN

permanece obscura, ao contrário da bem caracterizada associação entre anemia aplásica e HPN.^(16,17,18-21)

As recentes descobertas que a presença de clone HPN possa estar associada a diferentes desordens medulares levou o Grupo Internacional de Interesse em HPN a desenvolver uma classificação que leva em consideração manifestações clínicas e a história natural entre os pacientes com HPN. Foram propostas três subcategorias: HPN clássica, HPN associada a outra desordem da medula óssea e HPN subclínico. A identificação de HPN subclínico apresenta relevância clínica, pois recentes estudos sugerem que pacientes com uma pequena população de células HPN em combinação com AA ou anemia refratária/SMD têm uma alta probabilidade de responder à terapia imunossupressora.^(8,18,22) Com base nessa classificação, vários estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de esclarecer a papel do clone HPN nas SMDs e se sua presença interfere de alguma maneira com o curso evolutivo da doença.

Desta forma, desenvolveu-se estudo semelhante objetivando identificar a correlação entre clone HPN e as SMDs na região de Pernambuco, Nordeste do Brasil, comparando os resultados obtidos com os da recente literatura.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra consistiu em 27 pacientes adultos de ambos os sexos, com diagnóstico de SMD, tendo sido aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da instituição (Parecer No. 010/08).

O diagnóstico de SMDs foi baseado em critérios observados no hemograma, mielograma, biópsia óssea e citogenética. Exames complementares como dosagens de DHL, bilirrubina, vitamina B12, ácido fólico e sorologias para doenças virais também foram realizados, compondo os critérios diagnósticos exigidos para definição de SMD. A classificação empregada foi a da WHO 2008. A princípio consideraram-se dois grupos de SMDs: o primeiro com probabilidade de maior necessidade transfusional – risco alto (AREB I e II, SMDs hiperfibrótica e hipoplásica) e o segundo com menor probabilidade – risco baixo (AR, ARSA e síndrome 5q-).

Para a quantificação do clone HPN através da CMF, foram coletados 5 mL de sangue periférico dos pacientes de doadores saudáveis em tubo para hemograma do tipo "vacutainer" contendo EDTA, sendo coletado um doador para cada paciente estudado. Os anticorpos monoclonais empregados foram o anti-CD55 e anti-CD59, sendo o primeiro conjugado com o fluorocromo isotiocianato de fluoresceína (FITC) e o segundo conjugado com o fluorocromo ficoeritrina (PE).

O teste foi aplicado apenas em granulócitos devido ao estado politransfundido da maioria dos pacientes, o que levaria a resultados errôneos no teste em hemácias.

Para a análise de granulócitos, utilizaram-se 100 µL de sangue periférico diluídos com 95 µL de solução tamponada com fosfato (PBS). A esta diluição adicionaram-se 5 µL de cada anticorpo específico (gamma 1 FITC/gamma 1 PE para controle negativo, anti-CD55 FITC ou anti-CD59 PE nos tubos de controle normal e nos tubos de amostra dos pacientes). Após o período de incubação de trinta minutos à temperatura ambiente e no escuro, os eritrócitos foram lisados por dez minutos (FACS Lysing Solution) na proporção de 1:10 com água destilada. Após a lise, os tubos foram levados à centrifugação a 2.000 rpm por dois minutos; depois da primeira centrifugação, as células foram lavadas com 1 mL de PBS, centrifugando-se a 2.000 rpm por dois minutos e, finalmente, 1 mL de PBS foi adicionado para ressuspensão celular.

As células foram posteriormente adquiridas no citômetro de fluxo FACSCalibur (Becton-Dickinson, BD, San Jose, C.A) através do *software* CellQuest (Becton-Dickinson, BD), inicialmente avaliadas em um gráfico de dispersão de pontos (dot plot) em relação ao seu tamanho, FSC (*Forward Scatter*) e complexidade citoplasmática, SSC (*Side Scatter*), delimitando uma região com as células de interesse (granulócitos). Foram adquiridos 10 mil eventos para cada amostra, considerando as expressões de cada antígeno separadamente.

Os resultados da CMF foram expressos em valores percentuais, dividindo as células em positivas, $\geq 10\%$ de deficiência para os antígenos pesquisados ou em negativas para a deficiência. Foram construídos histogramas para cada antígeno pesquisado, sendo identificadas duas regiões, a região M1, onde se localizam os eventos negativos para o determinado antígeno e a região M2, onde os eventos positivos são exibidos.

Para a análise estatística dos resultados foi aplicado o teste Exato de Fisher para as variáveis explicativas clone HPN e transfusão em relação à variável dependente, o subtipo de SMDs, com a finalidade de verificar a existência de associação em nível inferior a 5% ($p < 0,05$), no *software* SPSS versão 15, como também verificar a associação entre o clone HPN e a variável transfusão, ao mesmo nível de significância.

RESULTADOS

Dos 27 pacientes portadores de SMDs avaliados no estudo, 14,8% apresentaram clone HPN $\geq 10\%$. Os resultados referentes ao teste Exato de Fisher indicaram que a variável clone HPN ($p=0,663$) não teve associação significativa estatisticamente ($p < 0,05$) com a variável grupos de risco de SMDs para necessidade transfusional, o que se demonstra nos Quadros 1 e 2.

A necessidade transfusional esteve presente em 100% dos pacientes com AREB II, numa média de três concentra-

dos de hemácia por mês (CH/mês) e em 66,6% das AREB I com média de 1CH/mês, subtipos estes com maior probabilidade de transformação leucêmica; nos subtipos em que esta probabilidade é menor, a necessidade transfusional foi a seguinte: 50% das Síndromes 5q- tiveram uma média de 3CH/mês, 44,5% das AR uma média de 1CH/mês e 33,3% das ARSA com uma média de 2CH.

Entretanto, o número de transfusões ($p=0,062$) não teve associação significativa estatisticamente com a probabilidade de transformação leucêmica (Quadro 3).

Quadro 1 - Associação entre clone HPN e grupos de risco de SMDs para necessidade transfusional

			Grupos de risco		
			High	Low	Total
Clone HPN	Sim	Count	3	1	4
		% within clone HPN	75,00%	25,00%	100%
Não	Count	16	7	23	
		% within clone HPN	69,60%	30,40%	100%
Total	Count	19	8	27	
		% within clone HPN	70,40%	29,60%	100%

Quadro 2 - Números de transfusões x Clone HPN

		Clone HPN		
		Sim	Não	Total
Transfusão	Nenhuma	2	9	11
		% within transfusão	18,20%	81,80%
pelo menos uma	Count	2	14	16
		% within transfusão	12,50%	87,50%
Total	Count	4	23	27
		% within transfusão	14,80%	85,20%

Quadro 3 - Número de transfusões x probabilidade de transformação leucêmica

		Probabilidade de transformação leucêmica		
		High	Low	Total
Transfusão	Nenhuma	10	1	11
		% within transfusão	90,90%	9,10%
pelo menos uma	Count	9	7	16
		% within transfusão	56,30%	43,80%
Total	Count	19	8	27
		% within transfusão	70,40%	29,60%

DISCUSSÃO

A frequência de clone HPN detectada nas SMDs foi compatível com o citado pela literatura, onde de 12% a 20% dos pacientes com SMD apresentam clone HPN, detectado através da CFM de rotina, enquanto que essa frequência chega até 55% utilizando-se a citometria de alta performance ($> 0,01\%$ de células HPN), que não foi aplicada neste trabalho.

Já com relação à análise da necessidade transfusional por subtipo de SMDs com maior ou menor probabilidade de transformação leucêmica, os resultados deste estudo revelaram que não há diferença significativamente estatística entre os dois grupos, valorizando o conceito que há subtipos de menor probabilidade de transformação leucêmica (AR, ARSA, por exemplo), mas que também cursam com uma alta necessidade transfusional, informação esta muito relevante para a nova proposta de índice prognóstico, o WPSS.

Finalmente, a ausência de correlação entre as variáveis estudadas (presença de clone HPN, subtipo de SMDs e necessidade transfusional) observada, parece refletir a pequena amostragem do estudo, mas mostrou a importância de incorporar esta metodologia no estudo de SMDs em nossa região, ampliando o número de casos, como também inserindo dados que melhor definam grupos prognósticos.

Agradecimentos

Agradeço a toda a equipe do Laboratório de Imunofenotipagem pelo auxílio durante a execução do projeto e à Fundação Hemope por disponibilizar a infraestrutura necessária para a realização deste trabalho.

Abstract

Nocturnal paroxysmal hemoglobin (NPH) is hematopoietic stem cell disorder resulting from a somatic mutation in the PIG-A gene, which is involved in the glycosylphosphatidylinositol (GPI) synthesis, anchor of several membrane antigens, such as CD55 and CD59. A variable population of cells deficient in these proteins may be present in patients with abnormalities in the bone marrow without showing signs of classical NPH syndrome, constituting a subcategory classified as NPH associated with spinal disorders. Myelodysplastic syndromes (MDS) are clone hematological diseases with heterogeneous presentation that results in progressive spinal insufficiency and progression to acute leukemia. To evaluate the evolution of the disease, new parameters have been considered, for example, the transfusion necessity, where the subtypes of worse prognosis tend to attend with greater transfusion. In addition, the presence of NPH clone has also been evaluated as a potential indicator of transfusional need. To evaluate the evolution of the disease, new parameters have been considered, for example, the transfusion necessity, where the subtypes of worse prognosis tend to attend with greater transfusion. This work evaluated the presence of NPH clone by flow cytometry in 27 cases of MDS, identifying a clone frequency in 14% of the cases, apparently with no relation between presence of clone with the need for transfusions. However, it was observed that the worst prognostic subtypes (AREB II and AREB I) were the most dependent on transfusion, as well as identifying the groups with the best prognosis (RA and ARSA) with the greatest transfusion requirements, corresponding to 44.5% and 33.3%, respectively. These findings consolidate the data from recent literature, contributing to a better understanding of the clinical course and a diagnostic / prognostic update for MDS.

Keywords

Nocturnal paroxysmal hemoglobin; Myelodysplastic syndromes; Flow cytometry; Transfusion dependency

REFERÊNCIAS

1. Araújo CJ, Soares FVM, Rocha FD, Silva HF, Nogueira JOL, Correia JW, et al. Hemoglobinúria Paroxística Noturna: relato de dois casos. Rev bras hematol hemoter. 2002; 24(4):1-7.
2. Besa EC, Woermann U. Paroxysmal Nocturnal hemoglobinúria. 48th ed. New York, NY: McGraw-Hill Book Co. 2009. Disponível em: <http://www.emedicine.com/med/topic2696.htm>.
3. Márquez J D, Carvalho C. Hemoglobinúria Paroxística Noturna. Rev Med Transf 2001;8:21-26.
4. Zago MA, Falcao RP, Pasquini R. Hematologia Fundamentos e Práticas. Atheneu - São Paulo, 1ª edição: 163-168, 2004.
5. Hillmen P1, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. N Engl J Med. 1995 Nov 9;333(19):1253-8.
6. Modesto TM, Neves MA, Brito AE, Araújo RCP, Santos NFG, Valgueiro MC, et al. Importância e vantagem da citometria de fluxo frente aos testes de triagem no diagnóstico da hemoglobinúria paroxística noturna. Rev bras hematol hemoter. 2006; 28(4):275-9.
7. Hillmen P, Richards SJ. Implications of recent insights into the pathophysiology of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. Br J Haematol. 2000 Mar;108(3):470-9.
8. Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, et al; International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood. 2005 Dec 1;106(12):3699-709.
9. Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, et al; Clinical Cytometry Society. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom. 2010 Jul;78(4):211-30.
10. Magalhães SMM. Síndromes mielodisplásticas: diagnóstico de exclusão. Rev bras hematol hemoter. 2006;28(3):175-7.
11. Niero-Melo L, Resende LSR, Gaiolla RD, Oliveira CT, Domingues MAC, Moraes Neto FA. Diretrizes para diagnóstico morfológico em síndromes mielodisplásticas. Rev bras hematol hemoter. 2006; 28(3):167-74.
12. Vassallo J, Magalhães SMM. Síndromes mielodisplásticas e mieloproliferativas. Rev bras hematol hemoter. 2009;31(4):267-72.
13. Bennett JM. A comparative review of classification systems in myelodysplastic syndromes (MDS). Semin Oncol. 2005 Aug;32(4 Suppl 5):S3-10.
14. Greenberg PL. Myelodysplastic syndromes: clinical and biological advances. 1ª edição- United Kingdom: Cambridge, 2006.
15. Komrokji RS, Bennett JM. Evolving classifications of the myelodysplastic syndromes. Curr Opin Hematol. 2007 Mar;14(2):98-105.
16. Wang H, Chuho T, Yasue S, Omine M, Nakao S. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. Blood. 2002 Dec 1;100(12):3897-902.
17. Wang SA, Pozdnyakova O, Jorgensen JL, Medeiros LJ, Stachurski D, Anderson M, et al. Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases, with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats. Haematologica. 2009 Jan;94(1):29-37.
18. Okamoto M, Shichishima T, Noji H, Ikeda K, Nakamura A, Akutsu K, et al. High frequency of several PIGA mutations in patients with aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. Leukemia. 2006 Apr;20(4):627-34.
19. Maciejewski JP, Rivera C, Kook H, Dunn D, Young NS. Relationship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycosylphosphatidylinositol-anchored protein-deficient clones. Br J Haematol. 2001 Dec;115(4):1015-22.

20. Horikawa K, Nakakuma H, Kawaguchi T, Iwamoto N, Nagakura S, Kagimoto T, et al. Apoptosis resistance of blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, aplastic anemia, and myelodysplastic syndrome. *Blood*. 1997 Oct 1;90(7):2716-2.
21. Zhang L, Qi JY, Zhang FK, Qiu LG. Detection of CD59-deficient granulocytes in a patient with advanced myelodysplastic syndrome. *Chin Med J (Engl)*. 2009 Sep 5.
22. Young NS. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and myelodysplastic syndromes: clonal expansion of PIG-A-mutant hematopoietic cells in bone marrow failure. *Haematologica*. 2009 Jan;94(1):3-7

Correspondência

Bruna Rios Larrazábal

*Av. Boa Viagem, 2594, apto 401, Boa Viagem,
50020010 – Recife-PE
bruna_rios@hotmail.com*

Triagem neonatal de hemoglobinopatias em Maringá - PR

Hemoglobinopathy newborn screening in Maringá - PR

Thiely Karine Balensiefer¹

Mirian Ueda Yamaguchi²

Resumo

O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de hemoglobinopatias a partir de resultados de triagem neonatal arquivados em um laboratório de Maringá, PR. As mutações nos genes que codificam as cadeias alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina são denominadas de hemoglobinopatias estruturais. Quando ocorre redução na síntese das cadeias de globinas, as hemoglobinopatias denominam-se talassemias. A forma heterozigota (HbS) é denominada portador do traço falciforme e a homozigota (HbSS) é denominada anemia falciforme. Os resultados coletados são referentes ao período de janeiro de 2007 a outubro de 2010. Foram analisados 1.005 laudos disponíveis, 13 eram portadores do traço falciforme, sendo três portadores sugestivos de talassemia, cinco portadores de hemoglobina C e 984 eram normais. A prevalência encontrada, quando comparada com regiões nordestinas, é baixa, pois o traço falciforme distribui-se heterogeneamente; entretanto, sua prevalência aumenta onde a proporção de antepassados negros é maior (Nordeste). De acordo com a estrutura do sistema de saúde de Maringá, pode-se observar que a triagem para hemoglobinas anormais vem sendo realizada, mas há necessidade de rever as condutas de acesso aos resultados e acompanhamento aos portadores de hemoglobinopatias.

Palavras-chave

Hemoglobinopatias; Triagem neonatal; Anemia falciforme.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina, sendo denominadas dessa forma de hemoglobinopatias estruturais. Quando há redução da taxa de síntese de uma ou de várias cadeias de globinas, as hemoglobinopatias denominam-se talassemias.^(1,2)

As hemoglobinopatias mais frequentes e com significado clínico são as variantes estruturais para as hemoglobinas S e C (HbS e HbC).⁽³⁾ No geral, os pais são portadores assintomáticos de um único gene afetado (heterozigotos), produzindo HbA e HbS (HbAS), transmitindo, cada um deles, o gene alterado para a criança, que assim recebe o gene anormal em dose dupla (homozigoto HbSS).⁽⁴⁾

A HbS é a doença hereditária mais comum no Brasil, introduzida pelo tráfico de escravos. As manifestações clínicas são conhecidas como doenças falciformes, incluindo a anemia falciforme (a forma homozigótica) e as combinações com a HbC, β -talassemia ou HbD e outras.⁽⁵⁾

As manifestações clínicas apresentadas pelos indivíduos homozigotos envolvem crise dolorosa devido a oclusões intermitentes da microcirculação e isquemia das

regiões acometidas, síndrome torácica aguda, crise aplásica, úlceras de perna, manifestações hepatobiliares e oculares, síndrome renal, complicações cardiovasculares e infecções. Qualquer infecção bacteriana no indivíduo com anemia falciforme tem grande potencial de evoluir para sepse, muitas vezes com êxito letal se não for identificada e tratada precocemente. Tais manifestações clínicas não aparecem durante os primeiros seis meses de vida e os indivíduos ficam assintomáticos devido aos altos níveis de hemoglobina fetal.⁽⁶⁻⁸⁾

Os heterozigotos (HbAS) são classificados como portadores de traço falciforme (FAS) e são geralmente assintomáticos, apresentando sintomas apenas em casos onde há diminuição da pressão parcial de oxigênio. A importância de seu diagnóstico é para o aconselhamento genético da população afetada, pois têm possibilidade de gerar filhos com a forma grave, a doença falciforme.^(1,9) O aconselhamento genético na doença falciforme tem objetivo primordialmente assistencial e educativo, ou seja, o de permitir a indivíduos ou famílias a tomada de decisões consistentes e psicologicamente equilibradas a respeito da procriação. Ao profissional que fornece aconselhamento genético é vedado recomendar, sugerir, indicar ou exigir conduta dos seus aconselhados.⁽¹⁰⁾

¹Graduação, Curso de Farmácia – Centro Universitário de Maringá – Cesumar – PR, Brasil.

²Docente Curso de Farmácia – Centro Universitário de Maringá – Cesumar – PR, Brasil.

A hemoglobina C (HbC) é frequente entre povos da África, especialmente nos países da região ocidental deste continente, onde a prevalência da heterozigose para HbC (ou HbAC) alcança 30% da população. Os portadores heterozigotos (FAC) são assintomáticos, não têm anemia e não apresentam evidência do aumento da destruição precoce dos eritrócitos. O estado de homozigose HbC (ou HbCC) é caracterizado por anemia hemolítica de intensidade variável.⁽¹¹⁾

Nas talassemias (IHb) ocorre a redução da síntese de uma ou mais cadeias de globina, desequilibrando as quantidades relativas destas. A mutação reduz o nível de síntese da cadeia alfa (α) e beta (β), e esta redução produz uma distorção da proporção de cadeia. A cadeia, que é produzida na taxa normal, está em excesso dada à ausência de uma complementar com a qual possa formar o tetrâmero. As cadeias normais em excesso precipitam na célula, lesando a membrana e provocando destruição prematura das células, o que resulta no desenvolvimento de anemia microcítica e hipocrômica. As formas de talassemia alfa são resultantes da deficiência de um, dois, três ou quatro genes alfa. Seus portadores são caracterizados segundo o número de genes afetados.^(12,13)

As talassemias beta são mais heterogêneas do que as do tipo alfa. Caracterizam-se por uma alteração quantitativa da síntese de globinas beta e, conseqüentemente, as globinas alfa, que são sintetizadas normalmente, acumulam-se nos eritrócitos, durante a eritropoiese, causando agregação e precipitação. Os precipitados, formados em quantidades variáveis, danificam a membrana e destroem prematuramente essas células, provocando a anemia.⁽¹¹⁾

Para a prevenção e controle das hemoglobinopatias foi instituído no Brasil, conforme a Portaria nº 822, do Ministério da Saúde, publicada em 2001, o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), buscando atingir cobertura de 100% dos recém-nascidos vivos, cumprindo desta forma com os princípios de equidade, universalidade e integralidade que devem pautar as ações de saúde. O PNTN tem como objetivo a triagem com detecção de casos suspeitos, confirmação diagnóstica, acompanhamento e tratamento dos casos identificados e prestar orientações aos pais.⁽¹⁴⁾

São poucas as enfermidades que cumprem os critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para ser objeto de triagem neonatal. Os critérios podem ser resumidos em cinco pontos: a doença tem alta morbidade (mental e física) e mortalidade se não for diagnosticada no período neonatal; a doença não se detecta clinicamente por um simples exame físico no período neonatal; tratamento eficaz deve estar disponível; a doença tem incidência relativamente alta (>1/10.000-15.000 recém-nascidos); e existir um procedimento analítico de triagem rápido, confiável e de baixo custo. Portanto, de acordo com os critérios da OM, as hemoglobinopatias são doenças que estão incluídas em alguns programas de triagem neonatal europeus.⁽¹⁵⁾

As dificuldades para o diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias se apresentam quando não há conhecimento científico e técnico para efetuar o estudo destas hemoglobinopatias, informações sobre a suspeita clínica do paciente, informações relativas ao eritograma e, em especial, dos índices hematimétricos, possibilidade de realizar a repetição dos exames do paciente e a possibilidade de realizar os exames nos pais do paciente.⁽¹⁶⁾

Devido à grande miscigenação dos povos (e genótipos) que ocorreu no Brasil, o estudo de hemoglobinopatias e o seu diagnóstico precoce tornam-se essenciais para o acompanhamento destes e de seus portadores. Portanto, de acordo com a heterogeneidade da população de Maringá, formada por descendentes de grupos étnicos de portugueses, italianos, alemães, poloneses, ucranianos, holandeses, espanhóis, japoneses, árabes e negros, o objetivo deste trabalho foi estabelecer a prevalência de hemoglobinopatias a partir de laudos disponíveis em um laboratório da cidade e comparar a frequência dos diferentes tipos de hemoglobinopatias observadas.

Devido à grande miscigenação dos povos (e genótipos) que ocorreu no Brasil, o estudo de hemoglobinopatias e o seu diagnóstico precoce tornam-se essenciais para o acompanhamento destes e de seus portadores. Portanto, de acordo com a heterogeneidade da população de Maringá, formada por descendentes de grupos étnicos de portugueses, italianos, alemães, poloneses, ucranianos, holandeses, espanhóis, japoneses, árabes e negros, o objetivo deste trabalho foi estabelecer a prevalência de hemoglobinopatias a partir de laudos disponíveis em um laboratório da cidade e comparar a frequência dos diferentes tipos de hemoglobinopatias observadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados resultados de 1.005 exames de triagem para hemoglobinopatias de recém-nascidos atendidos em uma maternidade em Maringá, PR, no período de janeiro de 2007 a outubro de 2010. Os testes foram realizados pela Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional (FEPE) por meio de eletroforese pelo método de focalização isoelétrica. Os laudos obtidos encontravam-se no arquivo do laboratório desta maternidade.

A frequência de hemoglobinopatias observadas foi comparada por meio da análise de variância (Anova) no Programa R versão 2.9.2 (*R Development Core Team*, 2009).

RESULTADOS

A prevalência de hemoglobinopatias foi de 2,09 % (21 casos) em 1.005 amostras de sangue coletadas de recém-nascidos (Tabela 1).

Tabela 1 - Prevalência de hemoglobinopatias no período de janeiro de 2007 a outubro de 2010 em laudos disponíveis em um laboratório da cidade de Maringá, PR

Categorias	Nº Indivíduos	%
Portadores de hemoglobinopatias	21	2,09
Normais	984	97,91
Total	1.005	100

Entre os 21 (2,09%) portadores de hemoglobinopatias, três apresentaram resultado indeterminado, sugestivo de talassemia (IHb), 13 do tipo FAS e cinco do tipo FAC (Figura 1). Não houve diferença entre as frequências das hemoglobinopatias observadas nos portadores ($F_{2,18} = 1,71$; $p = 0,2082$; $n = 21$).

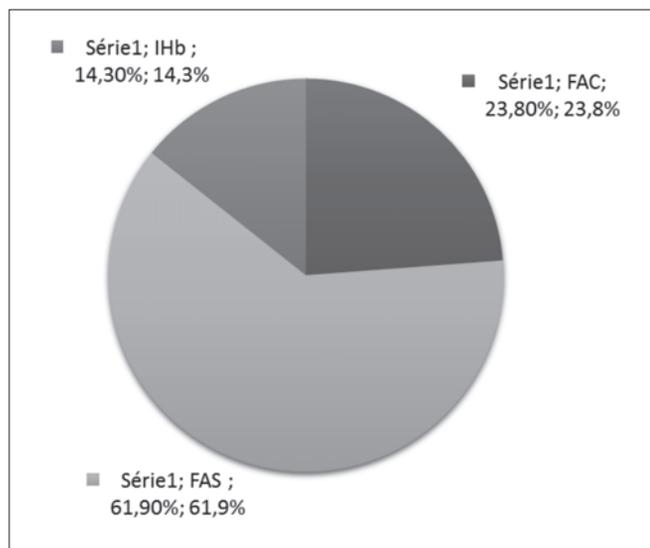


Figura 1. Hemoglobinopatias observadas no período de janeiro de 2007 a outubro de 2010 em laudos arquivados em um laboratório da cidade de Maringá, PR. Onde: IHb (indeterminada/sugestivo de talassemia); FAS (portador do traço falciforme) e FAC (portador do traço de hemoglobina C).

DISCUSSÃO

Segundo o Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa de Triagem Neonatal do Ministério da Saúde,⁽¹⁷⁾ a idade mínima para coleta da amostra é de, pelo menos, 48 horas de vida, mas esse critério está relacionado com triagem da fenilcetonúria, pois crianças com menos de 48 horas de vida ainda não ingeriram proteína suficiente para serem detectadas de forma segura. Para hemoglobinopatias, o ideal é que o tratamento seja iniciado antes de 4 meses de vida para a adequada prevenção das infecções e outras complicações frequentes que podem levar à morte da criança. Neste estudo, os resultados positivos para hemoglobinopatias foram coletados com, no máximo, sete dias após o nascimento, devido à importância de se iniciar o tratamento necessário para a profilaxia da doença.

Os resultados apresentados por Seixas et al.,⁽¹⁸⁾ que realizaram estudo no período de abril 2005 a maio 2006, com amostras de sangue coletadas de 585 pessoas residentes no estado do Paraná, mostram que houve maior prevalência de resultado normal (AA) do adulto quando comparado com este estudo, porém as amostras analisadas por eles foram coletadas de pessoas adultas, diferente da nos-

sa análise. É importante destacar também que um estudo encontrou, na cidade de Umuarama, o traço beta talassêmico em maior porcentagem (2,73%), enquanto que o traço falciforme representou 2,05%, e, em relação à hemoglobina C, foi encontrado 0,34% para heterozigotos, diferente deste estudo, onde encontramos maior porcentagem de portadores do traço falciforme (1,3%), seguido dos portadores do traço de hemoglobina C (0,49%). De acordo com Diniz et al.,⁽¹⁹⁾ em estudo realizado no Distrito Federal, no período de 2004 a 2006, a prevalência encontrada para o traço falciforme e para anemia falciforme, respectivamente, foi de 2,9% e 0,007% em 2004, de 3,5% e 0,1% em 2005 e de 3,2% e 0,09% no ano de 2006. Esse alto índice de anemia falciforme detectado no Distrito Federal pode ser explicado pela proximidade do estado da Bahia, por ser rota migratória e pela sua posição geográfica, pois é fronteira com o estado de Minas Gerais, estados de alta prevalência. Em outro estudo,⁽²⁰⁾ o estado de Minas Gerais apresentava 3% de traço falciforme e a Bahia 5,3%, prevalência superior à comparada com o Sul do país.

A anemia falciforme prevalece particularmente em indivíduos de ancestralidade africana, mas também está presente em populações do Mediterrâneo, descendentes indianos e hispânicos. Nos EUA, a prevalência da doença entre a população afroamericana é estimada de ser um a cada quatrocentos recém-nascidos.⁽²¹⁾ Na prática, portanto, as iniciativas governamentais voltadas para a anemia falciforme no Brasil, assim como nos Estados Unidos, estão intimamente ligadas às organizações da militância negra, o que acaba por enfatizar a relação entre a doença e os afrodescendentes. Mesmo que se reconheça que a doença dissemina-se com a miscigenação para os quatro cantos do país, a anemia falciforme fica cada vez mais associada à "população negra".⁽²²⁾

Na África Equatorial, 40% da população é portadora, e a doença falciforme atinge uma prevalência de 2% a 3% da população.⁽⁸⁾

Estudo feito em Quebec, Canadá, de 1988 a 2003, mostrou que a triagem neonatal é viável mesmo com poucos recursos. Foram triados 9.619 neonatais, cujos pai ou a mãe eram negros, e foi possível identificar 8.142 normais, 1.012 portadores do traço falciforme e 386 portadores de HbC, 37 HbSS e 35 HbSC. Dessas 72 crianças, 67 foram imediatamente inscritas para acompanhamento clínico multidisciplinar de doença falciforme, e as cinco crianças restantes não inscritas no programa inicialmente foram indicadas posteriormente para o acompanhamento. Neste caso, pode-se considerar clinicamente efetivo o programa de triagem, porque ele identificou 92,3% de pacientes em risco nascidos em Sainte-Justine University Health Centre, que passaram a receber cuidados médicos apropriados antes de dez semanas de vida, ao contrário da média geral, que é de 12 meses para crianças não identificadas por um

programa de triagem.⁽²¹⁾ Apesar de recém-nascidos e crianças muito jovens serem geralmente assintomáticas, devido à presença de Hb (HbF), a doença falciforme pode estar associada a alta morbidade e mortalidade, e a primeira manifestação clínica da doença pode ser fatal. Vichinsky et al.⁽²³⁾ mostraram que a taxa de mortalidade de pacientes com doença falciforme diagnosticada no período neonatal foi de 1,8%, enquanto que uma taxa de mortalidade de 8% foi encontrada quando os pacientes foram diagnosticados depois de três meses de idade. Os autores sugerem que a triagem neonatal, quando associada a um acompanhamento extensivo e educacional, diminui significativamente a mortalidade dos pacientes.

Cuba é o único país na América Latina a desenvolver um programa de prevenção geral, oficial, de prevenção das hemoglobinopatias. O programa é baseado em mulheres grávidas com 16 ou mais semanas de gestação. Se o teste na gestação fornecer indicação de que ela é portadora de um gene que condiciona hemoglobinopatias, é oferecida a realização do teste para o seu parceiro e o diagnóstico pré-natal, baseado no DNA, para os casais em risco de terem uma criança homocigota. Um total de 90% daqueles nos quais se diagnostica uma criança afetada decide pela interrupção da gestação. Isso deveria levar a uma marcante diminuição no nascimento de crianças afetadas, mas, na prática, essa diminuição situava-se, em 1993, em apenas 32% dos casos. Assim acontecia devido ao fato de que os casais eram detectados e abordados muito tardiamente, quando o estado da gestação estava adiantado demais para a prática da interrupção.⁽²⁴⁾

Luz et al.⁽²⁵⁾ realizaram um trabalho em Maringá, no período de 2001-2006, onde foram estudados 20.529 recém-nascidos, dos quais 859 foram detectados com alguma doença (fenilcetonúria, hipotireoidismo, hemoglobinopatias, fibrose cística e deficiência de biotinidase) pertencente ao PNTN. Dentre estes, para hemoglobinopatias, o número de casos detectados foi de 474 (55,2%), tendo diagnóstico confirmado apenas em seis (28,6%) casos. A diferença entre o número de casos detectados e os diagnosticados pode ser associada com alto índice de resultados falsos positivos, pois, de acordo com o Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa de Triagem Neonatal do Ministério da Saúde,⁽¹⁸⁾ o objetivo da triagem neonatal é a identificação de crianças de risco que necessitem da confirmação diagnóstica, e resultados falso-positivos ou falso-negativos são possíveis de acontecer em qualquer laboratório, e o resultado da triagem neonatal, como dado isolado, é informação insuficiente para decisão diagnóstica. O teste de focalização isoelétrica realizado na triagem neonatal para a detecção de hemoglobinas anômalas não permite distinguir homocigotos de heterocigotos e, portanto, impõe-se a realização posterior de eletroforese de hemoglobinas.⁽²⁶⁾

Em trabalho realizado em Dourados, MS⁽²⁷⁾ foram demonstrados 242 casos de hemoglobinopatias no período entre 2001 e 2005, e a heterocigose para hemoglobina S demonstrou incidência de 1,37%, de 0,37% para hemoglobina C e de 0,007% para hemoglobina D. Não foram diagnosticados casos de anemia falciforme. Foi ressaltada a ausência de casos de homocigose para hemoglobina S (HbS) e para a beta talassemia durante os cinco anos estudados, considerando que a região de Dourados foi colonizada por povos de diversas origens raciais e que teve intensa influência de imigrações gaúchas.

Na Vila São Pedro, Paço do Lumiar, MA, em pesquisa realizada em 2003, foram analisadas 371 crianças, identificando-se, entre estas, 17 portadores de hemoglobina S, duas de hemoglobina C e nenhum caso da célula falciforme. Esses valores representam uma frequência de 5,1% de crianças portadoras do traço falciforme e essa alta prevalência de hemoglobina S no estado do Maranhão pode ser justificada pelo fato deste ser o terceiro estado brasileiro em população negra.⁽²⁸⁾

Em Goiás foi realizado, no período de agosto de 2003 a março de 2004, um estudo com 404 estudantes da Universidade Católica de Goiás (UCG), oriundos de 55 cidades do estado. Obteve-se, como resultado, talassemia alfa heterocigótica – 5,2%, heterocigose para hemoglobina S (HbAS) – 2,2%, heterocigose para hemoglobina C (HbAC) – 1%, talassemia beta menor – 0,7%, associação entre talassemia alfa e heterocigose para HbS – 0,5%, associação entre talassemia alfa e heterocigose para HbC – 0,3% e heterocigose para hemoglobina D (HbAD) – 0,3%. Nenhum caso de homocigose foi encontrado no estudo. Essa grande variação encontrada no estado de Goiás é explicada pela origem do povo goiano, que teve contribuição de diferentes etnias, inicialmente com os portugueses e os escravos africanos, favorecendo a mestiçagem entre eles. Posteriormente ocorreram as migrações internas oriundas de Minas Gerais, Pará, Maranhão, Bahia, São Paulo e imigrações de italianos, espanhóis, alemães, japoneses, tailandeses, libaneses, sírios, gregos e outros povos que, às vezes, permanecendo no estado ou não, deixavam ou levavam consigo algum legado genético.⁽²⁹⁾

No Brasil, o traço falciforme distribui-se heterogeneamente, sendo mais frequente onde a proporção de antepassados negros da população é maior (Nordeste). Além da África e Américas, é hoje encontrada na Europa, em virtude da migração voluntária da África e do Caribe, principalmente para a Inglaterra, França, Bélgica, Holanda e Alemanha, e em grandes regiões da Ásia. No Sudeste do Brasil, a prevalência média de heterocigotos (portadores) é de 2%, valor que sobe para cerca de 6%-10% entre negros e pardos e no Nordeste do país.⁽³⁰⁾

Considerando que o resultado desse trabalho foi obtido a partir de laudos datados desde janeiro de 2007 e que

permaneceram arquivados no laboratório da maternidade até outubro de 2010, torna-se importante analisar se o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) está cumprindo o seu propósito. Existe a possibilidade dos familiares terem obtido os resultados das triagens via *on-line*, entretanto, neste caso, não há registros ou controles que confirmem se os 21 portadores de traços de hemoglobinopatias tiveram acesso a esses resultados, e, conseqüentemente, se houve acompanhamento e orientação adequados.

O PNTN possibilita a detecção de traços de hemoglobinopatias, permitindo realizar prevenção e controle das manifestações clínicas da doença. Sendo as hemoglobinopatias consideradas um problema de saúde pública, é essencial que o programa alcance 100% de triagens em nascidos vivos, garantindo assim o acesso a todos os recém-nascidos, como menciona a portaria nº 822 do Ministério da Saúde.

É necessário considerar que, muitas vezes, os pais são portadores heterozigotos, assintomáticos, e com possibilidade de gerar filhos homozigotos, que vão manifestar a forma grave da doença. Neste caso, o aconselhamento genético permite que esses pais tenham conhecimento da possibilidade de ter o filho com essas características e que eles tomem a decisão de forma consciente a respeito da procriação.

CONCLUSÕES

Neste trabalho podemos concluir que, devido à boa estrutura do sistema de saúde na cidade de Maringá, PR, a coleta e realização da triagem para pesquisa de hemoglobinopatias em neonatos vem sendo realizada como preconizada pelo PNTN. Entretanto, uma maior atenção às condutas de acesso ao resultado dos exames, acompanhamento e orientações adequadas aos familiares e portadores de hemoglobinopatias precisam ser revisadas.

Abstract

The purpose of this work was to determine the prevalence of hemoglobinopathies from newborn screening results stored in a laboratory in Maringá city in Paraná state. Mutations in the genes encoding the alpha and beta chains of hemoglobin molecule are called structural hemoglobinopathies. When there is a reduction in the synthesis of globin chains, the hemoglobinopathies are called thalassemias. The heterozygous form (HbS) is called sickle cell trait and the homozygous (HbSS) form is called sickle cell anemia. The results are collected for the period from January 2007 to October 2010. 1005 available reports were analyzed, 13 were carriers of sickle cell trait, being three suggestive carriers of thalassemia, five hemoglobin C carriers and 984 were normal. The results found when compared with northern regions are low, because the sickle cell trait is heterogeneously distributed, but where the proportion of African ancestry is larger (northeast), its prevalence increases. According to the structure of the health system of Maringá, it can be said that collecting and screening have been performed, but it is

necessary to review the conduct of access and monitoring of the hemoglobinopathies carriers.

Keywords

Hemoglobinopathies; Newborn screening; Sickle cell anemia.

REFERÊNCIAS

1. Sommer CK, Goldbeck AS, Wagner SC, Castro SM. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: experiência de um ano na rede de saúde pública do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 2006;22(8):1709-14.
2. Lorenzi TF. Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica. 3a ed, Rio de Janeiro, MEDSI, 2003, p 254.
3. Ruiz JE. Prevalência de hemoblobinopatias em recém-nascidos no município de Goiânia. 2009. 47p. dissertação de mestrado - Universidade Federal de Goiás programa de pós-graduação em ciências da saúde. Goiânia.
4. Silva WS, Lastra A, Oliveira SF, Guimarães NK, Grisolia CK. Avaliação da cobertura do programa de triagem neonatal de hemoglobinopatias em populações do Recôncavo Baiano, Brasil. *Cad. Saúde Pública.* 2006;22(12):2561-6.
5. Zago MA, Passeto RF, Pasquini R. Hematologia: fundamentos e prática. Edição revisada. Reimpressão. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005.
6. Mendonça AC, Garcia JL, Almeida CM, Megid TBC, Fabron A. Muito além do "Teste do Pezinho". *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2009; 31(2):88-93.
7. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes. Brasília, 2002, p 11, 12,37,44,45,50.
8. Di Nuzzo DVP, Fonseca SF. Anemia Falciforme e infecções, *J. Pediatr.* (Rio de J.). 2004;80(5):347-54.
9. Holsbach DR, Salazar EAVM, Ivo ML, Araujo OMR, Sakamoto TM. Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007. *Acta Paulista de Enfermagem.* 2010;23(1):119-24.
10. Ramalho AS, Magna LA. Aconselhamento genético do paciente com doença falciforme. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29(3): 229-32.
11. Naoum PC. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo. 1ª ed. Ed. Sarvier, 1997, 171 p.
12. Torres FR, Bomini-Domingos CR. Hemoglobinas humanas - hipótese malária ou efeito materno? *Rev bras hematol hemoter.* 2005;27(1):53-60.
13. Tomé-Alves R, Salvador DPM, Orlando GM, Palharini LA, Imperial RE, Naoum PC, Bonini-Domingos CR. Hemoglobinas AS/Alfa talassemia - importância diagnóstica. *Rev bras hematol hemoter.* 2000;22(3):388-94.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 822, de 06 de junho de 2001. Brasília, 2001, p 1,2.
15. Iñiguez ED, Espada M, Gurtubai IE. Programas de cribado neonatal. *An Peditr Contrn.* 2006;4(1):61-5.
16. Naoum PC, Bonini-Domingos CR. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. *Rev bras hematol hemoter.* 2007; 29(3):226-8.
17. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal. Brasília, 2004, p 38, 43, 44.
18. Seixas FAV, Silva CD, Tominaga J, Ferro OC. Incidence of hemoglobinopathies in Northwest Paraná, Brazil. *Rev bras hematol hemoter.* 2008;30(4):287-91.
19. Diniz D, Guedes C, Barbosa L, Tauil PL, Magalhães I. Prevalência do traço falciforme em recém-nascidos do Distrito Federal, Brasil, 2004 a 2006. *Cad. de Saúde Pública.* 2009; 25(1):188-94.
20. Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev bras hematol hemoter.* 2007;29(3):203-6.

21. Robitaille N, Delvin E. Newborn screening for sickle cell disease: A 1988-2003 Quebec experience. *Paediatr Child Health*. 2006 Apr;11(4):223-7.
22. Fry PH. O Significado da anemia falciforme no contexto da "política racial" do governo brasileiro 1995-2004. *Historia, ciência, saúde - Manguinhos*, vol 12 n 2 , p 347-370, 2005.
23. Vichinsky E, Hurst D, Earles A, Kleman K, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease effect on mortality. *Pediatrics*. 1988 Jun;81(6):749-55.
24. Salzano FM. Saúde pública no Primeiro e Terceiro Mundos: desafios e perspectivas. *Cien Saude Colet.*, vol 7 n 1, p 7-16, 2002.
25. Luz GS, Carvalho MDB, Pelloso SM, Igarashi IH. Prevalência das doenças diagnosticadas pelo programa de triagem neonatal em Maringá, Paraná, Brasil: 2001-2006. *Rev Gaúcha Enferm*. 2008;29(3):446-53.
26. Maluff Junior PT. Do teste "do pezinho" para a medicina genômica, *Pediatria (São Paulo)*;30(3):142-143, 2008.
27. Souza RAV, Pratese R, Fonseca SF. Programa de Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias em Dourados, MS - uma análise. *Rev. bras. hematol. hemoter*. 2010; 32(2):126-30..
28. Souza FGN, Araujo TL. Hemoglobinopatias em população infantil de um município maranhense. *Enferm. UERJ*. 2005;13:325-30.
29. Melo-Reis PR, Naoum PC, Diniz-Filho JAF, Dias-Penna KGB, Mesquita MM, Balestra FA, et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil. *J Bras Patol Med Lab*. 2006;42(6):425-30.
30. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de doenças mais importantes, por razões étnicas, na população brasileira afro-descendente. Brasília, 2001. p.14

Correspondência

Mirian Ueda Yamaguchi

*Centro Universitário de Maringá - UniCesumar
Av Guedner, 1610, Jardim Aclimação
87050-390 – Maringá-PR, Brasil
mirianueda@gmail.com*

Alterações hematológicas correlacionadas ao tabagismo

Hematological changes related to smoking

Ana Carolina Nicodemo Feitosa¹

Érica Benassi Zanqueta²

Janicelle Fernandes Morais²

Mirian Ueda Yamaguchi³

Resumo

O tabagismo tem sido alvo de atenção dos órgãos governamentais devido a seu crescente uso e às diversas patologias associadas. Os efeitos são decorrentes das inúmeras substâncias que compõem o cigarro, destacando os efeitos do monóxido de carbono e da nicotina. Desta forma, o tabaco pode ser considerado uma variante responsável por alterações em exames laboratoriais. Considerando esses fatos, buscamos avaliar o hemograma de tabagistas e não tabagistas de ambos os sexos, a fim de correlacionar o uso do tabaco com essas possíveis alterações hematológicas. A análise dos hemogramas dos tabagistas demonstraram valores significativamente maiores para VCM (volume corpuscular médio) e HCM (hemoglobina corpuscular média) na população masculina, além do RDW (*Red Cell Distribution Width*) e leucócitos para ambos os sexos. Entretanto, não foi possível estabelecer associações entre as alterações hematológicas e o tabaco exclusivamente com o ato de fumar. Estudos mais detalhados a fim de correlacionar a interação do tabaco no organismo e as alterações no hemograma serão necessários, o que permitirá uma análise mais criteriosa dos laboratoristas e clínicos diante de pacientes tabagistas.

Palavras-chave

Hemograma; Leucograma; Monóxido de carbono; Nicotina

INTRODUÇÃO

O consumo de tabaco é relatado desde o início do século XVI na Europa, e a cada década observamos o aumento progressivo de fumantes, afetando adolescentes e jovens adultos.^(1,2)

Segundo o relatório da Organização Mundial da Saúde sobre a Epidemia Global de Tabagismo, o tabaco leva a óbito mais de 30% dos seus usuários, abreviando em média 15 anos a vida dos tabagistas. As estimativas demonstram que, durante o século XXI, mais de um bilhão de pessoas morrerão em consequência de seu consumo, o que torna o tabaco alvo de combate de instituições governamentais, pois é visto como problema da saúde pública devido aos gastos com as patologias relacionadas ao fumo.⁽³⁾

Seu efeito no organismo está relacionado direta ou indiretamente com diversas enfermidades, entre elas destacam-se os casos de neoplasias do trato respiratório,⁽⁴⁾ aterogênese, doenças cardiovasculares^(5,6,7) mudanças desfavoráveis no perfil lipídico,^(8,9) aumento da viscosidade sanguínea, interferências nas funções plaquetárias, indução a trombose, atividade adrenérgica aumentada, aumento da epinefrina e norepinefrina, refletindo em aumento de pres-

são arterial,⁽¹⁰⁻¹³⁾ além de outras influências sobre parâmetros hematológicos e bioquímicos.⁽¹⁴⁾

Esses efeitos são decorrentes das mais de 4.700 substâncias que compõem o cigarro, capazes de formar radicais livres e metabólitos oxidantes que causam dano celular severo e induzem, em longo prazo, às neoplasias, além do monóxido de carbono gerado na queima do cigarro, que apresenta afinidade maior com a hemoglobina do que a molécula de oxigênio.^(13,15)

Desta forma, o tabaco é considerado pelos profissionais da saúde, médicos e laboratoristas como o agente causador de doenças crônicas e, conseqüentemente, como uma variante responsável por alterações em exames laboratoriais.⁽¹³⁾ Dentre esses exames podemos destacar o hemograma, que é um exame que qualifica e quantifica os componentes do tecido sanguíneo. Embora sejam inespecíficas, as informações contidas no hemograma sugerem o diagnóstico das mais diversas patologias humanas, sendo, então, um exame básico e importante para análise clínica do paciente.⁽¹⁶⁾

As possíveis alterações hematológicas provocadas pelo tabagismo estão relacionadas aos valores de hematócrito, concentração de hemoglobina, quantidade de

¹Bacharel em Biomedicina e Pós Graduada em Análises Clínicas pelo CESUMAR.

²Acadêmica de Biomedicina do CESUMAR.

³Autora responsável: Professora Dra do curso de Farmácia e Biomedicina do CESUMAR.

Pesquisa realizada no laboratório UNILAB.

Artigo recebido em 29/11/2011

Artigo aprovado em 28/09/2016

eritrócitos em geral, velocidade de hemossedimentação, alterações leucocitárias e plaquetárias.^(13,17)

Levando em consideração a falta de informação no momento da triagem do paciente sobre o consumo de cigarro e a inexistência de valores de referência para fumantes, este trabalho buscou analisar parâmetros hematológicos comparando indivíduos fumantes e não fumantes. E a partir do objetivo principal pesquisar e estabelecer associações entre o hábito de fumar e as variáveis hematológicas, baseando-se na análise da série vermelha e branca a partir da concentração de hemoglobina, hemácias, determinação do hematócrito e contagem global e diferencial de leucócitos.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado mediante parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Cesumar - CEP sob o parecer nº 228/2011, CAAE nº 0228.0.299.000-11.

Foram analisados hemogramas de 320 voluntários de ambos os sexos, tabagistas e não tabagistas (grupo controle) pacientes de uma unidade laboratorial da cidade de Presidente Prudente, SP, para comparação de variações decorrentes do consumo de cigarro sobre as séries eritrocitárias e leucocitárias nos dois grupos.

A abordagem dos pacientes foi realizada de forma voluntária, mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido e termo de proteção de risco e confidencialidade. Cada voluntário respondeu a um questionário contendo informações para obtenção de dados sobre a população observada, caracterização do consumo de cigarro e fatores sobre práticas cotidianas que nos forneceram indicadores do perfil desses pacientes. Posteriormente foram analisados os hemogramas dessa população, a fim de verificar a presença de alterações na séria vermelha e branca.

Os resultados foram descritos de forma qualitativa e quantitativa e analisados pelo programa estatístico GraphPad Software Prisma® 3.0 sendo utilizado o teste One-Way Anova (e não paramétrico), seguido de Bonferroni para análise de variância entre os grupos com nível de significância $p < 0,05$.

RESULTADOS

Dentre os 320 entrevistados, 177 (55,3%) eram homens; destes, 36 (20,3%) eram fumantes, sendo que seis (16,6%) fumavam em média menos de cinco cigarros/dia, dez (27,7%) fumavam em média de cinco a dez cigarros/dia, 14 (38,8%) fumavam em média entre dez a vinte cigarros/dia e seis (16,6%) fumavam mais de vinte cigarros/dia.

Dos mesmos 320 entrevistados, 143 eram mulheres (44,7%); destas, 31 (21,7%) faziam uso do cigarro regular-

mente, entre elas seis (19,3%) pacientes faziam uso de menos de cinco cigarros/dia, 14 (45,0%) fumavam entre cinco a dez cigarros/dia, nove (29,0%) faziam uso de dez a vinte cigarros/dia e dois (6,4%) pacientes faziam uso de mais de vinte cigarros/dia.

A média de idade variou entre 25 e 71 anos (média 48,6 anos) no grupo feminino e entre 19 e 66 anos (média 42,9 anos) no grupo masculino.

De acordo com os questionários, 65,3% pacientes não fumantes e 42,1% dos pacientes tabagistas entre homens e mulheres relataram praticar atividade física regularmente.

Após a análise dos hemogramas obtivemos resultados significativamente diferentes em relação ao grupo controle e ainda entre os grupos de consumo pesquisados, para VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média), RDW (*Red Cell Distribution Width* – variação do tamanho das hemácias), contagem de leucócitos e monócitos.

Ao analisar os hemogramas da população masculina, considerando a série eritrocitária, observaram-se diferenças significativas em alguns parâmetros hematimétricos: como os valores de VCM e HCM, onde o grupo tabagista com consumo entre dez a vinte cigarros/dia apresentou valores médios maiores do que o grupo controle, considerando os resultados significativamente diferentes com $p < 0,01$ e $p < 0,001$ respectivamente (Figuras 1 e 2).

Ao analisar os valores de variação da distribuição do tamanho dos eritrócitos (RDW) verificou-se que os grupos tabagistas com consumo entre cinco a dez cigarros/dia, dez a vinte cigarros/dia, e superior a vinte cigarros/dia apresentaram valores maiores que os valores descritos pelo grupo controle, com valores de $p < 0,001$, $p < 0,001$ e $p < 0,01$ respectivamente. O grupo com consumo entre cinco a dez cigarros/dia também apresentou valores maiores quando comparado ao grupo com consumo menor que cinco cigarros/dia ($p < 0,001$) (Figura 3).

Já na série branca do grupo masculino, obtiveram-se valores significativamente diferentes na população leucocitária entre os grupos tabagistas com consumo entre dez a vinte cigarros/dia e acima de vinte cigarros/dia, onde estes apresentaram valores maiores que do grupo controle, $p < 0,01$ e $p < 0,01$, respectivamente. Os tabagistas com consumo maior que vinte cigarros/dia apresentaram valores mais elevados do que aqueles que consomem menos que cinco cigarros/dia ($p < 0,001$) (Figura 4).

Em relação aos hemogramas na população feminina, assim como no grupo masculino, verificaram-se diferenças significativas nos valores de RDW. As tabagistas com consumo entre cinco a dez cigarros/dia, dez a vinte cigarros/dia, mais que vinte cigarros/dia apresentaram valores superiores aos encontrados no grupo controle, $p < 0,05$, $p < 0,001$ e $p < 0,001$, respectivamente. Sendo que o grupo

com consumo maior (>20 cigarros) também apresentou resultados mais elevados em relação àquelas que consumiam menos que cinco cigarros/dia, entre cinco e dez cigarros/dia, e entre dez a vinte cigarros/dia, $p<0,001$, $p<0,001$ e $p<0,001$ respectivamente (Figura 5).

Para a série leucocitária no sexo feminino, obtiveram-se valores aumentados para os tabagistas de maior consumo (>20 cigarros/dia) em relação ao grupo controle e ao grupo de menor consumo (<5 cigarros/dia), sendo esta diferença estatisticamente significativa $p<0,001$ e $p<0,05$ respectivamente (Figura 6).

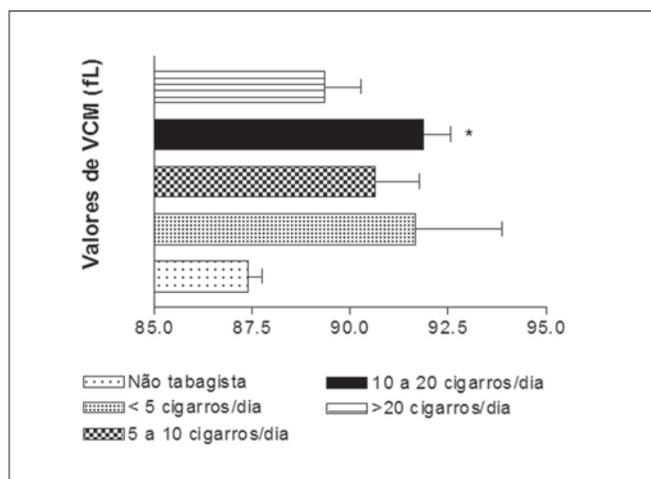


Figura 1. Valores de VCM no sexo masculino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 10 a 20 cigarros/dia apresentou valores maiores em média do que o grupo controle.

* Valores significativamente diferentes $p<0,01$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

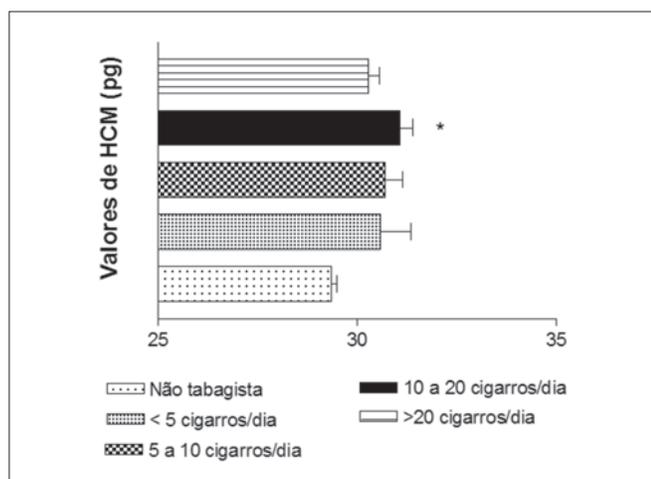


Figura 2: Valores de HCM no sexo masculino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 10 a 20 cigarros/dia apresentou valores maiores em média do que o grupo controle.

* Valores significativamente diferentes $p<0,001$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

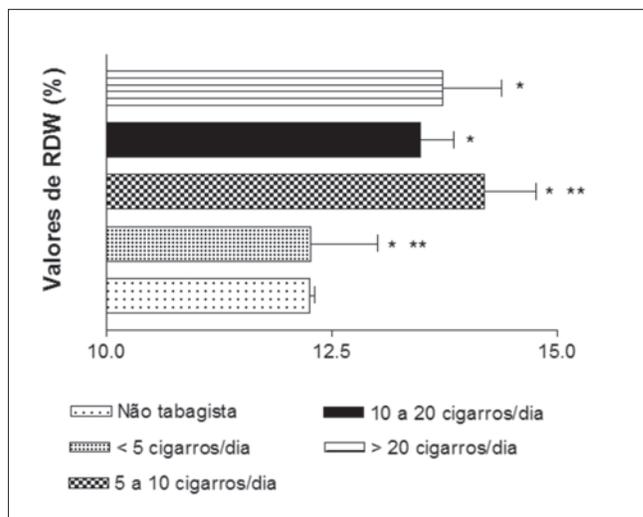


Figura 3. Valores de RDW no sexo masculino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 5 a 10 cigarros/dia, 10 a 20 cigarros/dia, o grupo com consumo superior a 20 cigarros/dia apresentaram valores maiores que os valores descritos pelo grupo controle. O grupo com consumo entre 5 a 10 cigarros/dia também apresentou valores maiores quando comparado ao grupo com consumo menor que 5 cigarros/dia.

* Valores significativamente diferentes entre os grupos tabagistas e o grupo controle $p<0,001$; $p<0,001$; $p<0,01$; respectivamente (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

** Valores significativamente diferentes entre os grupos tabagistas (5 a 10 cigarros/dia e menos de 5 cigarros/dia) $p<0,001$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

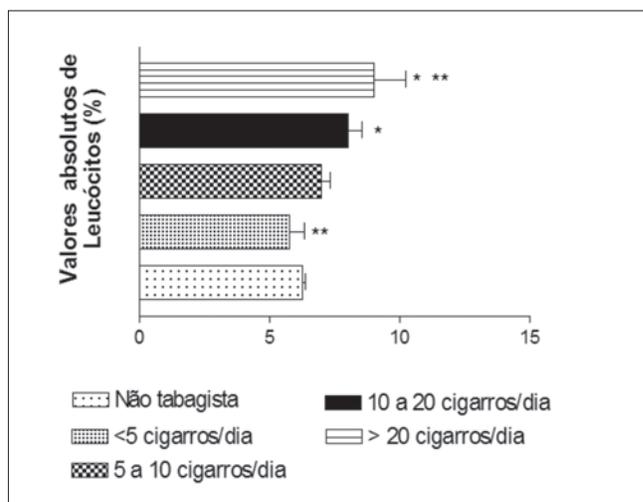


Figura 4. Valores absolutos de leucócitos no sexo masculino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 10 a 20 cigarros/dia, maior que 20 cigarros/dia apresentaram valores maiores que os valores descritos pelo grupo controle. O grupo com consumo maior que 20 cigarros/dia também apresentou valores maiores quando comparado ao grupo com consumo menor que 5 cigarros/dia.

*Valores significativamente diferentes entre os tabagistas e grupo controle $p<0,01$; $p<0,01$; respectivamente (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

** Valores significativamente diferentes entre os grupos tabagistas (mais que 20 cigarros/dia e menos de 5 cigarros/dia) $p<0,001$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

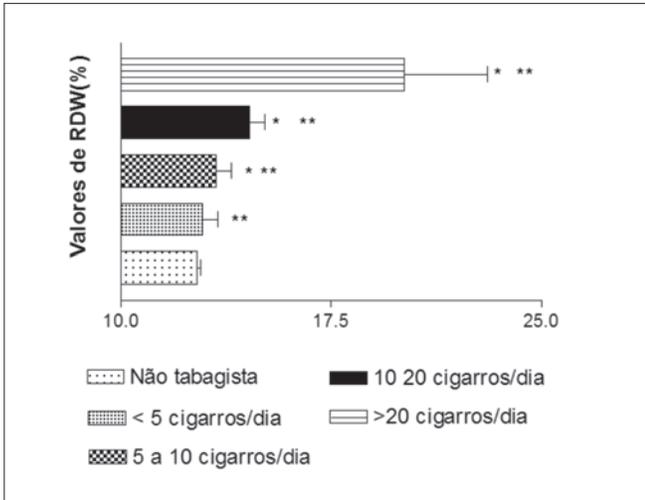


Figura 5. Valores de RDW no sexo feminino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 5 a 10 cigarros/dia, 10 a 20 cigarros/dia, e consumo superior a 20 cigarros/dia apresentaram valores maiores que os valores descritos pelo grupo controle. O grupo com consumo superior a 20 cigarros/dia também apresentou valores maiores quando comparado ao grupo com consumo menor que 5 cigarros/dia, entre 5 e 10 cigarros/dia, entre 10 a 20 cigarros/dia.

* Valores significativamente diferentes $p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; respectivamente. (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

** Valores significativamente diferentes entre os grupos tabagistas (maior que 20 cigarros/dia em relação aos grupos 10 a 20, 5 a 10 e menos de 5 cigarros/dia) $p < 0,001$; $p < 0,001$ e $p < 0,001$ respectivamente (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

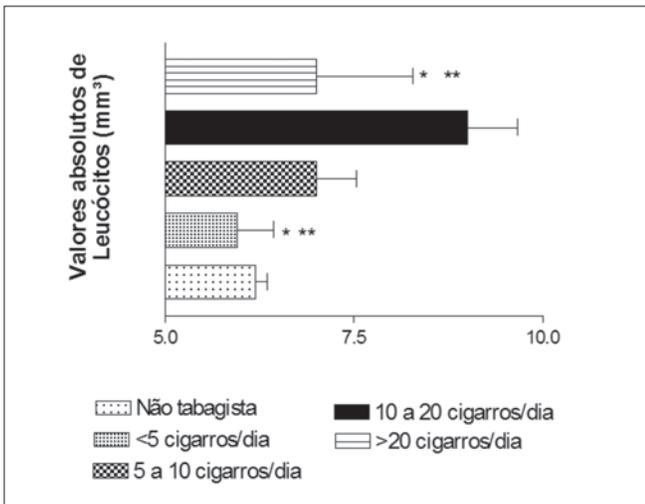


Figura 6: Valores absolutos de Leucócitos no sexo feminino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo maior que 20 cigarros/dia apresentaram valores maiores que os valores descritos pelo grupo controle. O grupo com consumo maior que 20 cigarros/dia, também apresentou valores maiores quando comparado ao grupo com consumo menor que 5 cigarros/dia.

*Valores significativamente diferente $p < 0,001$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

** Valores significativamente diferentes entre os grupos tabagistas (maior que 20 e menos que 5 cigarros/dia) $p < 0,05$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

Os níveis de monócitos também variaram entre os grupos, apresentando valores menores e estatisticamente significativos entre os tabagistas que fumavam de dez a vinte cigarros/dia e os não tabagistas ($p < 0,01$) (Figura 7).

A contagem de plaquetas apresentou valores maiores para os tabagistas com maior consumo, para ambos os sexos, porém, de forma não significativa. (Tabela).

Os demais parâmetros, como contagem de hemácias, hemoglobina, hematócrito, bem como toda a contagem diferencial da séria branca, foram analisados, mas não apresentaram valores significativamente diferentes em relação ao grupo controle, não sendo então descritos neste estudo.

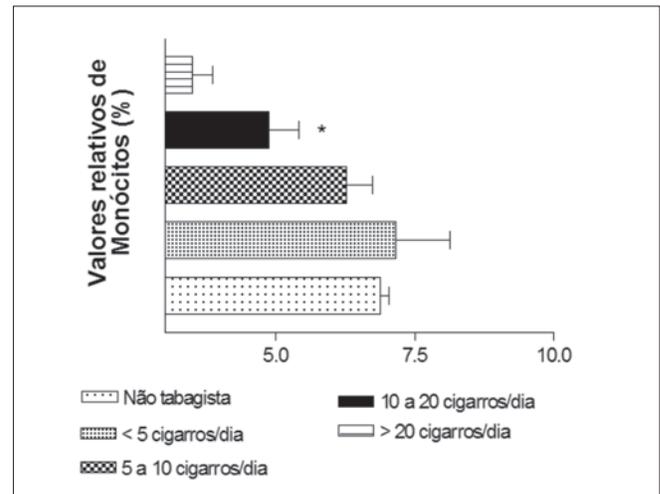


Figura 7. Valores relativos de Monócitos no sexo feminino. As colunas representam a média (\pm desvio padrão) do grupo controle e das diferentes quantidades de consumo de cigarro. O grupo tabagista com consumo entre 10 a 20 cigarros/dia apresentou valores menores que o grupo controle.

* Valor significativamente diferente $p < 0,01$ (One-way ANOVA e não paramétrico, seguido de Bonferroni).

Tabela I. Contagem de plaquetas

Parâmetro	Homens		Mulheres	
	Tabagistas (>20 cig/dia)	Não Tabagistas	Tabagistas (>20 cig/dia)	Não Tabagistas
Plaquetas (mm³)	273,16	273,16	321,5	245,96

.Descrição dos valores médios da contagem de plaquetas. Os valores encontrados para os fumantes com consumo maior 20 cigarros/dia em relação ao grupo controle, são maiores em ambos os sexos, porém essa diferença não é estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

DISCUSSÃO

Dentre as mais de 4.700 substâncias que compõem o tabaco, devemos destacar os efeitos do monóxido de carbono (CO), e da nicotina, ambos responsáveis pelos principais consequências do uso do cigarro.⁽³⁾

O principal efeito relacionado ao monóxido de carbono no organismo é a formação da carboxi-hemoglobina. O oxigênio, quando se liga à hemoglobina do eritrócito, forma o composto oxi-hemoglobina, apto a desempenhar a função de oxigenação. Porém, o monóxido de carbono, principal resultante da queima do tabaco, possui alta afinidade com a hemoglobina, formando a carboxi-hemoglobina, que, além de não transportar oxigênio, indisponibiliza o sítio de ligação para esta molécula, resultando em diminuição da oxigenação tecidual e, em exposição prolongada, hipóxia.^(18,19)

Em função disso, o organismo, compensatoriamente, aumenta a produção de eritrócitos, tornando o sangue mais viscoso, comprometendo a circulação periférica e dificultando a oxigenação dos tecidos,^(13,17,18) além da correlação existente entre níveis maiores de exposição ao CO com aumento da pressão diastólica e frequência cardíaca, incorrendo em alterações da pressão arterial.^(20,21)

Já a nicotina tem efeitos diversos sobre o organismo. Primeiramente é responsável por induzir a liberação de catecolaminas, favorecendo mudanças no tônus muscular e alterações hemodinâmicas,⁽²²⁾ podendo ainda refletir no músculo cardíaco devido ao aumento da atividade simpática.^(12,23) Essa indução também atua na proliferação e migração dos leucócitos, pois estimula a medula óssea a aumentar a produção da série branca, promovendo o aparecimento de células morfológicamente mais jovens na circulação, alterando a fisiologia do sistema imune. E, segundo, por aumentar as concentrações de L-selectina e mieloperoxidases, que são moléculas pró-inflamatórias, responsáveis indiretamente pela proliferação celular na medula óssea.^(5,12,24,25)

Outra questão associada à exposição prolongada à nicotina é o desencadeamento de disfunção endotelial vascular, provocando a diminuição da síntese de óxido nítrico, promovendo vasoconstrição, estímulo a adesão de leucócitos e subsequente aterosclerose.⁽²¹⁾

Acredita-se que a nicotina também seja um fator causador da ativação plaquetária, tornando-as mais adesivas junto à parede do endotélio, com consequente formação de coágulos que podem desprender-se formando trombos, podendo gerar obstrução de vasos, incorrendo em sérias complicações. Somado ao aumento dos níveis de fibrinogênio, este que é ativador da cascata de coagulação e das moléculas hemostáticas, o que torna os pacientes tabagistas mais suscetíveis à coagulação.⁽¹⁵⁾

De acordo com a fisiopatologia descrita, diversos estudos relatam a influência do tabagismo nos exames laboratoriais, entre eles nas avaliações hematológicas. Valores aumentados para hemácias e hemoglobina são descritos em estudos com pacientes que relatam consumos maiores que dez cigarros/dia,^(26,27) o que sugere que as alterações encontradas no hemograma podem estar relacio-

nadas à quantidade de tabaco consumida, visto que a população estudada nestes trabalhos não descreve patologias associadas ao uso de tabaco e considerando que pacientes que têm um consumo maior apresentam períodos de hipóxia prolongado.⁽²⁸⁾

Porém, um estudo com pacientes jovens, em sua maioria do sexo masculino, observou ausência de alterações nos parâmetros hematológicos, encontrando correlação com o tabagismo apenas nos valores de VHS,⁽¹⁷⁾ corroborando com a presente pesquisa.

Em relação aos índices hematimétricos encontraram-se diferenças nos valores de VCM e HCM; esses parâmetros sugerem presença de macrocitose ou microcitose. Em nosso estudo encontramos valores significativamente maiores no grupo tabagista (dez a vinte cigarros/dia) para ambos os parâmetros na amostra masculina. Apesar dessa diferença significativa entre o grupo tabagista descrito e o controle, os valores não perfazem o perfil de macrocitose.

Outro parâmetro correlacionado a VCM que apresentou valores expressivamente diferentes foram os valores de RDW, os quais se demonstraram alterados em ambos os sexos com valores maiores para os grupos tabagistas em todas as quantidades de consumo, permitindo-nos concluir a heterogeneidade da população de hemácias dos pacientes tabagistas, o que deve estar relacionada à estimulação da eritropoiese.⁽¹⁶⁾

Na séria branca, os valores de leucócitos foram superiores entre os tabagistas para ambos os sexos em relação ao grupo controle, sustentando os achados literários,^(5,10,29) podendo este aumento estar associado ao efeito da nicotina sobre as catecolaminas, descrito anteriormente, ou, ainda, ser decorrente da inflamação provocada pelo hábito de fumar.^(13,25,30)

Na amostra feminina encontramos diminuições significativas para os valores de monócitos, permitindo inferir que essas diminuições na circulação ocorrem devido ao recrutamento dos monócitos circulantes para o tecido.^(5,24)

A contagem de plaquetas foi maior entre os consumidores do tabaco em relação aos não tabagistas, porém essas diferenças não foram elevadas o suficiente para caracterizar alterações significativas, o que pode ser justificado pelo fato de que, por um lado, o uso do tabaco promove a agregação plaquetária,^(23,31) o que promoveria diminuição das plaquetas circulantes, e, por outro lado, a produção de eritropoetina decorrente da hipóxia transitória estimula a proliferação de plaquetas, como foi observado em um estudo com camundongos.⁽²²⁾

CONCLUSÕES

Diante do que foi discutido, o uso do tabaco apresentou correlação com alterações em alguns componentes do hemograma, porém estas modificações não nos permitiram

estabelecer associações apenas com o ato de fumar, como descrita por outros autores, uma vez que a população estudada pertencia à clientela de um laboratório de análises clínicas com possível existência de outras patologias de base associadas, visto que a adesão ao estudo era voluntária. Mesmo assim, estes resultados suscitam dúvidas que merecem estudos futuros para definir se a interação do tabaco no organismo promove alterações na interpretação dos valores normais de um hemograma e se há necessidade de se estabelecerem valores de referência distintos para a população fumante, visando desta forma proporcionar uma análise mais criteriosa dos laboratoristas e clínicos diante de pacientes tabagistas.

Agradecimentos

Aos funcionários do laboratório Unilab, em especial à Dra Márcia Germano Briguenti Souza pela gentil e prestimosa colaboração.

Abstract

Smoking has been the subject of attention of governmental agencies because of their increasing of use and the various associated pathologies. The effects are arising from numerous substances that make up the cigarette, highlighting the effects of carbon monoxide and nicotine. This way tobacco can be considered a variant responsible for changes in laboratory tests. Considering these facts we seek to evaluate the CBC of smokers and non smokers of both genders, in order to correlate the tobacco use with these possible haematological changes. The analysis of blood tests of smokers showed significantly higher values for VCM (mean corpuscular volume) and HCM (mean corpuscular hemoglobin) in the male population, beyond the RDW (Red Cell Distribution Width) and leucocytes for both genders. However it was not possible to establish associations between haematological changes and tobacco exclusively with the act of smoking. More detailed studies in order to correlate the interaction of tobacco in the body and the changes in blood counts will be needed, which will allow a more careful analysis of the Labs and clinical in front of patients in smokers.

Keywords

Hemogram; Leucogram; Carbon monoxide; Nicotine

REFERÊNCIAS

- Barbosa MTS, Carlini-Cotrim B, Silva-Filho AR. O uso do tabaco por estudantes de primeiro e segundo grau em dez capitais brasileiras: possíveis contribuições da estatística multivariada para a compreensão do fenômeno. *Rev Saúde Pública* 1989; 23 (5 Suppl):401-9.
- Nogueira KT, Silva CMFM. Tabagismo em adolescentes numa escola da rede pública do estado do Rio de Janeiro. *Adolescência e Saúde.*, 2004; 1(4).
- Silva MAMRT. Efeitos do tabagismo sobre o sistema cardiovascular: hemodinâmica e propriedades elásticas arteriais [tese]. 82 p. São Paulo. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2005.
- Menezes AMB, Horta BL, Oliveira ALB, Kaufmann RAC, Duquia R, Diniz A, et al. Risco de câncer de pulmão, laringe e esôfago atribuível ao fumo. *Rev Saúde Pública*. 2002.;36(2):129-34.
- Heeschen C1, Jang JJ, Weis M, Pathak A, Kaji S, Hu RS, et al. Nicotine stimulates angiogenesis and promotes tumor growth and atherosclerosis. *Nat Med*. 2001 Jul;7(7):833-9
- Manzano BM, Vanderlei LCM, Ramos EMC, Ramos D. Implicações do tabagismo sobre o controle autônomo cardíaco. *Arq Ciênc Saúde* de 2010;17(2):97-101.
- Paiva SAR, Zornoff LAM, Okoshi M P, Okoshi K, Cicogna AC, Campana AO. Comportamento das variáveis cardíacas em animais expostos à fumaça de cigarro. *Arq Bras Cardiol*. 2003; 81: 221-4.
- Batista ES, Sabarense CM, Priore SE, Rosa DD, Montezano IM, Peluzio M C G. Hábito alimentar, níveis de lipídios sanguíneos e o status antioxidante de adultos jovens fumantes e não fumantes. *Rev. Nutr*. 2009;22(3):377-88.
- Prigol M, Marmentini F, Grazziotin NA, Macedo SMD. Efeito do tabagismo sobre o perfil lipídico e suas implicações em detentos internos do presídio Estadual de Erechim- RS. *RBAC* 2007; 39(1): 3-8.
- Giusti AL. Interferência do tabaco no sistema imunitário- estado atual e perspectivas- revisão da literatura. *Conscientiae Saúde*. 2007;6(1):155-63.
- Grassi G, Seravalle G, Calhoun DA, Bolla GB, Giannattasio C, Marabini M, et al. Mechanisms responsible for sympathetic activation by cigarette smoking in humans. *Circulation*. 1994 Jul;90(1):248-53.
- Kansas GS, Ley K, Munro JM, Tedder TF. Regulation of leukocyte rolling and adhesion to high endothelial venules through the cytoplasmic domain of L- selectin. *J Exp Med*. 1993 Mar 1;177 (3):833-8.
- Nunes E. Consumo de tabaco. Efeitos na Saúde. *Rev Port Clin Geral* 2006;22:225-44.
- Dullaart RP, Hoogenberg K, Dikkeschei BD, van Tol A. Higher plasma lipid transfer protein activities and unfavorable lipoprotein changes in cigarette-smoking men. *Arterioscler Thromb*. 1994 Oct;14 (10): 1581-5.
- Franco R F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2001;34(3/4):229-37.
- Grotto HZW. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2009;31(3):178-82.
- Camargo T, Ferreira S, Rocha-Junior D, Shitara E, Oliveira S, Oshima-Franco Y, Vasconcelos E.. Influência do tabagismo sobre as análises laboratoriais de rotina: um estudo piloto em adultos e jovens. *Revista Ciênc. Farm. Básica*. 2006;27(3):247-51.
- Galvão J F, Galvão TF, Moreau RLM. Tabaco. In: Oga S, Camargo MMA, Batistuzzo JAO. *Fundamentos de toxicologia*. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. 677 p
- Klassen CD. Agentes tóxicos ambientais não metálicos: poluentes atmosféricos, solventes e vapores, pesticidas. In: Goodman LS, Gilman A, Hardman J. G, Limbird LE. *Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica*. 9a. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996.
- Aronow WS, Cassidy J, Vangrow JS, March H, Kern JC, Goldsmith JR, et al. Effects of cigarette smoking and breathing carbon monoxide on cardiovascular hemodynamics in angina patients. *Circulation*. 1974 Aug;50(2):340-7
- Schoen F.J. Os Vasos Sanguíneos. In: Kumar V, Abbas AK, Fausto N. *Robbins & Cotran: patologia*. 8ª ed. Rio de Janeiro, Elsevier, 495- 86, 2010.
- Winniford MD, Wheelan KR, Kremers MS, Ugolini V, van den Berg E Jr, Niggemann EH, et al. Smoking-induced coronary vasoconstriction in patients with atherosclerotic coronary artery disease: evidence for adrenergically mediated alterations in coronary artery tone. *Circulation*. 1986 Apr;73(4):662-7.
- Benowitz NL, Gourlay SG. Cardiovascular toxicity of Nicotine: Implications for nicotine replacement therapy. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Jun;29(7):1422-31.
- Ellisen L.W. Smoking and emphysema: the stress connection. *Nat Med*. 2010 Jul;16(7):754-5.
- Yanbaeva DG1, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF. Systemic effects of smoking. *Chest*. 2007 May;131(5):1557-66.

26. Puente-Maestu L, Bazonza N, Pérez MC, Ruiz de Oña JM, Rodríguez Hermosa JL, Tatay E. Relationship between tobacco smoke exposure and the concentrations of carboxyhemoglobin and hemoglobin. *Arch Bronconeumol.* 1998 Jul-Aug;34(7):339-43. [Article in Spanish].
27. Spada C, Treitinger A, Souza MA. Prevalência do tabagismo em doadores de sangue da região serrana de Santa Catarina - Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2006; 28(1):19-23.
28. Sumário Executivo. Relatório de OMS sobre a epidemia global de tabagismo, 2008.
29. Al-Awadhi AM1, AlFadhli SM, Mustafa NY, Sharma PN. Effects of cigarette smoking on hematological parameters and von Willebrand factor functional activity levels in asymptomatic male and female Arab smokers *Med Princ Pract.* 2008;17(2):149-53
30. Kode A, Yang SR, Rahman I. Differential effects of cigarette smoke on oxidative stress and proinflammatory cytokine release in primary human airway epithelial cells and in a variety of transformed alveolar epithelial cells. *Respir Res.* 2006 Oct 24;7:132. Erratum in *Respir Res.* 2008;9:6.
31. Inoue T. Cigarette smoking as a risk factor of coronary artery disease and its effects on platelet function. *Tob Induc Dis.* 2004 Mar 15; 2(1):27-33.

Correspondência

Mirian Ueda Yamaguchi

Centro Universitário de Maringá - UniCesumar
Av Guedner, 1610, Jardim Aclimação, Maringá, Paraná, CEP
87050-390
mirianueda@gmail.com

Análise estatística dos registros de aspirado de medula óssea no Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina

Statistical analysis of bone marrow aspirate records in the University Hospital of Federal University of Santa Catarina

Simone Ferreira Campos¹

Joanita Ângela Gonzaga del Mora²

Manoel Rosa de Oliveira Lino³

Resumo

O exame de medula óssea se aplica para investigação, diagnóstico e abordagem terapêutica de várias doenças e neoplasias hematológicas. Também é importante para avaliação e acompanhamento dos pacientes submetidos à quimioterapia, terapias imunossupressoras, transplante de medula óssea e com diagnóstico de aplasia de medula óssea. No Hospital Universitário de Florianópolis (HU-UFSC), o aspirado de medula óssea é um procedimento realizado por médicos hematologistas, e sua análise citomorfológica é feita no setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas. Desde 1995 tem-se o registro por escrito de todos esses procedimentos realizados. A neoplasia hematológica predominante nos laudos conclusivos foi a Leucemia Mieloide Aguda. O mielograma é uma ferramenta essencial para se iniciar uma investigação diagnóstica, pois possibilita avaliar infiltração, aplasia, displasia, informações que, somadas a outros testes suplementares, auxiliam na conclusão de um diagnóstico preciso e definitivo.

Palavras-chave

Aspirado de medula óssea; Neoplasias hematológicas; Mielograma

INTRODUÇÃO

Inaugurado em 1980, o Hospital Universitário Ernani Polydoro São Thiago é o único de Santa Catarina totalmente público. Foi concebido na perspectiva do trinômio ensino, pesquisa e extensão e atende a comunidade local, do estado de Santa Catarina, turistas e visitantes de Florianópolis, sem distinção. O seu atendimento de emergência 24 horas atinge a média de quatrocentos pacientes por dia. O HU é também referência estadual em patologias complexas, com grande demanda na área de câncer e cirurgia de grande porte, nas diversas especialidades; além disso, muitas pesquisas são desenvolvidas por sua equipe de profissionais da área da saúde.⁽¹⁾ O Laboratório de Análises Clínicas, inserido dentro do HU, atende a todos os pacientes atendidos no hospital. As áreas de abrangência do laboratório incluem os setores de bioquímica, urinálise, hematologia, hemostasia, microbiologia, parasitologia e imunologia. O aspirado de medula óssea é um procedimento

realizado por médicos hematologistas e sua análise citomorfológica é feita no setor de Hematologia do Laboratório de Análises Clínicas. Desde 1995 tem-se o registro por escrito de todos esses procedimentos realizados. Nesses registros constam dados do paciente: nome, idade, número de registro, data, indicação clínica e conclusão. O objetivo desse trabalho é inserir essas informações do Livro de Registro numa tabela do Excel e fazer a análise estatística dos dados obtidos.

ASPIRADO DE MEDULA ÓSSEA - AMO

O sangue e a medula óssea são um dos maiores órgãos do corpo humano.⁽²⁾ A medula óssea normal é mole e semifluida durante a vida e pode ser removida para exame através de aspiração, bem como através de técnicas de biópsia.⁽³⁾ Os locais geralmente utilizados para a aspiração são o íleo e o esterno para pacientes obesos ou imóveis e a crista ilíaca posterior para os demais ou quando há neces-

¹Farmacêutica-Bioquímica, especialista em Hematologia. Hospital Universitário (HU) – Setor de Hematologia – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis - SC, Brasil.

²Médica Especialista em Hematologia do Hospital Universitário (HU) – Setor de Hematologia – Universidade Federal de Santa Catarina – Florianópolis - SC, Brasil.

³Professor Doutor em Estatística da Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis - SC, Brasil.

Instituição: Laboratório de Análises Clínicas – Hospital Universitário (HU) – Setor de Hematologia – Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis - SC, Brasil.

Artigo recebido em 10/03/2010

Artigo aprovado em 28/09/2016

sidade de biópsia de medula óssea.⁽⁴⁾ As células precursoras medulares estão distribuídas no interior da medula óssea, obedecendo a um arranjo mais ou menos definido ou preferencial. A composição ou integridade anatomofuncional desse microambiente é essencial para a proliferação e diferenciação normal das células do sangue. Em certos casos patológicos, nos quais há alteração dessa anatomia normal, a proliferação/maturação das células sanguíneas se altera.⁽⁵⁾

A análise de sangue periférico e outros testes laboratoriais rotineiros nem sempre fornecem informações suficientes para o diagnóstico de doenças hematológicas.⁽⁶⁾ O exame de medula óssea se aplica para investigação, diagnóstico e tratamento de várias doenças e neoplasias hematológicas. Também é importante para avaliação e acompanhamento dos pacientes submetidos à quimio-

terapia, transplante de medula óssea e outras formas de tratamento médico.^(2,7-9) A interpretação final requer a integração dos resultados de exames do sangue periférico, aspirado de medula óssea e biópsia de medula óssea juntamente com investigações suplementares como a citometria de fluxo, a imunofenotipagem, citoquímica, FISH (hibridização fluorescente *in situ*) e estudos de genética molecular. Os achados podem ser comparados com resultados anteriores no caso de monitoração de neoplasia já existente.⁽¹⁰⁾

Através do aspirado de medula óssea são feitas as análises citomorfológicas (mielograma) nas distensões em lâminas, delgadas ou espessas, coradas pelo método pancromático May Grunwald-Giemsa (Romanowsky).^(9,11)

O Quadro 1 contém as indicações para o Aspirado de Medula Óssea.^{(1,3,7).}

Quadro 1 - Indicações para o Aspirado de Medula Óssea

- Investigação de anemia inexplicada, índice de células vermelhas anormais, citopenias ou citoses
- Febre de origem desconhecida
- Investigação de morfologia anormal de esfregaço de sangue periférico sugestivo de patologia de medula óssea
- Síndromes imunodeficientes
- Diagnóstico e acompanhamento de distúrbios hematológicos malignos (ex.: leucemia crônica e aguda, síndromes mielodisplásicas, doença mieloproliferativa crônica, distúrbios linfoproliferativos, linfomas, mieloma múltiplo, amiloidose, mastocitose)
- Investigação de Doença Residual Mínima em linfomas e leucemias pós-tratamento
- Investigação da suspeita de metástases na medula óssea
- Lesões ósseas focais inexplicadas em imagens radiológicas
- Organomegalia inexplicada ou presença de lesões de massa inacessíveis por biópsia
- Cultura microbiológica para investigação de piroxia de origem desconhecida ou infecções específicas como malária, tuberculose, leishmaniose
- Avaliação de depósitos de Ferro
- Investigação de distúrbios de armazenamento lipídico/glicogênico
- Exclusão de doenças hematológicas em potenciais doadores de transplante alogênico de células-tronco
- Anormalidades cromossomais

MATERIAL E MÉTODOS

No período de agosto de 1995 a julho de 2008 foram realizados 2.332 aspirados de medula óssea (AMO) no Hospital Universitário de Florianópolis (HU-UFSC). As informações contidas no livro de registro dos aspirados de medula óssea foram tabuladas numa planilha do Excel

contendo os dados: registro, nome, data do exame, número do exame, idade, sexo, indicação clínica e conclusão. As informações obtidas foram padronizadas e aplicadas no Programa de Estatística SPSS para análise descritiva dos dados.

A Tabela 1 mostra o modelo de planilha desenvolvido.

Tabela 1. Planilha do Excel utilizada para tabulação dos dados de mielograma HU-UFSC

Atendimento hematológico no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário (HU) de Florianópolis							
Registro	Nome do Paciente	Data do Exame	Número do Exame	Idade	Sexo	Indicação Clínica	Conclusão
*****	*****	****	*****	****	****	*****	*****

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Dos 2.332 mielogramas realizados, 51% foram em homens e 49% em mulheres. A frequência destes pacientes por idade encontra-se na Tabela 2, onde se vê o total de pacientes atendidos nesse período.

Tabela 2 - Frequência de idade dos pacientes que realizaram AMO no HU-UFSC

Pacientes	Frequência	%
Menos que 15 anos	77	5,3
De 15 a menos que 30 anos	250	17,3
De 30 a menos que 45 anos	280	19,4
De 45 a menos que 60 anos	312	21,6
De 60 a menos que 75 anos	270	18,7
Mais que 75 anos	100	6,9
Total	1.289	89,3

A idade média dos pacientes que realizaram os mielogramas foi de 46,12 anos com Desvio Padrão (DP) de $\pm 20,32$. Os registros de indicações clínicas para o exame de aspirado de medula óssea no Hospital Universitário (HU-UFSC) de Florianópolis entre agosto de 1995 e julho de 2008 totalizaram 116 tipos de pedidos. Dos 2.332 mielogramas realizados, as citopenias foram as indicações mais frequentes (20,07%) para a realização do exame, seguido das neoplasias linfoproliferativas crônicas (14,15%) e das leucemias mieloide agudas (12,05%). A Tabela 3 contém as 11 indicações clínicas mais frequentes para a realização do mielograma. Muitos pedidos não continham a indicação clínica, totalizando 155 pedidos (6,64%).

Tabela 3 - Frequência das indicações clínicas para o AMO no HU-UFSC

Indicações clínicas	Frequência	%
Citopenias	468	20,07
Neoplasia linfoproliferativa crônica	330	14,15
Leucemia mieloide aguda	281	12,05
Mieloma múltiplo	201	8,62
Anemias	199	8,53
Leucemia linfoide aguda	177	7,59
Síndrome mielodisplásica	137	5,87
Neoplasia mieloproliferativa crônica	82	3,52
Púrpura trombocitopênica imunológica	80	3,43
Leucemias agudas	61	2,62
Citoses	54	2,32
Total	2.332	100,00

A neoplasia linfoproliferativa crônica inclui linfoma de Hodgkin, linfoma não Hodgkin, leucemia linfocítica crônica e linfomas em geral. A neoplasia mieloproliferativa crônica inclui policitemia vera, trombocitemia essencial, leucemia

mieloide crônica e mielofibrose. As citopenias consideram algum tipo de citopenia isolada (excluindo a anemia) ou associada. As citoses consideram algum aumento do número de células (leucócitos, plaquetas e/ou eritremia).

Fazendo-se uma correlação entre a indicação clínica para a realização do exame e a conclusão do mesmo verificou-se que, dentre as 468 indicações de pacientes com algum tipo de citopenia, 25 (5,34%) apresentaram anemia megaloblástica, 18 (3,84%) casos foram de síndrome mielodisplásica, 13 (2,77%) casos de púrpura trombocitopênica imunológica, 12 (2,56%) apresentaram leucemia mieloide aguda, seis (1,28%) anemia aplástica, três (0,64%) leucemia linfoblástica aguda, dois (0,42%) casos foram diagnosticados com anemia ferropênica, um (0,21%) com linfoma não Hodgkin, um (0,21%) caso de mieloma múltiplo e um (0,21%) de leucemia mielomonocítica crônica. Das 330 indicações de pacientes com neoplasia linfoproliferativa crônica, 41 (12,42%) apresentaram infiltração da medula óssea por linfoma não Hodgkin, 35 (10,60%) confirmaram diagnóstico de leucemia linfocítica crônica, quatro (1,21%) foram diagnosticadas com linfoma de Hodgkin, três (0,91%) com linfoma não Hodgkin associado a leucemia linfocítica crônica e um (0,30%) com leucemia linfocítica crônica em remissão completa. Das 281 indicações com suspeita de leucemia mieloide aguda, 73 (25,97%) foram confirmadas com o AMO, 94 (33,45%) encontravam-se em remissão completa e dez (3,55%) em remissão parcial. Analisando-se os pedidos de pacientes com mieloma múltiplo, dos 201 pedidos, 106 (52,73%) foram confirmados no aspirado de medula óssea, 29 (14,42%) mielogramas demonstraram remissão completa e nove (4,47%) remissão parcial do mieloma. Das 199 indicações clínicas de anemia, 14 (7,03%) mielogramas demonstraram casos de anemia megaloblástica, três (1,50%) casos de anemia aplástica e dois (1,00%) casos de anemia ferropênica. Dos pacientes com indicação clínica de leucemia linfoide aguda, 45 (25,42%) obtiveram correlação diagnóstica com a conclusão, 96 (54,23%) dos mielogramas apresentaram uma medula óssea em remissão completa e quatro (2,25%) em remissão parcial. As indicações clínicas de síndrome mielodisplásica obtiveram quarenta (29,19%) pedidos confirmados com o mielograma e três (2,18%) mielogramas com diagnóstico de leucemia mielomonocítica crônica. As indicações de neoplasia mieloproliferativa crônica resultaram em 16 (19,51%) diagnósticos de leucemia mieloide crônica, cinco (6,09%) de trombocitemia essencial, três (3,65%) casos de mielofibrose e um (1,21%) de policitemia vera. Dos oitenta pedidos com indicação clínica de púrpura trombocitopênica imunológica, 39 (48,75%) foram confirmados com o mielograma. Os pedidos de pacientes com indicação clínica de leucemia aguda tiveram 25 (40,98%) casos diagnosticados de leucemia mieloide aguda, 16 (26,22%) de leucemia linfoide aguda, três (4,91%) de síndrome mielodisplásica e um (1,63%) de

leucemia mielomonocítica crônica. Analisando-se os pedidos para realização do mielograma com indicação clínica de citoses, nove (16,66%) foram diagnosticados com trombocitemia essencial, cinco (9,25%) com neoplasia mieloproliferativa crônica, três (5,55%) casos com leucemia mieloide crônica, dois (3,84%) com policitemia vera, um (1,85%) diagnóstico de leucemia linfóide aguda, um (1,85%) de leucemia mielomonocítica crônica e um (1,85%) de leucemia linfocítica crônica associada a linfoma não Hodgkin.

A Tabela 4 contém as conclusões de mielograma mais frequentes no HU-UFSC nesse período. Dos 2.332 mielogramas realizados entre agosto de 1995 e julho de 2008, 21,7% estavam sem laudo.

Tabela 4 - Registros mais frequentes de conclusão dos AMOs realizados no HU-UFSC

Conclusão	Frequência	%
Medula óssea normocelular	301	12,9
Medula óssea hipocelular	174	7,5
Medula óssea hiperclular	152	6,5
Leucemia mieloide aguda	145	6,2
Mieloma múltiplo	120	5,1
Leucemia linfóide aguda em remissão completa	97	4,2
Leucemia mieloide aguda em remissão completa	95	4,1
Leucemia linfóide aguda	79	3,4
Síndrome mielodisplásica	73	3,1
Outros	1096	47,0
Total	2.332	100,0

Quando se lê 'em remissão', refere-se àqueles pacientes que já têm um diagnóstico definido e que fazem o aspirado de medula para controle e monitoramento do tratamento e também avaliação de possível existência de doença residual mínima.

Das neoplasias hematológicas existentes, a leucemia mieloide aguda foi a mais frequente nos laudos conclusivos e as citopenias predominaram nas indicações clínicas dos pedidos de mielograma.

Todos os mielogramas tiveram um achado, nem sempre compatível com a indicação clínica, mas continham uma informação, com ou sem infiltração na medula óssea.

A celularidade alterada, como foi visto na maioria dos laudos, medula óssea hipocelular (7,5%) e medula óssea hiperclular (6,5%), pode demonstrar a existência de uma reatividade do organismo frente a um problema.

O mielograma é uma ferramenta essencial para se iniciar uma investigação diagnóstica, pois possibilita avaliar infiltração, aplasia, displasia, informações que somadas a outros testes suplementares auxiliam na conclusão de um diagnóstico preciso e definitivo.

Abstract

The examination of bone marrow applied to research, diagnosis and therapeutic approach of several diseases and hematologic malignancies. It is also important for evaluation and monitoration of patients undergoing chemotherapy, immunosuppressive therapies, bone marrow transplantation and with bone marrow aplasia. In University Hospital of Florianópolis (HU-UFSC) the bone marrow aspirate is a procedure performed by medical hematologists and their cytomorphological analysis is made in the Hematology Division of Clinical Laboratory. Since 1995, it has written record of all such procedures performed. The predominant hematologic neoplasia in reports conclusive was Acute Myeloid Leukemia. The myelogram is an essential tool to initiate a diagnostic investigation, as it allows one to evaluate infiltration, aplasia, dysplasia, information that coupled with other additional tests help in the final of an accurate and specific diagnosis..

Keywords

Bone marrow aspirate; Hematologic malignancies; Myelogram.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.hu.ufsc.br>.
2. Travlos GS. Normal structure, function, and histology of the bone marrow. *Toxicol Pathol.* 2006;34(5):548-65.
3. G. Richard Lee. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th edition. Williams and Wilkins; 1998; 1497-1517.
4. Bain BJ. Bone Marrow Aspiration. *J Clin Pathol* 2001;54:657-63.
5. Lorenzi TF. *Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica*. 4a ed: Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006.
6. Riley RS, Hogan TF, Pavot DR, Forysthe R, Massey D, Smith E, et al. A pathologist's perspective on bone marrow aspiration and biopsy: I. Performing a bone marrow examination. *J Clin Lab Anal.* 2004;18(2):70-90.
7. Islam A. Bone marrow aspiration before bone marrow core biopsy using the same bone marrow biopsy needle: a good or bad practice? *J Clin Pathol.* 2007 Feb; 60(2): 212-5.
8. Trewhitt KG. Bone marrow aspiration and biopsy: collection and interpretation. *Oncol Nurs Forum.* 2001 Oct;28(9):1409-15.
9. Williams WJ, et al. *Manual de Hematologia de Williams* 6ed: Porto Alegre, Artmed, 2005.
10. Lee SH, Erber WN, PorwitA, Tomonaga M, Peterson LC; International Council for Standardization In Hematology. ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol.* 2008 Oct;30(5):349-64.
11. www.chsp.org.br/arquivos/trabalhos_cientificos/2004/27%20Congresso%20da%20SBHHComparar%20349%20Aspirados%20de%20BMO%20em%20Pacientes%20com%20Suspeita%20de%20Doencas%20Hematologicas.pdf. Acesso em 8/11/2009.

Correspondência

Simone Ferreira Campos

Rua Galvão, 436 - apto 103 - Bairro Carianos

88047-615 - Florianópolis, SC

E-mail: sifcampos@hotmail.com

Prevalência de hemoglobinopatias nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia – UFOP

Prevalence of hemoglobinopathies in patients attending by the Clinical Analysis Pilot Laboratory of the Pharmacy School – UFOP

Roney Luiz de Carvalho Nicolato¹

Carmen Aparecida de Paula¹

Cláudia Martins Carneiro¹

Adriano de Paula Sabino²

Paula Cynara Soares Santos³

Tamara Rodrigues da Costa³

Flávia de Souza Granato³

Resumo

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças de caráter genético caracterizadas pela síntese de cadeias polipeptídicas estruturalmente anormais ou diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina. Dentre as variantes estruturais da hemoglobina, as mais comuns são as hemoglobinas S (HbS) e C (HbC). Estudos realizados no Brasil mostram uma alta prevalência de heterozigotos para HbS e HbC. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência destas variantes nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto. Foram triados 943 pacientes de ambos os sexos e diferentes faixas etárias. O diagnóstico foi realizado por eletroforese de hemoglobina em pH alcalino. As amostras que apresentaram hemoglobinas anormais foram submetidas à cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC) e ao teste de solubilidade. Foram identificadas 62 amostras com hemoglobinas anormais (6,6%), das quais 46 (4,88%) com traço falciforme (HbAS), 15 (1,59%) com HbAC e uma (0,11%) com HbSC. Não foram detectados indivíduos homozigotos para a HbS e HbC. Os resultados encontrados mostram a importância da implantação de programas com maior abrangência para o estudo da epidemiologia das hemoglobinopatias no município de Ouro Preto.

Palavras-chave

Hemoglobinopatias; Hemoglobina S; Hemoglobina C.

INTRODUÇÃO

As hemoglobinas anormais, ou variantes estruturais da hemoglobina, em sua maioria, resultam da substituição de um único aminoácido nas cadeias alfa ou beta. Geralmente não causam alterações perceptíveis, mas podem modificar a estabilidade ou a funcionalidade da hemoglobina, levando a condições clínicas importantes.⁽¹⁾ Cerca de 750 variantes estruturais da hemoglobina já foram descritas, e mais de 75% dessas variantes resultam da substituição de um único aminoácido por outro nas cadeias alfa ou beta da hemoglobina. As hemoglobinas variantes mais frequentes na população brasileira são as hemoglobinas S e C, ambas de origem africana, o que evidencia a intensa participação do negro africano na composição populacional brasileira.^(2,3) Esse fato é bem caracteri-

zado nos estudos de prevalência de hemoglobinopatias realizados em diferentes regiões do Brasil.⁽⁴⁻⁶⁾

A HbS é o resultado de uma mutação no gene da globina beta, que ocasiona a troca de uma base nitrogenada no sexto códon, levando à substituição do ácido glutâmico (GAG) por outro aminoácido, a valina (GTG), e a HbC é decorrente de uma mutação no gene da cadeia beta, que tem como consequência a substituição do ácido glutâmico por lisina. Quando desoxigenada, a HbS apresenta acentuada diminuição na solubilidade e agrega-se formando polímeros, ocasionando alteração da morfologia (falcização) e diminuição da deformabilidade do eritrócito, levando a hemólise e fenômenos vasoclusivos característicos da anemia falciforme (indivíduos homozigóticos).⁽⁷⁾ Nos indivíduos heterozigotos para o gene β^S , portadores do traço falciforme, a HbS representa cerca de 25% a 45%

¹Departamento de Análises Clínicas - Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) – Ouro Preto - MG, Brasil.

²Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal de São João Del Rei – São João Del Rei - MG, Brasil.

³Graduanda em Farmácia - Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) – Ouro Preto - MG, Brasil.

Trabalho Desenvolvido no Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP) – Ouro Preto - MG, Brasil.

Artigo recebido em 16/02/2011

Artigo aprovado em 28/09/2016

da hemoglobina total. Estes indivíduos são considerados portadores sadios e geralmente não apresentam anemia, mas podem, em circunstâncias como hipóxia, acidose, desidratação e vasoconstrição, apresentar complicações graves, até mesmo fatais.^(8,9) A real morbidade neste caso é bastante controversa e a opinião mais comum é de que essas complicações ocorram muito raramente já que o baixo potencial de falcização nos heterozigotos exige que os fatores desencadeantes (hipóxia, acidose e desidratação) sejam muito intensos.⁽⁶⁾ Os heterozigotos para hemoglobina C (HbAC) são assintomáticos e, por isso, a sua detecção torna-se importante apenas para fins de aconselhamento genético, uma vez que os indivíduos homozigotos para a HbC (HbCC) e os com dupla heterozigose para a HbS e HbC (HbSC) manifestam anemia hemolítica de intensidade variável.⁽¹⁰⁾

A dispersão dos genes para as hemoglobinas variantes no Brasil está intimamente relacionada com a composição étnica populacional brasileira, resultante do processo de colonização.⁽⁷⁾ A formação da população de Ouro Preto teve uma forte contribuição dos povos de origem africana, principalmente após a descoberta de ouro na região. Durante o ciclo do ouro houve um intenso fluxo migratório para as regiões de mineração, de tal maneira que o escravo africano passou a ser largamente trazido, principalmente do estado da Bahia ou diretamente da Angola, para o município de Ouro Preto.^(11,12) Desta forma, essa população, traz em seu patrimônio genético as mais variadas combinações, favorecendo a dispersão gênica das alterações estruturais das hemoglobinas. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar a frequência de hemoglobinas variantes nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sangue utilizadas para a realização deste trabalho estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e tiveram o consentimento livre e esclarecido dos participantes e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFOP, sob o no de registro CEP 2007/92, CAAE 0008.0.238.000-07. Foram coletadas 943 amostras de sangue periférico de pacientes de ambos os sexos, com idades variáveis entre 0 e 90 anos e sem distinção de cor da pele. As amostras de sangue venoso (4,5 mL) foram colhidas em Vacutainers® com EDTA (sal disódico do ácido etilenodiaminotetracético) como anticoagulante, na concentração de 1,5 mg/mL.⁽¹³⁾

Os dados hematológicos foram determinados com a utilização do contador hematológico "18 Parâmetros" ABX/Micros 60. A análise qualitativa das frações hemoglobínicas

foi realizada por eletroforese em fita de acetato de celulose, tampão Tris-Glicina pH 8,6, de hemolisado preparado a partir da mistura de 20 µL de hemácias, lavadas com solução fisiológica, com 100 µL de saponina a 1,0%. O reconhecimento das hemoglobinas foi feito mediante o emprego de padrões eletroforéticos.⁽²⁾ Para confirmar os resultados positivos para HbS e para HbC, foram realizados o teste de solubilidade em solução de ditionito de sódio a 1% e cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC). O teste de solubilidade foi realizado conforme metodologia descrita por Naoum em 1997,⁽²⁾ modificada. Resumidamente, 10 µL de sangue foram adicionados em 100 µL de solução de ditionito de sódio a 1% em tampão fosfato, pH 7,0. Para a visualização do resultado, os 10 µL da suspensão acima foram colocados em papel de filtro grau quantitativo 50. A hemoglobina S precipitada não se difunde no papel de filtro, formando um botão central e os testes negativos apresentam uma mancha homogênea. Controles positivos e negativos foram realizados. A cromatografia líquida de baixa pressão foi realizada no analisador DiaFast da Prime-Diagnostics. Nesse equipamento, o programa Dia Fast Hemoglobina A1C usa o princípio da LPLC associada à cromatografia de troca catiônica, conjugada com eluição graduada, para separar os subtipos da hemoglobina humana e das variantes presentes no hemolisado de sangue total. As amostras são diluídas no Diafast diluidor e mantidas na câmara de injeção automática de amostra. Cada amostra é automaticamente injetada no sistema de fluxo do tampão e aplicada na coluna de troca catiônica, onde as hemoglobinas são separadas. As hemoglobinas separadas passam por uma célula de fluxo do fotômetro, onde as mudanças na absorbância em 415 nm são medidas. As mudanças das absorbâncias são monitoradas e exibidas na forma de um cromatograma da absorbância versus tempo de retenção. Cada cromatograma impresso é acompanhado por um relatório de identificação de cada pico detectado, mais o percentual relativo e os tempos de retenção dos picos isolados.

A análise estatística dos dados foi realizada mediante cálculo do percentual das variáveis analisadas.

RESULTADOS

Foram atendidos 943 pacientes, sendo 309 do sexo masculino e 634 do sexo feminino, com faixa etária bastante heterogênea. O perfil hemoglobínico de cada um dos 943 pacientes foi qualitativamente avaliado por eletroforese em fita de acetato de celulose pH 8,6. As amostras de sangue que foram positivas para alguma variante de hemoglobina também foram analisadas por cromatografia de troca catiônica. Além disto, as amostras positivas para a hemoglobina S, tanto pela eletroforese em acetato celulose, pH alcalino, quanto pela cromatografia de troca catiô-

nica, foram avaliadas pelo teste de solubilidade em ditionito de sódio a 1%.

A Tabela 1 mostra que, dos 943 pacientes analisados, 62 (6,6%) apresentaram hemoglobina anormal. A HbAS, diagnosticada por eletroforese em pH alcalino e confirmada por cromatografia de troca catiônica e pelo teste de solubilidade, foi identificada em 46 pacientes (4,88%), a HbC (HbAC) em 15 (1,59%) e a dupla heterozigose para a hemoglobina S e C (HbSC), conhecida como doença falciforme, foi identificada em um (0,11%) paciente.

Tabela 1 - Perfil hemoglobínico identificado nas amostras analisadas

Características das hemoglobinas	Casos (n)	%
Hemoglobina AA	881	93,4
Hemoglobinas AS	46	4,88
Hemoglobina AC	15	1,59
Hemoglobina SC	1	0,11
Total	943	100

HbAA: homozigose para hemoglobina A; HbAS: traço falciforme; HbAC: heterozigose para Hemoglobina C; HbSC: dupla heterozigose para hemoglobina S e C.

A Tabela 2 mostra os resultados obtidos do perfil hemoglobínico dos 634 pacientes do sexo feminino, conforme faixa etária. Nesta avaliação, a presença de hemoglobinas anormais foi prevalente nas pacientes com faixa etária entre 21 e 40 anos, uma vez que 11 pacientes apresentaram HbAS e seis apresentaram HbAC.

Tabela 2 - Distribuição das hemoglobinas normais, variantes em relação à idade nos pacientes do sexo feminino

Faixa Etária	Perfil Hemoglobínico							
	HbAA		HbAS		HbAC		HbSC	
	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%
0 a 10	98	15,45	4	0,63	1	0,16	0	0
11 a 20	74	11,67	1	0,16	1	0,16	0	0
21 a 40	180	28,39	11	1,74	6	0,95	0	0
41 a 60	200	31,55	9	1,42	0	0	0	0
61-80	43	6,78	2	0,32	0	0	0	0
>80	4	0,63	0	0	0	0	0	0
Total	599	94,48	27	4,26	8	1,26	0	0

HbAA: homozigose para hemoglobina A; HbAS: traço falciforme; HbAC: heterozigose para hemoglobina C; HbSC: dupla heterozigose para hemoglobina S e C.

Em relação aos 309 pacientes do sexo masculino (Tabela 3), sete pacientes com faixa etária entre 41 e 60 anos apresentaram HbAS. Por outro lado, a HbAC foi mais incidente nos pacientes com idade inferior a 10 anos. A dupla heterozigose para a hemoglobina S e C, também chamada de doença falciforme, foi observada em apenas um paciente com faixa etária entre 41 e 60 anos.

Tabela 3 - Distribuição das hemoglobinas normais, variantes em relação à idade nos pacientes do sexo masculino

Faixa Etária	Perfil Hemoglobínico							
	HbAA		HbAS		HbAC		HbSC	
	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%
0 a 10	70	22,65	4	1,29	4	1,29	0	0
11 a 20	34	11,00	3	0,97	1	0,32	0	0
21 a 40	43	13,91	4	1,29	0	0	0	0
41 a 60	106	34,30	7	2,27	1	0,32	1	0,32
61 a 80	27	8,74	1	0,32	1	0,32	0	0
>80	2	0,64	0	0	0	0	0	0
Total	282	91,26	19	6,15	7	2,27	1	0,32

HbAA: homozigose para hemoglobina A; HbAS: traço falciforme; HbAC: heterozigose para hemoglobina C; HbSC: dupla heterozigose para hemoglobina S e C.

DISCUSSÃO

A cidade de Ouro Preto, tombada pela Unesco como Patrimônio Histórico e Cultural da Humanidade, localizada no estado de Minas Gerais, em uma região conhecida como quadrilátero ferrífero, foi desenvolvida a partir da descoberta de abundantes depósitos de ouro aluvionar no final do século XVII e rapidamente se tornou o segundo maior centro populacional da América Latina. As notícias das descobertas de ouro geraram um grande fluxo migratório para as regiões mineradoras e forçou a vinda de escravos africanos para trabalhar nas minas de ouro do município.⁽¹¹⁾ Como a HbS é proveniente dos povos de origem africana, os quais, em grande parte, foram os responsáveis pela formação da população em estudo, pode-se considerar a influência dos aspectos abordados sobre a incidência do gene S na região.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram uma frequência de 4,88% para o traço falciforme, resultado superior ao encontrado por Silva Filho et al.,⁽¹⁴⁾ que mostrou uma prevalência de 3,2% do traço falciforme em trabalhadores do estado do Rio de Janeiro, porém abaixo do encontrado em estudo realizado na Bahia, cuja frequência do traço falciforme foi de 6,9 a 15,4% em indivíduos afrodescendentes, caracterizando a herança genética advinda de várias regiões da África quando do advento da escravidão.⁽¹⁵⁾

Em nosso estudo, dos 62 pacientes que apresentaram hemoglobina anormal, 46 apresentaram HbAS, representando 74,2% dos pacientes portadores de hemoglobinopatia. Esta frequência foi superior à encontrada em um estudo sobre prevalência e distribuição de hemoglobinopatias no Brasil, o qual mostrou uma frequência de 2,49% de variantes estruturais, sendo a condição HbAS a mais prevalente, representando 60,95% do total dos portadores.⁽⁶⁾

Nos indivíduos portadores do traço falciforme (HbAS), existe produção tanto de HbA quanto de HbS, o que resulta em um fenótipo normal.⁽¹⁶⁾ No entanto, situações em que os pais são portadores assintomáticos de um único gene mutado (HbAS) pode ao transmitir geneticamente, cada um deles, o gene falciforme, gerar uma criança com dois genes anormais (HbSS), ou seja, com doença falciforme ativa.⁽¹⁷⁾ As manifestações clínicas da doença falciforme são resultantes de dois processos característicos, anemia severa e vasocclusão. A anemia resulta da meia-vida mais curta das células eritroides contendo primariamente HbS. O segundo, fisiopatologicamente mais complexo, é a vasocclusão, resultante do efeito intravascular causado pela presença de hemácias que se tornaram falciformes em função da presença da HbS, que, quando desoxigenada, leva à formação de feixes helicoidais que alteram a permeabilidade da membrana a íons, à reologia das hemácias, à relação hemácia/vaso, proporcionando uma agregação hemácia/hemácia e adesão hemácia/membrana vascular.⁽¹⁸⁾

A anemia falciforme se caracteriza por anemia crônica e fenômenos vasocclusivos de intensidade variável que levam episódios de dores osteoarticulares, podendo ser incapacitantes e exigir frequentes internações hospitalares.⁽¹⁹⁾ Na infância, as infecções e as crises vasocclusivas intraesplênicas (sequestro esplênico) são as principais causas de mortalidade, podendo atingir 20% das crianças com idade inferior a 5 anos.⁽¹⁶⁾ As crianças que ultrapassam essa barreira inicial enfrentam os efeitos da vasocclusão crônica e, ao longo dos anos, essas pequenas trombozes passam a ser o fator determinante para o desgaste dos órgãos, que leva aos infartos pulmonares, hepáticos e cerebrais, insuficiência renal e retardo do crescimento e da maturação sexual, com comprometimento progressivo de múltiplos órgãos. Tais fenômenos alteram expressivamente a qualidade de vida do indivíduo com redução da capacidade de trabalho e da expectativa de vida.^(16,20-22)

No Brasil, o gene falciforme distribui-se heterogeneamente, sendo mais frequente nas regiões onde a proporção de antepassados negros da população é maior (Região nordeste e os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais).⁽²³⁾ Os resultados do nosso estudo mostram que a população de Ouro Preto apresenta uma frequência de 4,88% para a HbAS, percentagem superior à encontrada nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Goiás e Minas Gerais, mas inferior à observada no estado da Bahia. A frequência superior à encontrada no estado de Minas Gerais pode ser explicada pela alta percentagem (60,18%) de afrobrasileiros residentes no município de Ouro Preto.⁽²⁴⁾

Além da avaliação da frequência de variantes de hemoglobina, fez-se também uma avaliação da frequência de pacientes com variantes de hemoglobina, conforme idade e sexo (Tabelas 2 e 3). Nesta avaliação foi possível ob-

servar uma maior frequência de HbAS (1,74%) nos pacientes do sexo feminino (Tabela 2) com idade entre 21 e 40 anos. Em relação aos pacientes do sexo masculino, os achados para a frequência de HbAS foram, respectivamente, 1,29% e 2,27% para as faixas etárias entre 21 e 40 anos e acima de 41 (Tabela 3). Estes achados são de grande relevância, principalmente por estes pacientes, heterozigotos para o gene falciforme, estarem em idade fértil e também em termos de um posterior trabalho abordando estudos de aconselhamento genético no sentido de alertá-los para a importância do diagnóstico neonatal dos filhos que porventura venham ter e não no sentido de alterar a decisão de ter filhos.

Em relação aos pacientes, independente do sexo, com faixa etária inferior a 20 anos, a frequência de HbAS e HbAC foi baixa quando comparada à observada entre os pacientes com idade acima de 20 anos. Este resultado pode ser consequência do número de pacientes com faixa etária inferior a 20 anos ter sido menor do que o número de pacientes com idade superior a 21 ou em decorrência da inclusão da pesquisa de hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) implantado em 2001 pelo Ministério da Saúde por meio da Portaria GM/MS n.º 822, de 06 de junho de 2001.⁽²⁵⁾

Este estudo foi o primeiro trabalho de avaliação de frequência de variantes de hemoglobina realizado na cidade de Ouro Preto, mostrando a sua grande importância em termos de saúde pública, principalmente no sentido de promover programas educacionais voltados para a população desta cidade, em especial para os pacientes portadores de hemoglobinopatias, para que, no futuro, os filhos, diagnosticados com doença falciforme possam receber de forma precoce tratamento e acompanhamento clínico, laboratorial e farmacêutico no sentido de aumentar a sobrevivência e ter uma melhor qualidade de vida.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo mostram uma prevalência de variantes estruturais de hemoglobina de 6,6%, sendo 4,88% para o traço falciforme (Hb AS), 1,59% para o genótipo AC e 0,11% para o genótipo SC. Não foram detectados indivíduos homozigotos para nenhum dos tipos de hemoglobinas variantes. Os resultados encontrados foram superiores aos encontrados nos estados de Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Goiás, mostrando a dispersão dos genes para a HbS e HbC na população de Ouro Preto. Apesar de ter avaliado apenas 943 pacientes, cifra muito pequena quando comparada aos 67.048 habitantes do município de Ouro Preto, os resultados ressaltam a necessidade e a importância de se realizarem programas com maior abrangência na população para estudar a epidemiologia das hemoglobinas vari-

antes e de outras hemoglobinopatias, no município de Ouro Preto, pois, nos casos dos indivíduos diagnosticados com anemia falciforme, deve ser realizado um trabalho adequado de orientação não só em relação aos cuidados individuais, mas em termos de aconselhamento genético, uma vez que a detecção de portadores destas alterações genéticas é de extrema importância para a saúde pública por representar uma fonte de novos heterozigotos e de possíveis homozigotos.

Agradecimento

À Pró-Reitoria de Extensão da Universidade Federal de Ouro Preto e ao Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Universidade Federal de Ouro Preto.

Abstract

Hemoglobinopathies are a group of genetic diseases, characterized by decreased synthesis of one or more normal globin chains or by the synthesis of a structurally abnormal globin chain. Among the structural variants of hemoglobin, the most common are the hemoglobin S (HbS) and C (HbC). Studies in Brazil show the high prevalence of HbS and HbC heterozygotes. The main objective of this study was to evaluate the prevalence of these variants in patients attending the Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro. 943 patients of both sexes and different ages were screened. The diagnosis was made by hemoglobin electrophoresis at alkaline pH. Samples with abnormal hemoglobin underwent Low Pressure Liquid Chromatography (LPLC) and solubility test. 62 samples were identified with abnormal hemoglobin (6.6%), of which 46 (4.88%) with sickle cell trait (HbAS), 15 (1.59%) with HbAC and one (0.11%) with HbSC. Homozygous for HbS and HbC were not detected. The results demonstrate the importance of implementing programs with a greater scope for studying the epidemiology in Ouro Preto.

Keywords

Hemoglobinopathy; Hemoglobin S; Hemoglobin C

REFERÊNCIAS

- Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ.* 2001;79(8):704-12.
- Naoum PC, Domingos CRB. Técnicas laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais. In: *Hemoglobinopatias e Talassemias*. São Paulo, Ed. Sarvier, 1997, p.144-170.
- Salzano FM, Tondo CV. Hemoglobin types in Brazilian populations. *Hemoglobin.* 1982;6(1):85-97
- Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29(3):204-6.
- Brandelise S, Pinheiro V, Gabetta CS, Hambleton I, Serjeant B, Serjeant G. Newborn screening for sickle cell disease in Brazil: the Campinas experience. *Clin Lab Haematol.* 2004 Feb;26(1):15-9.
- Naoum PC, Alvares Filho F, Domingos CRB, Ferrari F, Moreira HW, Sampaio ZA, et al. Hemoglobinas anormais no Brasil. Prevalência e distribuição geográfica. *Rev. Bras Patol Clin.* 1987;23(3):68-79.
- Naoum PC, Domingos CRB. Doença falciforme no Brasil. Origem, genótipos, haplótipos e distribuição geográfica. *J Bras Patol.* 1997;33(3):145-53.
- Charache S. Sudden death in sickle trait. *Am J Med.* 1988 Mar;84(3 Pt 1):459-61.
- Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, Klug PP. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med.* 1994 Jun 9;330(23):1639-44.
- Beutler E. The sickle diseases and related disorders. In: *Williams Hematology*. 5a Ed. New York, Ed. McGraw-Hill, 1995, p. 616-650.
- Leite IB. Antropologia da viagem. Escravos e libertos em Minas Gerais no século XIX. Belo Horizonte: Ed. UFMG, 1996.
- Ruas E. Ouro Preto: sua história, seus templos e monumentos. Belo Horizonte: Estabelecimentos Gráficos Santa Maria, 1964.
- Dacie JV, Lewis SM. *Practical Haematology*. 8ª ed. Edinburgh, Ed. Churchill Livingstone, 1995.
- Silva Filho IL, Gonçalves M, Adorno E, Campos D, Fleury MK. Triagem de hemoglobinopatias e avaliação da degeneração oxidativa da hemoglobina em trabalhadores portadores do traço falciforme (HbAS), expostos a riscos ocupacionais. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2005;27(3):183-7.
- Gonçalves MS, Bomfim GC, Maciel E, Cerqueira I, Lyra I, Zanette A, et al. Beta S-haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil. *Braz J Med Biol Res.* 2003 Oct;36(10):1283-8.
- Ballas SK. Sickle cell disease current clinical management. *Semin Hematol.* 2001 Oct;38(4):307-14.
- Bookchin RM, Lew VL. Pathophysiology of sickle cell anemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996 Dec;10(6):1241-53.
- Ballas SK, Mohandas N. Pathophysiology of vaso-occlusion. *Hematol Oncol Clin North Am.* 1996 Dec;10(6):1221-39.
- Adam S, Jonassaint J, Kruger H, Kail M, Orringer EP, Eckman JR, et al. Surgical and obstetric outcomes in adults with sickle cell disease. *Am J Med.* 2008 Oct;121(10):916-21
- Barfield WD1, Barradas DT, Manning SE, Kotelchuck M, Shapiro-Mendoza CK. Sickle cell disease and pregnancy outcomes: women of African descent. *Am J Prev Med.* 2010 Apr;38(4 Suppl):S542-9
- Tripette J, Alexy T, Hardy-Dessources MD, Mouguel D, Beltan E, Chalabi T, et al. Red blood cell aggregation, aggregate strength and oxygen transport potential of blood are abnormal in both homozygous sickle cell anemia and sickle-hemoglobin C disease. *Haematologica.* 2009 Aug;94(8):1060-5.
- Okoli K, Irani F, Horvath W. Pathophysiologic considerations for the interactions between obstructive sleep apnea and sickle hemoglobinopathies. *Med Hypotheses.* 2009 May;72(5):578-8
- Zago MA, Costa FF, Tone LG, Bottura C. Hereditary hemoglobin disorders in a Brazilian population. *Hum Hered.* 1983;33(2):125-9.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Demográfico 2000, Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA), 2000. Site: http://www.ibge.gov.br/censo/plano_divulg.php.
- MS (Ministério da Saúde), 2001. Portaria GM/MS n.º 822 de 06 de junho de 2001. site: <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2001/GM/GM-822.htm>.

Correspondência

Carmen Aparecida de Paula

Departamento de Análises Clínicas-Escola de Farmácia - UFOP
Rua Costa Sena, 171 - Centro
35400-000 - Ouro Preto, MG

Triagem neonatal: aspectos clínicos e laboratoriais

Neonatal screening: clinical and laboratory aspects

Bruna C. Pilar¹

Vanusa Manfredini²

Resumo

A triagem neonatal se baseia na realização de testes laboratoriais nos primeiros dias de vida do recém-nascido, com o objetivo de detectar e tratar precocemente doenças que, se prevenidas, evitam severas manifestações clínicas, além de sequelas como a deficiência mental. O objetivo dessa revisão bibliográfica foi abordar os aspectos clínicos e laboratoriais das doenças que fazem parte do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN). O PNTN foi implementado em 2001 incluindo a pesquisa da fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, fibrose cística, anemia falciforme e outras hemoglobinopatias, ampliando a abordagem da questão. Atualmente, novas técnicas de triagem neonatal têm se proliferado com o objetivo de se obterem resultados com maior sensibilidade e especificidade, diminuindo os resultados falso-positivos e falso-negativos. Pretende-se, portanto, através deste artigo, despertar a atenção dos profissionais farmacêuticos para a importância do conhecimento acerca das características clínicas de cada uma dessas doenças e das técnicas mais modernas utilizadas para a triagem.

Palavras-chave

Triagem neonatal; Fenilcetonúria; Hipotireoidismo congênito; Hemoglobinopatias; Fibrose cística

INTRODUÇÃO

A Triagem Neonatal (TN), realizada por meio do Teste do Pezinho, tem o objetivo de rastrear e detectar patologias na população com idade de 0 a 30 dias. Sua origem remonta ao final da década de 50, nos Estados Unidos, em pesquisas visando à prevenção de doença mental em recém-nascidos. A doença que historicamente motivou o desenvolvimento desta área de prevenção foi a fenilcetonúria, introduzida por Guthrie em 1963.

Desde então, a TN vem se desenvolvendo, incluindo novas patologias e métodos mais eficazes e capazes de identificar, além de doenças metabólicas como a fenilcetonúria, outros tipos de patologias como as hematológicas, infecciosas e genéticas.

Vários fatores têm contribuído para a necessidade de uma revisão bibliográfica sobre esse assunto, incluindo o interesse público maior na triagem neonatal como um programa de triagem genético universal, a introdução de novas tecnologias, e as mudanças demográficas, que enfatizam a importância da variação humana e cultural.

Dessa forma, o conhecimento sobre as características clínicas e o diagnóstico laboratorial das doenças que

fazem parte do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) é fundamental, uma vez que essas doenças apresentam uma alta frequência na população brasileira, constituindo um problema de saúde pública no nosso país, e o farmacêutico tem importante papel no diagnóstico das mesmas. Além disso, o diagnóstico precoce dessas doenças com técnicas modernas traz benefícios pela possibilidade de tratamento precoce, produzindo uma substancial racionalização dos gastos públicos com a assistência médico-hospitalar.

Assim, o objetivo desse artigo foi relatar, através de uma revisão bibliográfica, os aspectos clínicos e laboratoriais das doenças que fazem parte do Programa Nacional de Triagem Neonatal.

TRIAGEM NEONATAL

O termo triagem, que se origina do vocábulo francês *triage*, significa seleção, separação de um grupo, ou, mesmo, escolha entre inúmeros elementos e define, em Saúde Pública, a ação primária dos programas de triagem, ou seja, a detecção, por meio de testes aplicados numa população, de um grupo de indivíduos com probabilidade elevada de apresentarem determinadas patologias.⁽¹⁾

¹Acadêmica de Farmácia, Universidade Federal do Pampa – Unipampa, Campus Uruguaiana - RS, Brasil.

²Doutora. Professora Adjunta, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Pampa. Coordenadora do Curso de Especialização em Ciências da Saúde – Unipampa, Campus Uruguaiana - RS, Brasil.

Instituição: Laboratório de Hematologia e Citologia Clínica da Universidade Federal do Pampa – Unipampa, Campus Uruguaiana - RS, Brasil.

Artigo recebido em 06/01/2011

Artigo aprovado em 28/09/2016

A triagem neonatal (TN) se baseia na realização de testes laboratoriais nos primeiros dias de vida do recém-nascido (0 a 30 dias de vida). Esses testes, se feitos no momento e de forma adequada, permitem que o início do tratamento ocorra dentro de uma janela de tempo em que é possível evitar sequelas no desenvolvimento da criança.⁽²⁾

HISTÓRICO

A patogênese da fenilcetonúria (FCN) foi estudada a partir de casos clínicos de retardo mental severo em crianças, sendo o primeiro em 1938, na Noruega, e o outro em 1951, na Inglaterra. Por volta do ano de 1963, Robert Guthrie desenvolveu uma metodologia diagnóstica para FCN mais simples e não onerosa, com a utilização de sangue total de pacientes com retardo mental, coletados sob papel filtro. Guthrie ficou convencido, então, ele próprio pai e tio de crianças com deficiência mental causada por FCN, de que todos os bebês deveriam ser rastreados para FCN, e ficaria certo de que quanto antes o diagnóstico fosse feito e o tratamento iniciado, mesmo sem chance de cura, melhor seria o prognóstico dos portadores, evitando o retardo mental. Publicações científicas passaram a acontecer, bem como o incentivo a alguns trabalhos locais de prevenção da FCN, com a simples coleta de sangue de bebês em papel filtro, no período neonatal, antes da saída da maternidade nos Estados Unidos.⁽³⁾

Desde a década de 60, a Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza a importância da realização dos programas populacionais de TN, especialmente nos países em desenvolvimento, além de criar critérios para a realização dos mesmos. O teste do pezinho foi introduzido no Brasil na década de 70 para identificar duas doenças: a FCN e o Hipotireoidismo Congênito (HC), que eram chamadas pelos especialistas de "anomalias congênitas".⁽⁴⁾ A primeira tentativa brasileira foi em 1976 na cidade de São Paulo, pela Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE), sendo considerada uma iniciativa privada e pioneira na América Latina.⁽¹⁾

Já na década de 80 houve amparo legal para implantação dos Programas de Triagem Neonatal em poucos estados brasileiros, como São Paulo e Paraná, porém com a Lei Federal nº 8.069, de 13 de julho de 1990 – Estatuto da Criança e do Adolescente – houve a obrigatoriedade dos testes em todo o território nacional.⁽⁵⁾

Em 1992, a legislação federal foi complementada, definindo FCN e HC como as patologias a serem triadas.⁽⁶⁾

Em 1999 ocorreu a criação da Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal (SBTN), com a finalidade de reunir os profissionais ligados à área e diversos serviços existentes.⁽⁴⁾

Em 6 de junho de 2001, o Ministério da Saúde lançou o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) com o

objetivo de ampliar a triagem neonatal existente, incluindo a detecção precoce de outras doenças congênitas, como a anemia falciforme (AF) e outras hemoglobinopatias, e a fibrose cística (FC), e lançar as bases para uma abordagem mais ampla da questão, envolvendo desde a detecção precoce, a ampliação da cobertura populacional, tendo como meta 100% dos nascidos vivos, a busca ativa de pacientes suspeitos de serem portadores das patologias, a confirmação diagnóstica, o acompanhamento, o adequado tratamento dos pacientes identificados e ainda a criação de um sistema de informações que permitira cadastrar todos os pacientes em um Banco de Dados Nacional.⁽⁷⁾

Para efeito de seleção do painel de doenças, o PNTN foi organizado em três fases de implantação, para as quais cada estado foi credenciado com base na cobertura e infraestrutura pré-existentes:

- fase I – HC e FCN;
- fase II – HC, FCN e hemoglobinopatias;
- fase III – HC, FCN, hemoglobinopatias e FC.⁽²⁾

Assim, toda criança nascida em território nacional tem o direito à triagem neonatal. Todos os estados brasileiros contam com, pelo menos, um serviço de referência em triagem neonatal e diversos postos de coleta para o teste do pezinho espalhados pelos municípios de cada estado.⁽⁴⁾

DOENÇAS TRIADAS

Como mencionado anteriormente, as doenças triadas pelo PNTN são a fenilcetonúria, o hipotireoidismo congênito, as hemoglobinopatias e a fibrose cística. Nesta seção será feita uma análise sobre os principais aspectos de cada uma dessas doenças.

Fenilcetonúria

Fisiopatologia

A FCN é causada por uma mutação hereditária recessiva no gene que codifica a enzima fenilalanina hidroxilase (FAH). Essa enzima é predominantemente expressa no fígado (mas também no rim e pâncreas) e catalisa irreversivelmente a hidroxilação da fenilalanina (FAL), um aminoácido essencial, a tirosina.⁽⁸⁾

Esse defeito metabólico leva ao acúmulo de fenilalanina (FAL) no sangue e aumento da excreção urinária de ácido fenilpirúvico e fenilalanina.⁽⁴⁾

Irmãos com a mesma mutação no locus da FAH podem ter diferentes resultados clínicos, pois é provável que outros fatores genéticos e ambientais influenciem a gravidade da doença. De fato, alguns indivíduos com FCN não têm nenhuma evidência de retardo mental, mesmo sem tratamento dietético. No entanto, há evidências de que determinados genótipos estejam associados com aumento mais elevado na concentração de FAL no soro. Em excesso, a

FAL perturba o transporte de outros aminoácidos através da barreira cérebro-sangue e prejudica a síntese de neurotransmissores.⁽⁹⁾

Para a enzima FAH estar ativa, o cofator tetrahydrobiopterina (BH4) é necessário. A síntese ou reciclagem prejudicada de BH4 resulta no aumento da concentração de FAL e alguns outros aminoácidos. Esta condição não responde ao tratamento dietético rotineiro da FCN e, portanto, os estados criaram programas de rastreamento adicional para identificar crianças com estas doenças raras para que o tratamento apropriado possa ser iniciado.⁽⁹⁾

Epidemiologia

De acordo com a Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal,⁽¹⁰⁾ em 2001 a prevalência da FCN foi de 1: 16.691 e em 2002 de 1:24.310. Porém, há grandes variações na incidência de FCN por grupos étnicos e culturais, com indivíduos de descendência europeia do norte e indivíduos nativos do Alasca tendo uma incidência mais elevada do que os indivíduos negros, hispânicos e asiáticos.⁽⁹⁾

Manifestações clínicas

O diagnóstico e a instituição de um tratamento antes dos 3 meses de idade são fundamentais, pois se o mesmo não ocorrer a criança apresenta um quadro clínico caracterizado por deficiência mental, padrão autista ou comportamento agitado, convulsões, odor característico na urina e alguns pacientes podem apresentar alterações eletroencefálicas.⁽⁴⁾

Diagnóstico laboratorial

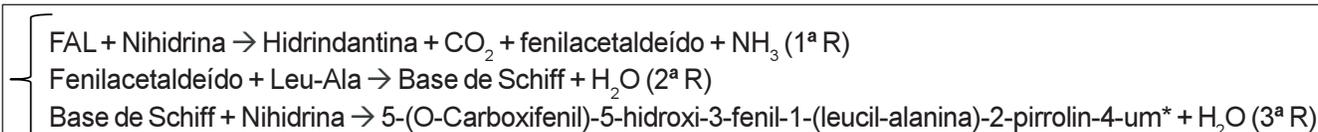
A triagem da FCN é realizada através da dosagem quantitativa da FAL sanguínea, obtida de amostras colhidas

em papel filtro. A triagem através da análise de metabólitos na urina mostra-se inadequada para um programa de diagnóstico precoce, pois as alterações detectáveis na urina só surgem em fase posterior às que são detectáveis no sangue e, muitas vezes, já concomitantemente com os primeiros sinais de lesão no sistema nervoso.⁽¹⁾

Os métodos tradicionalmente utilizados para a dosagem da fenilalanina no sangue são os testes de Guthrie-BIA (semiquantitativo) e de McCaman e Robins modificado (quantitativo). No teste de Guthrie-BIA, um pequeno disco de papel contendo excesso de FAL provoca a inibição do crescimento da bactéria *Bacillus subtilis* em um meio de cultura. Já para o método quantitativo, como o de McCaman e Robins, utiliza-se fluorimetria ou espectrometria de massa. Entretanto, deve-se estar atento para a possibilidade da ocorrência de falsos negativos para o teste de Guthrie-BIA e falsos positivos para o teste de McCaman. A metodologia enzimática tem sido utilizada por muitos especialistas em programas de triagem neonatal, em virtude do menor custo e alta precisão.⁽¹¹⁾

No Brasil, segundo o Ministério da Saúde, para a análise das amostras, pode ser utilizada metodologia fluorimétrica, enzimática ou por espectrometria de massa (MS), e, nos resultados positivos, nova amostra de sangue seco do recém-nascido deve ser obtida para análise do nível de FAL visando à confirmação ou não do diagnóstico.⁽¹⁾

A análise fluorométrica pode ser automatizada e os reagentes utilizados são relativamente baratos.⁽⁹⁾ A determinação é realizada através da reação iniciada por FAL e nihidrina que, na presença de L-leucil-L-alanina (Leu-Ala), forma um produto fluorescente no terceiro passo de reação (R) de acordo com o esquema descrito abaixo:



Um tampão succinato é utilizado para otimizar a fluorescência e aumentar a especificidade.⁽¹²⁾ Apesar de ser relativamente sensível e exato, esse método sofre interferências, podendo ocasionar falsos positivos.⁽¹³⁾

Já o ensaio enzimático é uma técnica colorimétrica realizada através da utilização de kits comerciais. Esse ensaio pode ser executado em analisadores padrão multiuso de química analítica, mas o custo dos reagentes são relativamente elevados.⁽¹⁴⁾

A espectrometria de massa pode ser considerada como a mais importante das novas tecnologias para a triagem de erros inatos do metabolismo, como a FCN. Uma vantagem dessa técnica é o seu potencial para a triagem

de várias desordens simultaneamente.⁽¹⁵⁾ É uma tecnologia cujas moléculas são quebradas em pequenos fragmentos carregados por um processo de colisão. O perfil dos fragmentos é identificado na forma de um espectro e é característico para cada molécula individual. Não há separação cromatográfica preliminar, tornando o método rápido. Uma desvantagem é que isômeros posicionais de um mesmo composto têm o mesmo peso molecular e não são diferenciados.⁽¹⁴⁾

A MS *in tandem* (MS/MS), utilizada para a quantificação de FAL sanguínea, é baseada no uso de dois espectrômetros de massa conectados por uma câmara de colisão. O sangue coletado em papel-filtro é eluído e ionizado

por *electrospray*. Os íons são separados por carga no primeiro espectrômetro, selecionados por um programa de computador e passam para a câmara de colisão, onde são fragmentados. Os fragmentos passam para o segundo espectrômetro, onde são analisados e identificados de acordo com a sua massa.⁽¹⁶⁾

Dados preliminares indicam que a espectrometria de massa produz menos resultados falsos positivos do que o método fluorimétrico em amostras obtidas nas primeiras 24 horas de vida.⁽⁹⁾ A espectrometria de massa também demonstrou ser robusta (isto é, sensível e específica) e adequada para a detecção confiável de FCN e alguns outros erros inatos do metabolismo (EIMs).⁽¹⁷⁾

Um laboratório de triagem para mais de um transtorno normalmente utiliza mais de uma técnica e os métodos utilizados variam de manual para parcialmente automatizados. Automação total, seja qual for a técnica usada, irá requerer o desenvolvimento de um perfurador automático capaz de avaliar a qualidade e a posição das manchas de sangue no papel filtro. Essa tecnologia pode levar ao desenvolvimento de um sistema totalmente automatizado capaz de realizar vários testes. Porém, essas máquinas são caras, sendo rentáveis apenas em laboratórios de triagem em larga escala.⁽¹⁷⁾

Técnicas moleculares envolvendo o ácido desoxirribonucleico (DNA) são geralmente inadequadas para a triagem neonatal universal para EIMs, tal como a FCN, uma vez que estes distúrbios são quase todos causados por um número muito grande de diferentes mutações individuais, por vezes específicos para as famílias e as correlações genótipo-fenótipo não são claras.⁽¹⁷⁾

O papel ideal de testes moleculares em triagem neonatal pode ser para confirmação de casos identificados por métodos mais convencionais, a fim de diminuir a taxa de resultados falsos positivos.⁽⁹⁾

Um resultado positivo na triagem deve levar a uma rápida avaliação do recém-nascido quanto ao estado clínico, idade e dieta no momento da coleta da amostra. A deficiência grave de FAH normalmente irá resultar em um aumento da concentração de FAL no sangue dentro das primeiras 24 horas de vida, no entanto, as crianças com uma deficiência menos severa podem levar mais tempo para desenvolver uma concentração de FAL anormal. É por esta razão que uma repetição do teste para todas as crianças inicialmente selecionadas tem sido recomendada.⁽⁹⁾

O diagnóstico da fenilcetonúria é baseado na constatação de uma elevada concentração de FAL (valor de referência de 4 mg%). A FCN clássica, ou apenas FCN, é historicamente definida como um nível de FAL no sangue > 10 mg%, o que indica uma deficiência completa da fenilalanina hidroxilase. Nesse nível, fenilcetonas aparecem na urina. Na hiperfenilalaninemia (HFA) são vistos níveis de 4.1-10 mg%.⁽¹⁸⁾

É importante salientar, também, que os resultados "normais" não excluem a presença deste transtorno, pois

algumas variantes dessas condições podem ter início mais tardio na vida, e os resultados falsos negativos podem ocorrer.⁽⁹⁾

Tratamento

O tratamento consiste basicamente de uma dieta com baixo teor de FAL, porém com níveis suficientes deste aminoácido para promover crescimento e desenvolvimento adequados.⁽¹⁾ No entanto, esta abordagem terapêutica é complicada, desagradável e difícil de manter ao longo da adolescência e na idade adulta. Perda de controle dietético pode ser associada à deterioração do desempenho cognitivo e de atenção, resultante do desenvolvimento de doenças degenerativas da substância branca, e, em mulheres grávidas com fenilcetonúria, os níveis elevados de fenilalanina no sangue causam teratogênese grave com falência do crescimento fetal, microcefalia, retardo mental e cardiopatias congênitas, ou seja, a chamada síndrome de fenilcetonúria materna. Por todas essas razões, alternativas inovadoras para a terapia dietética estão sendo procuradas, porém encontram-se em fase de pesquisa, não tendo sido ainda referendadas para aplicação em pacientes portadores da patologia.⁽⁸⁾

Controle da doença

A resposta ao tratamento dietético é monitorado pela medição periódica da concentração de FAL no sangue, avaliação dos parâmetros de crescimento e revisão da ingestão alimentar. Não há consenso sobre a melhor concentração de FAL no sangue ou a duração do tratamento dietético estrito. As recomendações mais comuns para a concentração de FAL são de 2 mg/dL a 6 mg/dL para indivíduos com 12 anos ou menos e 2 mg/dL a 10 mg/dL para as pessoas com mais de 12 anos. A maioria dos centros recomenda o tratamento dietético ao longo da vida. Isto é particularmente importante para as mulheres, pois os fetos expostos a elevadas concentrações de FAL correm um risco significativo de microcefalia, doença cardíaca congênita e redução do coeficiente de inteligência (QI). Recomenda-se que uma mulher com FCN atinja concentrações de FAL inferiores a 6 mg/dL pelo menos três meses antes da concepção e que as concentrações devam ser mantidas entre 2 mg/dL e 6 mg/dL durante toda a gravidez.⁽⁹⁾

Hipotireoidismo congênito

Fisiopatologia

O HC é uma afecção causada pela falta ou produção deficitária de tiroxina (T4), um hormônio tireoidiano imprescindível para o desenvolvimento normal de todo o organismo.⁽¹⁹⁾ Na maioria dos casos, o HC é decorrente de uma anormalidade no desenvolvimento da glândula tireoide (hipotireoidismo primário), que tem como função, em con-

dições normais, regular a temperatura corporal e a função cardiovascular, bem como atuar na maturação do sistema nervoso central (SNC).⁽²⁰⁾ Entretanto, em alguns casos, o hipotireoidismo pode resultar de uma deficiência do hormônio estimulador da tireoide (TSH) (hipotireoidismo secundário), o qual raramente é um problema isolado (causado por mutações no gene da subunidade β do TSH), porém, mais frequentemente, é associado com outras deficiências de hormônios hipofisários, como parte do hipopituitarismo congênito.⁽²¹⁾

Epidemiologia

Antes do início dos programas de TN, a incidência mundial de hipotireoidismo congênito, diagnosticado após as manifestações clínicas, era na faixa de 1:7.000 a 1:10.000. Com o advento do rastreamento de recém-nascidos, a incidência foi inicialmente relatada na faixa de 1:3.000 a 1:4.000. Com o decorrer dos programas de triagem, tornou-se evidente que a incidência varia de acordo com a localização geográfica. Além disso, há alguma variação na incidência entre os diferentes grupos raciais e étnicos. Vários programas relataram uma maior incidência em países da Ásia, nos nativos americanos e populações hispânicas e menor na população negra americana em relação à população branca. Há, também, em quase todos os relatórios dos programas de triagem, uma preponderância do sexo feminino.⁽²¹⁾

No Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal, foi demonstrada uma prevalência de 1:15.460 em 2001 e de 1:17.091 em 2002, sendo este o último levantamento realizado no país.

Manifestações clínicas

A diminuição do metabolismo energético tecidual acarretada pela deficiência de T4 causa consequências sobre o desenvolvimento ósseo e neuromuscular.⁽⁴⁾ Em algumas circunstâncias, a deficiência da tireoide é grave e as manifestações clínicas surgem precocemente (a partir da quarta semana de vida),⁽¹⁹⁾ porém, na maioria dos neonatos, o HC é assintomático até o terceiro mês de vida, mesmo com o dano cerebral já ocorrendo progressivamente e, por isso, o momento ideal para o diagnóstico é o período neonatal.⁽²²⁾

No exame inicial, os sinais mais comuns são hérnia umbilical e pele fria ou manchada,⁽²³⁾ sendo que, com a evolução da doença, os problemas ósseos e neuromusculares junto com icterícia persistente e má alimentação são as características clínicas mais marcantes.⁽²⁴⁾ As características típicas de uma criança com hipotireoidismo congênito incluem a icterícia, o rosto inchado e uma fontanela ampla posterior com suturas abertas, a ponte nasal é plana e a boca pode ser ligeiramente aberta revelando macroglossia. Uma análise mais aprofundada revelaria bradicardia e abdome protuberante com uma grande hérnia umbilical. Achados do

exame neurológico incluem hipotonia com reflexos atrasados. A pele pode ser fria ao toque e, na aparência, mosqueada, refletindo comprometimento circulatório.⁽²¹⁾

Diagnóstico laboratorial

Segundo o Ministério da Saúde,⁽¹⁾ o diagnóstico do HC no período neonatal pode ser feito de duas formas. A primeira alternativa é através da medida do hormônio estimulante da tireoide (TSH) em amostra de sangue colhida em papel filtro, seguida da medida de T4 livre e TSH em amostra de soro, quando o TSH inicial for maior que 20 mU/L. A segunda alternativa é a medida de T4, seguida da medida de TSH na mesma amostra quando o T4 for menor que o percentil 10.

Qualquer que seja a estratégia escolhida, a dosagem de T4 e TSH em amostras de sangue seco pode ser feita através das metodologias de fluorescência, fluorescência tempo resolvida (TRF) e enzimática.⁽¹⁾

A dosagem isolada de T4 apresenta 10% de casos falsos negativos, enquanto que a dosagem isolada de TSH nas primeiras 48 horas pode levar a um aumento de casos falsos positivos,⁽²²⁾ sendo, por isso, recomendada a dosagem concomitante de T4 e TSH.

Nos casos positivos, a criança deve ser chamada imediatamente para exame, e uma amostra de sangue venoso deve ser obtida para os testes sorológicos de confirmação. O teste sérico confirmatório é feito pela dosagem de TSH e T4 livre ou T4 total combinado com alguma medida de proteínas de ligação, como uma tomada da resina de triiodotironina (T3).⁽²¹⁾

A quantificação por fluorimetria pode ser feita através de um método imunoenzimático (ELISA) fluorimétrico, que obedece à técnica do sanduíche. O primeiro anticorpo monoclonal, localizado na fase sólida e obtido de ratos, age diretamente contra os determinantes antigênicos das moléculas de TSH ou T4, e o segundo anticorpo é então ligado a íons Európio, o marcador fluorescente. A fluorescência é lida em um fluorímetro e, em seguida, é feita a determinação dos valores obtidos em cada amostra a partir de curva padrão obtida previamente.⁽¹²⁾

Com o uso da fluorescência tempo resolvida, a qual está fundamentada na determinação do tempo de vida da fluorescência, pode-se medir até quatro analitos simultaneamente. Este número de testes pode ser ainda mais ampliado pelo uso de um detector com recursos de fotometria e luminométricos, além da fluorimetria, sendo que um instrumento como esse pode ser combinado com métodos de imunoenaios enzimáticos e químicos.⁽¹⁷⁾

Tratamento

Os hormônios tireoidianos sintéticos constituem a terapêutica, independentemente da etiologia do hipotireoidismo.⁽¹⁹⁾ A levotiroxina (L-tiroxina) é o tratamento de esco-

lha. Embora o T3 seja a forma biologicamente ativa do hormônio, a maioria do T3 no cérebro é formada a partir da deiodinação local do T4; assim, a substituição por T3 não é necessária para o funcionamento cerebral normal.⁽²¹⁾

O tratamento deve ser iniciado em qualquer criança com um resultado positivo na triagem, logo após os testes de confirmação serem feitos, mas antes que os resultados estejam disponíveis⁽²¹⁾ e deve ser continuado por toda a vida.⁽¹⁹⁾

Controle da doença

O objetivo geral da terapia é assegurar que esses pacientes sejam capazes de ter crescimento e desenvolvimento mental o mais próximo possível do seu potencial genético. Isto é conseguido por um rápido restabelecimento do T4 livre e TSH para valores normais e, em seguida, a manutenção do eutiroidismo clínico e laboratorial.⁽²¹⁾ A avaliação laboratorial deve ser realizada na 2ª e 4ª semanas após o início do tratamento com T4, a cada um a dois meses durante o primeiro ano de vida, a cada três a quatro meses entre 1 e 3 anos de idade, e duas a quatro semanas após qualquer alteração na dosagem.⁽⁹⁾

O tratamento prolongado pode levar a distúrbios de temperamento e craniossinostose e deve ser evitado. A monitorização cuidadosa é essencial nos primeiros dois a três anos de vida, um momento em que o cérebro tem ainda uma dependência crítica do hormônio da tireoide. Se o hipotireoidismo permanente não for estabelecido pelos 3 anos de idade, o tratamento com levotiroxina pode ser suspenso por um mês e as funções tireoidianas endógenas podem ser reavaliadas.⁽⁹⁾

HEMOGLOBINOPATIAS

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças genéticas causadas por alterações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina (Hb).⁽²⁵⁾ Com padrão de herança autosômica recessiva, são as desordens hereditárias mais comuns nos seres humanos, afetando aproximadamente 7% da população mundial.⁽²⁶⁾

O propósito primário da triagem neonatal das hemoglobinopatias é a identificação de crianças com doenças falciformes. Além disso, a triagem também identifica outras hemoglobinopatias, incluindo algumas, mas não todas, as beta talassemias, a maioria das alfa talassemias, entre outras hemoglobinopatias clinicamente significantes.⁽¹⁾

Anemia falciforme

Fisiopatologia

Dentre as hemoglobinopatias, a anemia falciforme (AF) é a patologia hereditária monogênica mais frequente e a

mais impactante, por sua alta prevalência e pela gravidade de suas manifestações clínicas.⁽²⁷⁾

AAF é causada por uma mutação no cromossomo 11, determinando uma substituição do códon GAG para GTG, resultando na substituição do aminoácido ácido glutâmico (Glu) pela valina (Val) na posição 6 da globina β que resultará na mudança no ponto isoelétrico (P.I.) da Hb e formação de uma Hb variante, a hemoglobina S (HbS).⁽²⁸⁾ Devido a essa mudança estrutural na molécula de Hb, a mesma fica mais susceptível a formar agregados, os quais precipitam no citoplasma, alterando a morfologia do eritrócito para a forma de foice.⁽²⁵⁾ Quando dois genes são afetados diz-se que há homozigose (HbSS) e o indivíduo possui a doença falciforme; contudo, quando apenas um gene é afetado e o outro é normal diz-se que há heterozigose (HbAS) e o indivíduo é assintomático, sendo considerado portador dessa doença (traço falciforme).⁽²⁸⁾

Além disso, o gene da HbS pode combinar-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como a hemoglobina C (HbC), a hemoglobina D (HbD) e a talassemia, gerando combinações que também são sintomáticas e denominadas, respectivamente, hemoglobinopatia SC, hemoglobinopatia SD e S/talassemia.⁽²⁹⁾

Epidemiologia

Apesar da incidência da AF prevalecer em indivíduos de diferentes regiões da África, estudos populacionais têm demonstrado a presença de HbS em indivíduos descendentes de populações do Mediterrâneo, Caribe, América Central e Sul, Arábia e Índia.⁽²⁵⁾

No Brasil, provavelmente, constitui a doença hereditária mais prevalente. Estima-se que existem pelo menos dois milhões de portadores da HbS heterozigotos. Devido à grande miscigenação populacional, a anemia falciforme afeta cerca de 0,04% da população geral e em torno de 0,1% a 0,3% da população negra. Acredita-se que as regiões norte, nordeste e sudoeste abriguem a maior concentração da doença, uma vez que grande parte da população é de cor negra.⁽²⁸⁾

Manifestações clínicas

A alteração celular causada pelo processo de falcização influencia intensamente o fluxo sanguíneo, aumentando a sua viscosidade. Esse aumento da viscosidade, associado a uma elevação dos níveis de fibrinogênio, aumenta a capacidade de adesão dos eritrócitos ao endotélio vascular, causando deposição dos mesmos na superfície endotelial com conseqüente diminuição da luz capilar. A redução da luz capilar provoca estase com conseqüente hipóxia tecidual. Assim, os tecidos mal perfundidos podem sofrer infartos com necrose e formação de fibrose, principalmente no baço, medula óssea e placenta. Esses eventos podem levar a lesões tissulares agudas, com crises dolorosas e crônicas.⁽²⁵⁾

Dessa forma, as principais manifestações clínicas da AF são crises algícas, dor torácica aguda, alterações hematólogicas, priapismo, úlceras, infartos e outras.⁽²⁸⁾

Diagnóstico laboratorial

Para o diagnóstico da AF preconizam-se as seguintes metodologias: eletroforese de hemoglobina, focalização isoelétrica (FIE) ou cromatografia líquida de alta performance (HPLC), testes de avaliação qualitativa (falcização e solubilidade) e dosagem da hemoglobina fetal (HbF).⁽²⁵⁾ Na eletroforese de hemoglobinas, as moléculas de Hb em uma solução alcalina possuem uma carga negativa e se deslocam para o ânodo. Aquelas com mobilidade eletroforética maior do que a da HbA são conhecidas como hemoglobinas rápidas. Algumas, em ordem crescente de mobilidade, são as hemoglobinas A2, E=O=C, G=D=S, F, A, K, J, Barts, N=I e H.⁽³⁰⁾

A eletroforese em pH alcalino é utilizada para o diagnóstico de doenças falciformes, porém o mesmo é dificultado no período neonatal devido à presença de grande quantidade de hemoglobina fetal (Hb F), a qual provoca um efeito "diluidor". O emprego de eletroforese em pH ácido visa a reduzir esse problema, pois melhora a condição de separação das frações de hemoglobina, além de separar a fração S da D, e a C da E.⁽³¹⁾

No Brasil, o diagnóstico da anemia falciforme consiste na caracterização da migração da HbS na eletroforese por FIE ou HPLC, pois tanto a eletroforese em pH alcalino quanto em pH ácido não são indicadas como procedimento adequado para triagem neonatal populacional por não serem adequadas à realização de testes em larga escala e por não apresentarem a mesma precisão da FIE e do HPLC.⁽¹⁾

No método de FIE, as hemoglobinas são separadas de acordo com seu P.I. em um gradiente de pH estável. Durante o processo de focalização, as hemoglobinas migram até a posição onde ocorre a identificação de seu P.I. com o gel, e assim a hemoglobina pode ser visualizada como uma banda muito nítida. Como cada hemoglobina possui seu P.I. específico, as identificações de variantes menos comuns, como D, E, G e outras, ficam bastante facilitadas. As frações de HbS ou outras variantes, em neonatos, são facilmente visualizadas por este método.⁽³²⁾

O HPLC é uma metodologia automatizada que possui maior acurácia do que os procedimentos eletroforéticos. O sistema é de fácil manuseio e os resultados são apresentados rapidamente. Alguns equipamentos podem ser utilizados para a quantificação das HbA₂ e HbF, além da identificação das HbA, HbS, HbD e HbC. O tempo de retenção das frações normais permite padronizar o tempo de eluição das variantes, sendo este um critério adicional para identificação.⁽³³⁾ Por ser rápida, precisa e com uma alta sensibilidade e especificidade, esta automação tem sido muito uti-

lizada para a rotina de laboratórios clínicos e de triagem neonatal.⁽²⁵⁾

Segundo o Ministério da Saúde,⁽¹⁾ tanto a FIE quanto o HPLC podem ser usados isoladamente para a triagem neonatal, os casos inconclusivos devem ser repetidos utilizando-se a outra técnica para aumentar a sensibilidade e especificidade dos resultados, e a confirmação dos resultados positivos deve ser feita através de outra análise em amostra coletada com 2 meses de idade.

Os testes de avaliação qualitativa somente são utilizados para confirmação, pois frequentemente resultam em falsos negativos, devido à grande quantidade de HbF no período neonatal.⁽³¹⁾

Para a realização do teste de solubilidade, os eritrócitos são lisados e é adicionado ditionito (hidrossulfito de sódio), o qual reduz a HbS, tornando-a insolúvel nos tampões inorgânicos concentrados. Os polímeros de desóxi HbS obstruem os raios de luz e produzem opacidade.⁽³⁰⁾ Esse teste baseia-se no fato de que, sob baixas concentrações de oxigênio, a HbS torna-se cem vezes menos solúvel que sua forma oxigenada. Esse teste apresenta uma boa sensibilidade para a triagem de HbS em outras faixas etárias fora do período neonatal e ainda oferece custo bem mais baixo do que a eletroforese e é de fácil execução.⁽³¹⁾

O teste de falcização baseia-se no fato de que a adição de metabissulfito de sódio, uma substância redutora, ao sangue potencializa a desoxigenação da Hb e a falcização da HbS. Porém, este teste não permite distinguir anemia falciforme de traço falciforme ou de outras síndromes de HbS porque todos os eritrócitos entram em falcização; todavia, a falcização ocorre mais rapidamente com maiores quantidades de HbS nas células.⁽³¹⁾

Tratamento

As opções atualmente disponíveis e consideradas eficazes para o tratamento são o transplante de medula óssea (TMO) e a hidroxiureia (HU).⁽²⁸⁾ A HU é um agente indutor da síntese de HbF, que vem apresentando bons resultados em estudos realizados com pacientes portadores de AF. As altas concentrações de HbF nos pacientes tratados com HU reduzem a polimerização da HbS e o número de eritrócitos deformados, densos ou danificados.⁽²⁵⁾

Além disso, o uso profilático de penicilina, a administração de vacina antipneumococo e outros cuidados intensivos aumentam significativamente a sobrevida e a qualidade de vida dos portadores das doenças falciformes, diminuem as sequelas e atenuam as complicações clínicas.⁽²⁶⁾

Controle da doença

Os avanços na prevenção de infecções e crises de falcização têm proporcionado uma maior sobrevida aos pacientes, de modo que, a longo prazo, a manutenção da boa qualidade de vida é essencial para os indivíduos com

doenças falciformes e deve ser objetivo dos profissionais que tratam destes pacientes.⁽³²⁾

Entre as medidas de controle estão a boa nutrição; a profilaxia, o diagnóstico e a terapêutica precoce das infecções; a manutenção de boa hidratação e evitar condições climáticas adversas. Além disso, acompanhamento ambulatorial duas a quatro vezes ao ano e educação da família e paciente sobre a doença são auxiliares na obtenção do bem-estar social e mental.⁽³²⁾

OUTRAS HEMOGLOBINOPATIAS

Hemoglobinopatia SC

Além da HbS, podem ocorrer outras mutações da hemoglobina, como a que forma a HbC. A HbC é resultado de uma mutação no gene da globina β , onde ocorre a substituição do ácido glutâmico pela lisina, resultando também em uma alteração na estrutura da hemoglobina. Como citado anteriormente, a HbS pode se combinar com a HbC, causando a hemoglobinopatia SC, a qual também é diagnosticada pelo PNTN e possui grande importância clínica.⁽²⁹⁾

A frequência desta hemoglobinopatia é aproximadamente a mesma da anemia falciforme nos negros americanos.⁽³⁰⁾

O curso clínico é o de uma doença falciforme de intensidade menos grave. As crises hemolíticas são mais amenas e o baço encontra-se aumentado na criança, podendo persistir na idade adulta. Há perda da função esplênica, que acontece de forma gradual e ocorre em uma idade mais avançada do que na anemia falciforme. As complicações mais observadas são retinopatia proliferativa com perda progressiva da visão, que é mais grave do que na anemia falciforme, e necrose asséptica da cabeça do fêmur, a qual está relacionada aos episódios de síndrome aguda do tórax devido à embolia gordurosa.⁽³⁴⁾

Assim como para a HbS, a triagem da HbC é feita por eletroforese de hemoglobina, HPLC ou FIE.⁽²⁷⁾ Nessa doença não há HbA e as taxas de HbS e HbC estão próximas uma da outra.⁽³⁴⁾ No esfregaço sanguíneo aparecem moderada a grave anisocitose e poiquilocitose e numerosas células em alvo. Frequentemente aparecem células falciformes arredondadas e anguladas. O teste de falcização também pode ser realizado, apresentando resultado positivo.⁽³⁰⁾

α -Talassemias

As α -talassemias constituem um grupo de doenças hereditárias, de distribuição mundial, causada pela deficiência da síntese de uma ou mais cadeias α da hemoglobina,⁽³⁵⁾ resultando no desenvolvimento de anemia microcítica e hipocrômica.⁽³⁶⁾

Indivíduos normais possuem quatro genes responsáveis pela produção de globinas α . Análises por técnicas de hibridização mostraram que os quatro genes α encontram-se dois em cada cromossomo 16. As formas de talassemia α são resultantes da deficiência de um, dois, três ou quatro genes α . Seus portadores são caracterizados segundo o número de genes afetados em: portador silencioso (um gene α afetado); α -talassemia heterozigota (dois genes α afetados); Doença de hemoglobina H (HbH) (três genes α afetados) e Síndrome de Hidropsia Fetal por Hb Bart's (quatro genes α afetados).⁽³⁵⁾

Os portadores de α -talassemias apresentam anemia com graus variáveis, hipocromia, microcitose, poiquilocitose, diminuição da fragilidade osmótica, reticulocitose, presença de HbH na eletroforese e na pesquisa citológica de corpos de inclusão de HbH com coloração vital.⁽³⁷⁾ A anemia se deve à diminuição do tempo de sobrevivência dos eritrócitos que contêm corpos de inclusão e são, por isto, retirados pela microvasculatura esplênica.⁽³⁸⁾

O diagnóstico desta anemia hereditária é feito pela análise dos índices eritrocitários, hematoscopia, incluindo a análise da morfologia eritrocitária, pesquisa de corpos de inclusão de HbH e eletroforese em pH neutro. Secundariamente, a dosagem de HbA₂, a contagem de reticulócitos e a avaliação do suprimento de ferro auxiliam no diagnóstico diferencial de anemias de etiologia incerta. Os índices hematimétricos podem sofrer alterações na presença de hemoglobinopatias estruturais e são determinantes no diagnóstico diferencial das talassemias.⁽³⁷⁾

β -Talassemias

Este tipo de talassemia resulta de mutações nos genes da globina β que levam à síntese reduzida ou ausente das cadeias β da Hb, provocando anemia microcítica e hipocrômica e uma série de quadros sindrômicos causados pelos alelos β^0 (expressão ausente) e β^+ (expressão reduzida).⁽³⁹⁾ A redução ou ausência das cadeias β -globina resulta em um excesso relativo de cadeias β -globina desacopladas que precipitam nos precursores eritroides na medula óssea, levando à sua morte prematura e, portanto, a eritropoiese ineficaz.⁽⁴⁰⁾

Esta é uma doença extremamente heterogênea e mais de 180 mutações já foram descritas em todo o mundo, causando diferentes graus da doença,⁽⁴¹⁾ sendo que a gravidade da redução da cadeia β depende da natureza dos defeitos moleculares subjacentes localizados no cromossomo 11.⁽⁴⁰⁾

As maiores taxas de prevalência são encontradas entre as populações da região do Mediterrâneo e Sudeste Asiático.⁽³⁹⁾

Do ponto de vista clínico, as β -talassemias são classificadas como menores (heterozigose para as formas β^0 ou β^+ , também conhecidas como traço β -talassêmico; os por-

tadores são geralmente assintomáticos, mas podem sofrer de anemia em situações como a gravidez, infância e estresse), maiores (homozigose $\beta^0\beta^0$ ou heterozigose $\beta^0\beta^+$, também conhecidas como anemia de Cooley, geram anemia severa, com a dependência de transfusões regulares de sangue), ou intermediárias (homozigose $\beta^+\beta^+$ ou heterozigose $\beta^0\beta^+$, compreendendo o fenótipo clínico intermediário entre a talassemia menor e a talassemia maior).⁽³⁹⁾

O diagnóstico das β talassemias é feito através de esfregaço sanguíneo e eletroforese de hemoglobinas. Na β -talassemia maior ocorre anemia hipocrômica e microcítica e aparecem muitas alterações eritrocitárias no esfregaço, tais como poiquilocitose extrema com formas bizarras, células em alvo, ovalocitose, anéis de Cabot, corpúsculos de Howell-Jolly, entre outros. Na eletroforese de Hb, quando há β^0 -talassemia a HbA está ausente, a HbF está elevada (98%) e a HbA₂ é de aproximadamente 2%; quando há β^+ talassemia, a HbF corresponde a valores entre 60% a 95% com presença de HbA e a razão de A₂ para A está sempre aumentada. Na β -talassemia menor geralmente não existe anemia, o número de eritrócitos está elevado e a Hb, o hematócrito e os índices hematimétricos estão reduzidos. As alterações eritrocitárias aparecem em grau moderado.⁽³⁰⁾ Na eletroforese de Hb, a HbA₂ e a HbF estão aumentadas.⁽⁹⁾

Fibrose Cística

Fisiopatologia

A fibrose cística (FC) ou mucoviscidose é uma doença autossômica recessiva causada por mutações no gene regulador da condutância transmembrânica da FC (CFTR),⁽⁴²⁾ uma glicoproteína de membrana que regula o fluxo de íons (principalmente cloro) em superfícies epiteliais, levando à perda da função dessa proteína.⁽⁹⁾ A secreção de cloro (Cl⁻) reduzida da célula para o fluido periciliar e a absorção do sódio (Na⁺) aumentada acarretam desidratação do muco, diminuindo o *clearance* e alterando seu conteúdo iônico.⁽⁴³⁾

O espectro dessas mutações é muito heterogêneo, sendo a mais comum uma deleção de três nucleotídeos do códon #508 da fenilalanina (designado $\Delta F508$).⁽³⁰⁾

Os órgãos e tecidos envolvidos na FC são formados por epitélio, que apresenta transporte anormal de eletrólitos através da membrana celular apical. Esse desequilíbrio eletrolítico contribui para a patogênese da doença, levando à formação de secreções espessas nos órgãos e sistemas, atingindo principalmente o sistema respiratório e o pâncreas.⁽⁴²⁾

Epidemiologia

A FC é a doença hereditária mais comum em eurodescendentes, com uma incidência estimada de um caso

a cada 2.500 nascimentos.⁽⁴²⁾ Aproximadamente um indivíduo em cada 25 nestas populações é portador assintomático do gene. É menos frequente em negros e rara em asiáticos.⁽⁴³⁾

A incidência da FC varia entre as diferentes regiões do Brasil devido à heterogeneidade da população brasileira. No Rio Grande do Sul, a estimativa da incidência é de um em 1.587 indivíduos e é semelhante à encontrada no sul da Europa.⁽⁴²⁾

Manifestações clínicas

A FC é caracterizada por acúmulo de secreção espessa e purulenta.⁽⁴³⁾ Nos pulmões, esse aumento na viscosidade bloqueia as vias aéreas propiciando a proliferação bacteriana (especialmente pseudomonas e estafilococos), o que leva a infecção crônica, lesão pulmonar e óbito por disfunção respiratória. No pâncreas, quando os ductos estão obstruídos pela secreção espessa, há uma perda de enzimas digestivas, levando a má nutrição.⁽¹⁾

Outros órgãos que também são primariamente atingidos incluem o intestino, o fígado, as glândulas sudoríparas e o trato reprodutivo masculino. Também ocorrem efeitos secundários importantes sobre o crescimento e a nutrição. O curso clínico é variável, mas a maioria dos pacientes sucumbe à doença pulmonar na idade adulta.⁽⁹⁾

Diagnóstico laboratorial

O teste de triagem neonatal se baseia na dosagem quantitativa do tripsinogênio imunorreativo (TIR) em papel filtro e deve ser realizado na primeira semana de vida para apresentar maior valor diagnóstico. Os ácinos pancreáticos de crianças com FC são capazes de produzir tripsinogênio, precursor pancreático da tripsina. Porém, como seus ductos pancreáticos estão bloqueados, o tripsinogênio fica impedido de alcançar o intestino e ser convertido em tripsina, ocorrendo assim um aumento da concentração de tripsinogênio na corrente sanguínea.⁽⁴²⁾ Quando a primeira dosagem de TIR é elevada, é necessário obter uma segunda amostra de sangue para nova medição de TIR. Para a dosagem do TIR era inicialmente utilizado um radioensaio com anticorpos policlonais. Este método foi posteriormente melhorado com a introdução de um ensaio imunoenzimático com anticorpos monoclonais e realizado em placas de ELISA, levando a uma maior sensibilidade e menor tempo de processamento.⁽⁴⁴⁾

Os casos triados pela determinação inicial de TIR, em duas dosagens seriadas, deverão ser submetidos à confirmação por meio da análise de DNA, priorizando-se o estudo da mutação $\Delta F508$ (a mais frequentemente encontrada) e/ou pelo teste do Cl⁻ no suor.⁽¹⁾

A identificação do gene CFTR em 1989 e da mutação $\Delta F508$ em algumas populações permitiu realizar uma triagem neonatal eficiente.⁽⁴⁴⁾ A análise das mutações relacionadas à FC permite a documentação de mutações raras no

gene CFTR. A análise do DNA também é utilizada para esclarecer o diagnóstico de pacientes com FC atípica, que podem apresentar resultado intermediário nos testes bioquímicos.⁽⁴²⁾

O diagnóstico por análise de DNA ocorre através da detecção de duas mutações relacionadas à doença, sendo que os pacientes podem ser homocigotos (portadores de uma mesma mutação nos dois alelos CFTR) ou heterocigotos compostos (com duas mutações diferentes na CFTR).⁽⁴²⁾ Quando duas mutações são encontradas, o diagnóstico da FC é confirmado; quando uma mutação é encontrada, o paciente deve ser submetido ao teste do suor, pois o indivíduo pode ser um mero portador de um dos genes de FC ou pode apresentar FC se houver uma segunda mutação que não foi investigada pelo teste genético utilizado. Quando nenhuma mutação for detectada, a probabilidade de FC é baixa, sem a necessidade de realizar o teste do suor.⁽⁴⁴⁾

A mutação $\Delta F508$ pode ser detectada por migração diferencial em gel de poliacrilamida e várias outras mutações produzem padrões característicos de digestão por endonucleases de restrição. Porém, os laboratórios que realizam a triagem de trinta ou mais mutações confiam tipicamente em estratégias de *pool* de ASO ou em *dot blots*, nos quais o produto PCR marcado do paciente é hibridizado contra uma série de sondas oligonucleotídicas de tipo comum ou mutante, imobilizadas em uma tira de papel filtro.⁽³⁰⁾

Para a medição de Cl⁻ no suor, o teste mais confiável é baseado na técnica de iontoforese com pilocarpina descrito por Gibson & Cooke em 1959.⁽⁴⁵⁾ Esse método consiste na estimulação da produção de suor pela pilocarpina, que é colocada sobre a pele ou diretamente nas glândulas sudoríparas, usando-se um gradiente potencial (iontoforese) e análise da concentração dos íons Na⁺ e Cl⁻. Mesmo sendo considerado um método adequado para o diagnóstico da FC, é aconselhável realizar outros testes para confirmar a doença, mesmo quando encontrados níveis normais ou limítrofes de níveis de Cl⁻ no suor,⁽⁴⁶⁾ pois este método requer experiência, tempo, cuidados especiais para evitar a evaporação, alta exatidão de escala e capacidade do analisador de calcular a composição eletrolítica de amostras diluídas. Além disso, as amostras de suor devem pesar mais de 75 mg,⁽⁴⁷⁾ o que é difícil em crianças menores de 1-2 meses.⁽⁴⁸⁾

Tratamento e controle da doença

Atualmente, o tratamento da FC é direcionado para a prevenção e/ou correção das disfunções nos sistemas comprometidos e alívio dos sintomas.⁽⁴²⁾ Portanto, consiste em acompanhamento médico regular, suporte dietético, utilização de enzimas pancreáticas, suplementação vitamínica (vitaminas A, D, E, K) e fisioterapia respiratória. Quando em

presença de complicações infecciosas, está indicada a antibióticoterapia de amplo espectro.⁽¹⁾

A FC é uma excelente candidata para terapia gênica, pois se trata de uma doença cujo defeito está em um único gene. Pequenas quantidades de CFTR funcional são suficientes para prevenir a doença pulmonar, pois quando apenas uma pequena proporção de células do epitélio estiver expressando CFTR já há correção total das propriedades do transporte de Cl⁻.⁽⁴³⁾ Porém, apesar de muitos avanços obtidos nessa área, a expressão de transgenes terapêuticos a níveis suficientes para resultar em correção fenotípica ainda não se mostrou eficiente.⁽⁴⁹⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A TN é o maior programa de saúde pública ligado à genética em todo o mundo, tratando-se de um sistema geralmente conduzido pelo sistema público de saúde. O Brasil conta com um programa de TN que segue as diretrizes internacionais adequadamente, sendo o painel de doenças triadas correspondente ao de alguns países desenvolvidos.

A Portaria 822/01 representou, sem dúvida, um passo importante no reconhecimento da relevância da triagem neonatal na saúde pública do Brasil, tendo um impacto positivo na resolução de problemas de saúde muito antigos em nosso país. Porém, à medida que vai se consolidando, novas doenças de alta prevalência populacional devem ser introduzidas.

O principal benefício da TN é a detecção precoce de doenças graves e tratáveis, prevenindo problemas como retardo mental ou mesmo o óbito. É importante salientar, também, que a detecção de um recém-nascido com alteração no teste do pezinho desencadeia uma cascata de testes nos demais membros da família, possibilitando a investigação e o aconselhamento de outros membros da família.

Embora o farmacêutico ocupe um lugar proeminente nesse programa, o seu conhecimento em relação às doenças triadas, especialmente no que diz respeito às melhores técnicas de triagem, é muitas vezes insuficiente. Com as técnicas utilizadas atualmente, há um alto número de resultados falsos positivos e falsos negativos. Dessa forma, é de extrema importância o conhecimento do farmacêutico acerca da técnica mais eficiente para a triagem de cada doença, reduzindo assim os resultados falsos positivos e falsos negativos.

Avanços na automação, informatização e sensibilidade dos instrumentos analíticos têm possibilitado a proliferação de novas técnicas de TN nos últimos anos. Assim, a utilização de técnicas mais modernas e eficientes, tais como a MS/MS e os testes moleculares, já representa um avanço técnico considerável.

O PNTN, no entanto, não contempla o diagnóstico de algumas patologias que também apresentam alta prevalência e gravidade clínica. Sugere-se, portanto, que novas metodologias sejam introduzidas a fim de que o diagnóstico de outras doenças clinicamente importantes também seja realizado no país. Porém, tais alterações devem ser acompanhadas de uma avaliação cuidadosa para garantir a sua eficácia e custo-eficácia na prática.

Pretende-se, portanto, despertar nos profissionais de saúde, principalmente farmacêuticos, o interesse e o desejo de conhecer um pouco mais sobre os aspectos clínicos das doenças triadas pelo PNTN e as técnicas mais modernas utilizadas para triagem. Finalmente, espera-se que as limitações deste trabalho sejam percebidas como possibilidades de estudos para próximos trabalhos.

Abstract

Neonatal screening is based on laboratory testing in the first days of life of the newborn, with the aim to detect early and treat diseases that are preventable, avoid severe clinical manifestations, and consequences such as mental retardation. The purpose of this review was to discuss the clinical and laboratory aspects of diseases that are part of the National Neonatal Screening Program (PNTN). The PNTN was implemented in 2001 including the search for phenylketonuria, congenital hypothyroidism, cystic fibrosis, sickle cell anemia and other hemoglobinopathies, extending the approach to the issue. Currently, new techniques for newborn screening have proliferated in order to obtain results with greater sensitivity and specificity, reducing false positives and false negatives. It is intended, therefore, through this article, arousing the attention of pharmacists to the importance of knowledge about the clinical characteristics of each of these diseases and the most modern techniques used for screening.

Keywords

Neonatal screening; Phenylketonuria; Congenital hypothyroidism; Hemoglobinopathies; Cystic fibrosis

REFERÊNCIAS

- Brasil - Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal - 2ª ed. ampl. - Brasília, DF, 2004.
- Botler J, Camacho LA, da Cruz MM, George P. Neonatal screening - the challenge of an universal and effective coverage. *Cien Saude Colet.* 2010 Mar;15(2):493-508. [Article in Portuguese]
- Goldbeck AS. A triagem neonatal (teste do pezinho) na rede de atenção básica em saúde do Rio Grande do Sul: representações sociais e qualificação do processo comunicacional. 2006. 89 p. Monografia de conclusão de curso - Programa de pós-graduação em administração, UFRGS, Porto Alegre.
- Silva CS. Conhecimento das mães e do enfermeiro acerca da triagem neonatal. 2008. 55 p. Trabalho de conclusão de curso - Escola de Enfermagem da UFRGS, Porto Alegre.
- Brasil - Ministério da Saúde. Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990 - Estatuto da Criança e do Adolescente. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 jul. 1990.
- Brasil - Ministério da Saúde. Portaria 22, de 15 de janeiro de 1992. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 jan. 1992.
- Brasil - Ministério da Saúde. Portaria 822, de 06 de junho de 2001. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 07 jun. 2001.
- Harding CO. New era in treatment for phenylketonuria: Pharmacologic therapy with sapropterin dihydrochloride. *Biologics.* 2010 Aug 9;4: 231-6.
- Kaye CI; Committee on Genetics, Accurso F, La Franchi S, Lane PA, Hope N, Sonya P, et al. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics.* 2006 Sep;118(3):e934-63.
- SBTN - Sociedade Brasileira de Triagem Neonatal. Triagem - Dados Estatísticos. Disponível em: http://www.sbtn.org.br/pg_triag_dadosestatisticos.htm. Acesso em: 15 nov. 2010.
- Silva MC. Hidrolisados enzimáticos do concentrado proteico do soro do leite: Remoção da fenilalanina, grau de hidrólise e perfil peptídico. 2009. 113 p. Dissertação de mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da UFMG, Belo Horizonte.
- Matozzo M, Souza LC. Triagem Neonatal em Santa Catarina: relato histórico, aspectos fisiopatológicos e métodos de análise realizados pelo Laboratório Central da Secretaria de Saúde do Estado. *NewsLab.* 2005;68:84-102.
- Machado JIO. Fenilcetonúria e suas variantes: Revisão bibliográfica. 2008. 54 p. Monografia de Conclusão de Curso - Especialização em Análises Clínicas e Saúde Pública, UFP, Porto.
- Pollitt RJ, Green A, McCabe CJ, Booth A, Cooper NJ, Leonard JV, et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: cost, yield and outcome. *Health Technol Assess.* 1997;1(7):i-iv, 1-202.
- Seymour CA, Thomason MJ, Chalmers RA, Addison GM, Bain MD, Cockburn F, et al. Newborn screening for inborn errors of metabolism: a systematic review. *Health Technol Assess.* 1997;1(11):i-iv, 1-95.
- Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technol Assess.* 2004 Mar;8(12):iii, 1-121.
- Thomason MJ, Lord J, Bain MD, Chalmers RA, Littlejohns P, Addison GM, et al. A systematic review of evidence for the appropriateness of neonatal screening programmes for inborn errors of metabolism. *J Public Health Med.* 1998 Sep;20(3):331-43.
- Hoeks MP, den Heijer M, Janssen MC. Adult issues in phenylketonuria. *Neth J Med.* 2009 Jan;67(1):2-7.
- Benincasa TO, Oliveira CB, Zanoni IH, Lima SAO, Martins DC. Triagem Neonatal: a percepção teórica da equipe de enfermagem da Unidade de Terapia Intensiva Neonatal. *Rev Inst Ciênc Saúde.* 2009;27(2):109-14.
- Figueiredo CKB, Schermann L. Interação mãe-criança e problemas de comportamento infantil em crianças com hipotireoidismo congênito. *Psicologia: Reflexão & Crítica.* 2001;14(3):487-95.
- Rastogi MV, Lafranchi SH. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 Jun 10;5:17.
- Souza CFM, Schwartz IV, Giugliani R. Triagem neonatal de distúrbios metabólicos. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2002;7(1):129-37.
- Grant DB, Smith I, Fuggle PW, Tokar S, Chapple J. Congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: relationship between biochemical severity and early clinical features. *Arch Dis Child.* 1992 Jan;67(1):87-90
- Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *Horm Res.* 1997;48(2):51-61
- Manfredini V. Perfil oxidativo e bioquímico em pacientes que apresentam anemia falciforme e traço falciforme. 2008. 178 p. Tese de doutorado - Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da UFRGS, Porto Alegre.
- Sommer CK, Goldbeck AS, Wagner SC, Castro SM. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: experiência de um ano na rede de saúde pública do Rio Grande do Sul, Brasil. *Cad. Saúde Pública [online].* 2006;22(8):1709-14.
- Martini G, Bastos BM, Santos N, Oliveira C de, Ruhland L, Silva PH da, Haas P. Triagem neonatal e hemoglobinopatias em Santa Catarina, Brasil. *Rev. bras. anal. clin.* 2009;41(3):185-9.

28. Wambier GE, Wambier H, Paula AA. Aspectos de interesse relacionados à anemia falciforme. *Publicatio UEPG Ciências Biológicas e da Saúde*, 13(3/4), 45-52, 2007.
29. Garanito MP. Hemoglobinopatias - Interpretação do teste de triagem neonatal. *Pediatria* 2008;30(3):172-6.
30. Henry JB. *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais*. 20 ed. Barueri, Manole, 2008, 1734 p.
31. Bandeira FMGC, Leal MC, Souza RR. Diagnóstico da hemoglobina S: análise comparativa do teste de solubilidade com a eletroforese em pH alcalino e ácido no período neonatal. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant.* 2003;3(3):265-70.
32. Brasil - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). *Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes*. Brasília, DF, 142p., 2002.
33. Fernandes ARC, Domingos CRB. Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de hemoglobinas variantes. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2006;28(1):65-70.
34. Melo-Reis PR, Araújo LM, Dias-Penna KG, Mesquita MM, Frank S, Castro FS, et al. A importância do diagnóstico precoce na prevenção das anemias hereditárias. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2006; 28(2):149-52.
35. Cançado RD. Talassemias alfa. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2006; 28(2):81-7.
36. Bonini-Domingos CR, Tomé-Alves R, Marchi-Salvador DP, Orlando GM, Palharini LA, Imperial RE, Naoum PC. Hemoglobinas AS/Alfa talassemia - importância diagnóstica. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2000;22(3):388-94.
37. Oliveira GLV, Mendiburu CF, Bonini-Domingos CR. Avaliação do perfil hematológico de portadores de talassemia alfa provenientes das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2006;28(2):105-9.
38. Wagner SC, Silvestri MC, Bittar CM, Friedrisch JR, Silla LMR. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes em pacientes com anemia não ferropênica. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2005; 27(1):37-42.
39. Sonati Mde F, Costa FF. The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies. *J Pediatr.* 2008 Aug;84(4 Suppl):S40-51. [Article in English, Portuguese].
40. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 May 21;5:11.
41. de Sousa SM, Khater L, Peroni LA, Miranda K, Murai MJ, Albuquerque DM, et al. β -thalassemia intermedia in a Brazilian patient with -101(C > T) and codon 39 (C > T) mutations. *Sao Paulo Med J.* 2003 Jan 2;121(1):28-30.
42. Kiehl MF. Identificação de variações de sequência no gene CFTR em pacientes com fibrose cística. 2010. 69 p. Dissertação de mestrado - Programa de pós-graduação em genética e biologia molecular, UFRGS, Porto Alegre.
43. Reis FG, Damaceno N. Fibrose cística. *J Pediatr.* 1998;74(Supl 1):S76-S94.
44. Rodrigues R, Gabetta CS, Pedro KP, Valdetaro F, Fernandes MI, Magalhães PK, et al. Cystic fibrosis and neonatal screening. *Cad Saude Publica.* 2008;24 Suppl 4:s475-84.
45. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics.* 1959 Mar;23(3):545-9.
46. Rosa FR, Dias FG, Nobre LN, Morais HA. Fibrose cística: uma abordagem clínica e nutricional. *Rev Nutr.* 2008;21(6):725-37.
47. Riedi CA, Zavadniak AF, Silva DC, Franco A, Filho NA. Comparison of conductivity with sodium determination in the same sweat sample. *J Pediatr.* 2000;76(6):443-6. [Article in Portuguese].
48. Mattar AC, Gomes EN, Adde FV, Leone C, Rodrigues JC. Comparison between classic Gibson and Cooke technique and sweat conductivity test in patients with and without cystic fibrosis. *J Pediatr.* 2010;86(2):109-14.
49. Lee TW, Matthews DA, Blair GE. Novel molecular approaches to cystic fibrosis gene therapy. *Biochem J.* 2005 Apr 1;387(Pt 1):1-15.

Correspondência

Vanusa Manfredini

*Universidade Federal do Pampa - Campus Uruguiana
Laboratório de Hematologia e Citologia Clínica
BR 472, Km 585 - Caixa Postal 118
97500-970 - Uruguiana, RS, Brasil
Tel.: (55) 3413 4321 / (55) 8407 5737
vanusa_manfredini@yahoo.com.br*

Prevalência das fenotipagens RH dos receptores da Agência Transfusional do Hospital Universitário de Santa Maria - RS no período de outubro de 2009 a março de 2010

Prevalence of RH phenotyping in blood receptors in Transfusional Agency of University Hospital of Santa Maria - RS in the period of October 2009 to March 2010

Hellen Lopes de Paula¹

Michel Mansur Machado²

Emanuele Villetti Vintacourt¹

Bruna de Medeiros Cabral¹

Adriana Najai Stein Bortolotto²

Margareth Linde Athayde¹

Resumo

Na prática transfusional atual, tornou-se imprescindível a implantação de provas que tornem a transfusão sanguínea um procedimento mais seguro, diminuindo assim as complicações da terapêutica transfusional. Foi estudada a prevalência da fenotipagem Rh de 112 pacientes receptores de sangue, classificados de acordo com sua clínica de origem: Traumatologia, Infectologia, Obstetrícia, Clínica Geral, Oncologia e Hematologia. Como as alterações hematológicas são bastante comuns no Hospital Universitário de Santa Maria, estas foram estudadas separadamente: linfomas, anemias, leucemias e outras. De uma forma geral, a frequência dos antígenos do sistema Rh foi: alelo D 85,71%, alelo d 14,29%, alelo C 33,48%, alelo c 66,52%, alelo E 22,77% e alelo e 77,23%. Já para os pacientes da Hematologia, a frequência foi: alelo D 83,72%, alelo d 16,28%, alelo C 40,70%, alelo c 59,30%, alelo E 22,09% e alelo e 77,91%. Para as anemias, as frequências foram: D 87,50%, d 12,50%, CC 25,00%, Cc 37,50%, cc 37,50%, EE 0,00%, Ee 25,00% e ee 75,00%. Já para as leucemias: D 85,71%, d 14,29%, CC 9,52%, Cc 66,67%, cc 23,81%, EE 0,00%, Ee 47,62% e ee 52,38%. Para os linfomas: D 83,33%, d 16,67%, CC 0,00%, Cc 50,00%, cc 50,00%, EE 0,00%, Ee 50,00% e ee 50,00%.

Palavras-chave

Hemoterapia; Fenotipagem Rh; Transfusão de Sangue

INTRODUÇÃO

Atualmente são coletadas no mundo cerca de 75 milhões de unidades de sangue/ano. Estima-se que 80% dos estoques sejam consumidos por 20% da população uma vez que, em países com alto índice de desenvolvimento humano (IDH), o número de doações por mil habitantes é 18 vezes maior do que nos demais países.⁽¹⁾ A OMS estima que, para atender a todas as necessidades de sangue de um país, cerca de 3% a 5% da população deveria doar sangue todos os anos.⁽¹⁾

Na prática transfusional atual, tornou-se imprescindível a implantação de provas que tornem a transfusão sanguínea um procedimento mais seguro, diminuindo assim as complicações da terapêutica transfusional.⁽²⁾ Dentre os principais procedimentos necessários para uma transfusão sem riscos, a fenotipagem eritrocitária, que tem sido introduzida

gradativamente nos serviços de hemoterapia, tem apresentado grande destaque.⁽²⁾

Os sistemas de grupos sanguíneos são caracterizados por antígenos na membrana eritrocitária, com características funcionais e polimórficas definidas. Na medicina transfusional, a compatibilidade para o sistema ABO e para o antígeno D do sistema Rh é fundamental na prevenção de reações hemolíticas, embora seja desejável que outros antígenos sejam compatibilizados, especialmente C, c, E, e, do sistema Rh, principalmente em pacientes passíveis de transfusões crônicas, como, por exemplo, pacientes portadores de doenças oncológicas ou onco-hematológicas, e para a eventual identificação de aloanticorpos e autoanticorpos, evitando também reações hemolíticas.⁽²⁻³⁾

Atualmente, os serviços de hemoterapia são regidos pelas normas técnicas contidas na Resolução da Direto-

¹Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Camobi – Santa Maria - RS, Brasil.

²Serviço de Hemoterapia, Hospital Universitário de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, Campus Camobi – Santa Maria - RS, Brasil.

Trabalho realizado na Agência Transfusional do Hospital Universitário de Santa Maria - RS, Brasil

Artigo recebido em 04/12/2010

Artigo aprovado em 28/09/2016

ria Colegiada (RDC) n.º 153, de 4 de junho de 2004, que inclui desde a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso do sangue humano e de outros materiais biológicos.⁽⁴⁾

Para se obter segurança dos produtos sanguíneos a serem utilizados em transfusões, rígidos parâmetros de qualidade devem ser seguidos. Entende-se por segurança transfusional o conjunto de medidas quantitativas e qualitativas adotadas que visem um menor risco aos doadores e receptores de sangue, além da garantia de estoques estratégicos de sangue capazes de atender à demanda transfusional. Mesmo com todo o avanço na busca de segurança transfusional, não existe transfusão isenta de riscos. Daí a importância de se cumprir com eficiência o ciclo hemoterápico cujo processo se inicia com a captação e seleção de doadores, seguindo-se a triagem sorológica e imunohematológica, processamento e fracionamento das unidades coletadas, dispensação, transfusão e avaliação pós-transfusional.⁽²⁾

O presente trabalho tem por objetivo avaliar a prevalência das fenotipagens Rh dos receptores da Agência Transfusional do Hospital Universitário de Santa Maria no período de outubro de 2009 a março de 2010.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de amostras

A coleta de sangue dos pacientes foi feita por venopunção. No total, foram coletadas 112 amostras por ocasião dos pedidos de transfusão para os receptores; assim, nenhuma coleta adicional foi realizada nos pacientes além daquela necessária ao seu tratamento. Todas as amostras foram coletadas utilizando-se o EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid*)

Procedimento de fenotipagem

Foi utilizado o Teste em Gel da marca DiaMed, seguindo o procedimento descrito pelo fabricante. O Gel Teste é um método para microtipagem de grupos sanguíneos, pesquisa/identificação/titulação de anticorpos irregulares e provas de compatibilidade sanguínea pré-transfusional. O revolucionário método apresenta uma forma 100% assertiva de leitura das reações de aglutinação, sem dúvidas de interpretações, com resultados eficientes e seguros.

O Gel Teste (ID-Micro Typing System) foi desenvolvido e patenteado pela DiaMed AG/Suíça e revolucionou a sorologia de grupos sanguíneos, contribuindo para o avanço e qualidade dos testes imuno-hematológicos em todo o mundo.⁽⁵⁾

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As primeiras tentativas de transfusões documentadas foram realizadas no ano de 1492, no Papa Inocêncio VIII, que veio a falecer no mesmo ano assim como seus três doadores de sangue.⁽¹⁾

Tentativas em exercer a prática transfusional passaram pela utilização de sangue de animais transfundido para animais e de sangue de animais transfundido para seres humanos.⁽¹⁾

Atualmente, a hemoterapia, no Brasil e no mundo, tem se caracterizado pelo desenvolvimento e adoção de novas tecnologias objetivando minimizar os riscos transfusionais, tornando-se uma prática mais segura.⁽⁶⁾

O antígeno D, do sistema Rh, é considerado o mais imunogênico,⁽⁷⁾ causando reações transfusionais graves. Este sistema permite também classificar o sangue humano, segundo a presença do antígeno D, como: Fator Rh positivo (presença do antígeno D) e Fator Rh negativo (ausência do antígeno D).⁽⁸⁾

A fenotipagem sanguínea é a determinação da presença ou ausência de antígenos eritrocitários na membrana da hemácia.⁽⁷⁾ A fenotipagem eritrocitária, introduzida gradativamente na rotina dos Serviços de Hemoterapia, tem contribuído para reduzir o índice de aloimunização dos pacientes politransfundidos e aumentar a segurança transfusional.⁽⁷⁾

A fenotipagem Rh eritrocitária é definida pela presença dos antígenos D, C, c, E e e (principais antígenos do sistema Rh) na membrana do eritrócito. O antígeno D não possui alelo, sendo a presença deste considerada Rh positivo (D) e a sua ausência é expressa como d, considerada Rh negativo (d), como citado anteriormente. Já os demais antígenos – C, c, E e e – são representados por dois alelos.⁽⁸⁻¹⁰⁾

Na Figura 1 estão demonstradas as clínicas de origem dos pacientes fenotipados. Pacientes oncológicos e de hematologia são, devido às alterações clínicas e do tratamento, como radioterapia e quimioterapia, os mais

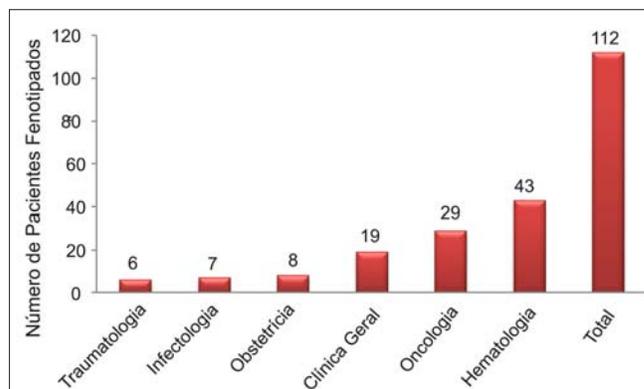


Figura 1. Clínica de origem dos pacientes fenotipados.

habituais a fazer uso de hemocomponentes e, conseqüentemente, de retornar ao Serviço de Hemoterapia. Por esse motivo, normalmente, todos os pacientes novos destas clínicas são fenotipados.

As alterações hematológicas são bastante comuns no Hospital Universitário de Santa Maria, que possui um centro especializado no tratamento de crianças com câncer e de transplante de medula óssea, o que aumenta constantemente o número de novos pacientes. A clínica hematológica atende pacientes com diversas alterações das séries vermelha e branca. As mais usuais estão mostradas na Figura 2 e correspondem às anemias (todas as etiologias), aos linfomas (Hodgkin e não Hodgkin), leucemias (série mieloide e série linfóide, tanto agudas quanto crônicas), além de outras menos comuns, como mielomas múltiplos (três casos), lúpus eritematoso sistêmico (um caso), hemofilias (dois casos) e síndromes mielodisplásicas (dois casos).

Em relação à frequência dos alelos do grupo Rh nas diferentes clínicas de atendimento, os resultados estão re-

lacionados na Tabela 1 e demonstrados na Figura 3. Podemos observar que, na avaliação geral dos pacientes, o alelo "D" está presente em 85,71% dos pacientes fenotipados, enquanto que o alelo "d" está presente em apenas 14,29% dos casos analisados. O alelo "C" estava presente em 33,48%, e o alelo "c" na maioria dos pacientes, correspondendo a 66,52%. No último par de alelos, o alelo "E" está presente em 22,77% e o alelo "e" em 77,23% dos pacientes fenotipados.

Uma vez que os pacientes da Clínica de Hematologia estão entre os mais frequentes no Serviço de Hemoterapia do Hospital Universitário de Santa Maria, torna-se importante avaliar as frequências quanto ao diagnóstico dos pacientes. Estes resultados estão listados na Tabela 2 e na Figura 4. Entre os pacientes com anemias (de diversas etiologias), os alelos mais frequentemente encontrados foram o "D", com 87,50%, o "c" com 56,25% e o "e" com 87,50%.

Já para os casos de leucemia, os alelos mais frequentes foram os mesmo, porém com diferentes valores: o "D" teve 85,71%, o "c" 52,38% e o "e" 76,19%. Nos casos de linfoma, os alelos "D", "c" e "e" também se repetem, com 83,33%, 75% e 75%, respectivamente.

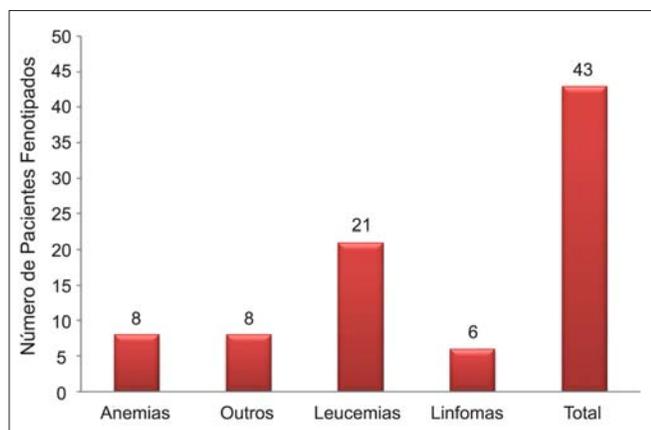


Figura 2. Diagnóstico dos pacientes da Hematologia fenotipados.

Tabela 1 - Frequência (%) dos alelos do fenótipo Rh nas clínicas avaliadas

	Alelo D	Alelo d	Alelo C	Alelo c	Alelo E	Alelo e
Geral	85,71	14,29	33,48	33,48	22,77	77,23
Traumatologia	100,00	0,00	25,00	25,00	41,67	58,33
Infectologia	100,00	0,00	42,86	42,86	35,71	64,29
Obstetrícia	62,50	37,50	25,00	25,00	12,50	87,50
Clínica Geral	84,21	15,79	21,05	21,05	18,42	81,58
Oncologia	86,21	13,79	32,76	32,76	22,41	77,59
Hematologia	83,72	16,28	40,70	40,70	22,09	77,91

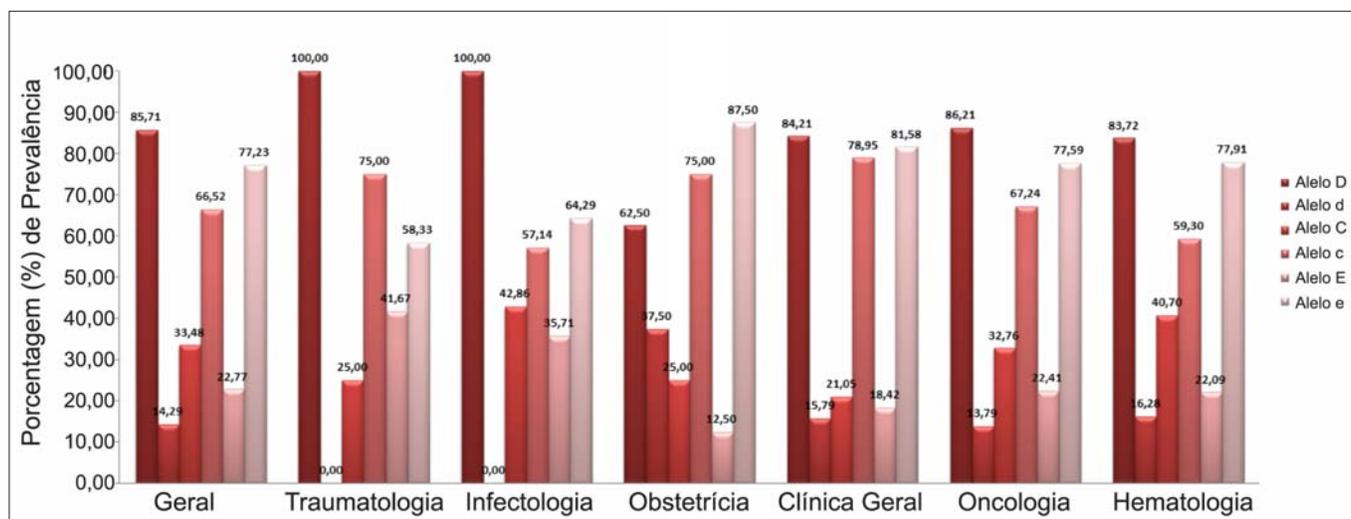


Figura 3. Frequência dos alelos do fenótipo RH nas clínicas avaliadas

Tabela 2 - Frequência (%) dos alelos do fenótipo RH nos diferentes diagnósticos da clínica de Hematologia

	Alelo D	Alelo d	Alelo C	Alelo c	Alelo E	Alelo e
Geral	83,72	16,28	40,70	59,30	22,09	77,91
Anemia	87,50	12,50	43,75	56,25	12,50	87,50
Leucemia	85,71	14,29	47,62	52,38	23,81	76,19
Linfomas	83,33	16,67	25,00	75,00	25,00	75,00
Outros	75,00	25,00	31,25	68,75	25,00	75,00

Ao avaliarmos as possíveis associações dos pares de alelos, observam-se as seguintes possibilidades: "CC", "Cc" e "cc", bem como "EE", "Ee" e "ee". As frequências das associações foram verificadas para pacientes da clínica de Hematologia, pois, como foi mencionado, este grupo é o mais frequente no Serviço de Hemoterapia. Os resultados são mostrados na Tabela 3 e Figura 5. Nos pacientes com anemia, observa-se que duas associações

apresentam a mesma frequência, a "Cc" e a "cc", ambas com 37,5% e, na segunda associação, o mais frequente foi o "ee", com 75% das ocorrências, formando assim os fenótipos mais prováveis de "DCcee" ou "Dccee". Já nos casos de leucemia, a maior frequência de associação foi o "Cc" e "ee", com 66,67% e 52,38%, respectivamente, formando assim o fenótipo mais provável de "DCcee". Já nos casos de linfoma, as associações mais observadas foram a "Cc", "cc", "Ee" e "ee", todas com 50% dos casos cada uma, formando assim os fenótipos mais prováveis, "DCcEe", "DCcee", "DccEe" e "Dccee".

Tabela 3 - Frequência (%) das possíveis associações dos alelos do fenótipo RH nos diferentes diagnósticos da clínica de Hematologia

	D	d	CC	Cc	Cc	EE	Ee	Ee
Anemia	87,50	12,50	25,00	37,50	37,50	0,00	25,00	75,00
Leucemia	85,71	14,29	9,52	66,67	23,81	0,00	47,62	52,38
Linfomas	83,33	16,67	0,00	50,00	50,00	0,00	50,00	50,00

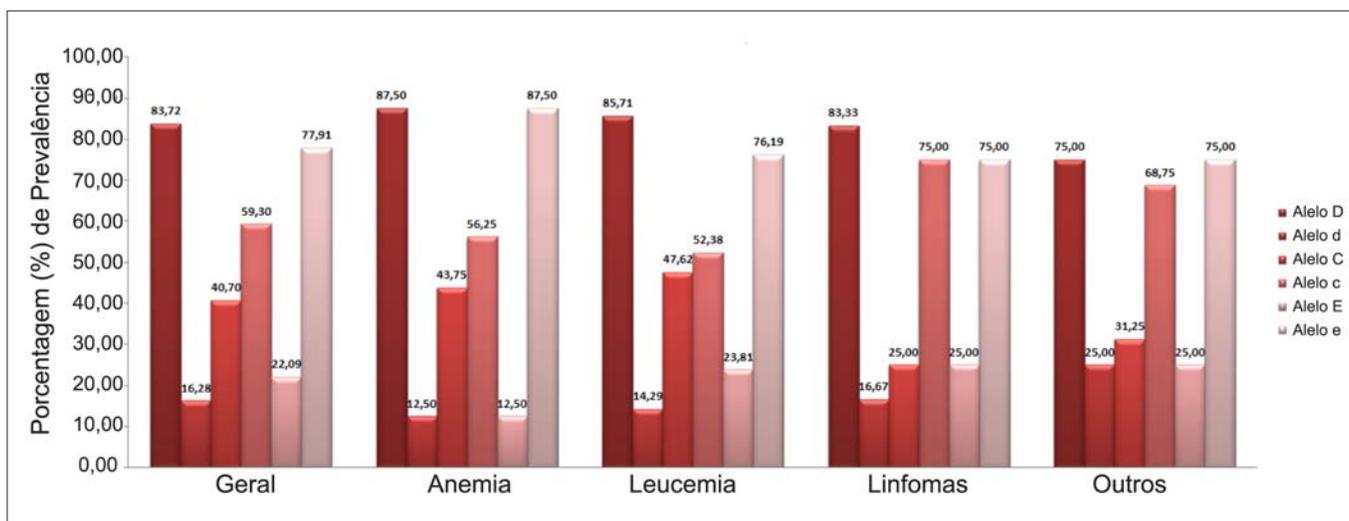


Figura 4. Frequência dos alelos do fenótipo RH nos diferentes diagnósticos da clínica de Hematologia.

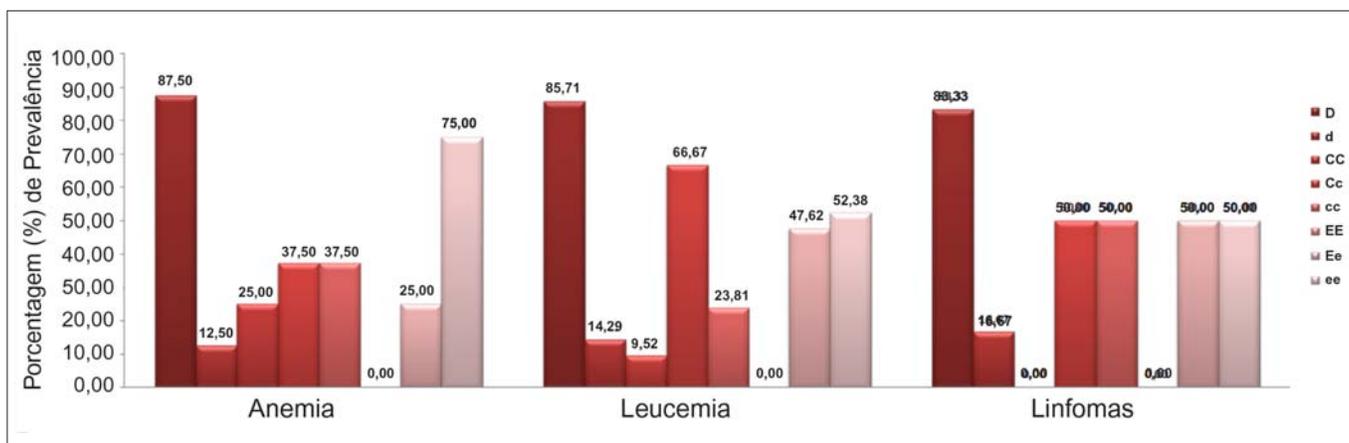


Figura 5. Frequência das possíveis associações dos alelos do fenótipo RH nos diferentes diagnósticos da clínica de Hematologia.

CONCLUSÃO

A fenotipagem eritrocitária, introduzida gradativamente na rotina dos bancos de sangue, tem contribuído para reduzir o índice de aloimunização dos pacientes politransfundidos e aumentar a segurança transfusional. A relação entre os fenótipos e as patologias ainda carece de maiores estudos.

Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria e os protocolos foram executados segundo as normativas da Resolução 196/1996 e Resolução 354/2004 do CONEP.

Agradecimentos

Ao Hospital Universitário de Santa Maria, à Agência Transfusional do HUSM e ao Hemocentro, bem como a seus colaboradores, pela oportunidade de colocar em prática o conhecimento adquirido ao longo de minha formação acadêmica.

Abstract

In the current transfusion practice, has become essential to implementation of evidence that make blood transfusion a safer procedure, thus reducing the complications of transfusion therapy. We studied the prevalence of Rh phenotyping of 112 patients receiving blood, they were classified according to their clinic of origin: Traumatology, Infectious Diseases, Obstetrics, Internal Medicine, Oncology and Hematology. As hematological are quite common at the University Hospital of Santa Maria, that have been studied separately, in lymphomas, anemias, leukemia and others. In general, the frequency of Rh system antigens was: D allele 85.71%, d allele 14.29%, 33.48% of C allele, c 66.52%, E allele 22.77% and allele e 77.23%. As for the patients of the Hematology frequency was: D allele 83.72%, d allele 16.28%, allele C 40.70%, 59.30% of c allele, 22.09% of allele E and 77.91% allele e. For anemia frequencies were: D 87.50%, 12.50% of d, CC 25.00%, 37.50% of CC, cc 37.50%, EE 0.00%, Ee 25.00% and ee 75.00%. As for the leukemias: D 85.71%, d 14.29%, CC 9.52%, Cc, 66.67%, cc 23.81%, EE 0.00%, Ee 47.62% and ee 52.38%. For lymphomas: D 83.33%, d 16.67%, 0.00% of CC, Cc 50.00%, cc 50.00%, EE 0.00%, Ee 50.00% and ee 50.00%.

Keywords

Hemotherapy; Rh phenotype; Blood transfusion

REFERÊNCIAS

1. Brener Vertchenko S. Doação de Sangue: Aspectos Sócio-econômicos, Demográficos e Culturais na região metropolitana de Belo Horizonte. 2005. 120 p. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
2. Jens E, Pagliarini T, Novaretti MC. Sistema de grupo sanguíneo Duffy: biologia e prática transfusional. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(2):110-9.
3. Oliveira Cavalcante F. Presença de aloanticorpos eritrocitários em gestantes Rh negativo, atendidas na Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas (HEMOAM). 2005. 102 p. Dissertação de Mestrado em Biotecnologia - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos, incluindo a coleta, o processamento, a testagem, o armazenamento, o transporte, o controle de qualidade e o uso humano de sangue, e seus componentes, obtidos do sangue venoso, do cordão umbilical, da placenta e da medula óssea. Resolução RDC n°153, de 14 de junho de 2004. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 2004, 72 p.
5. Diamed. Disponível em: <http://www.diamed.com.br/Cmi/Pagina.aspx?379>. Acesso em: 9 ago. 2010.
6. Carrazzone CFV, Brito AM, Gomes YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. Rev. bras. hematol. hemoter. 2004;26(2):93-8.
7. Martins PRJ, Alves VM, Pereira GA, Moraes-Souza H. Frequência de anticorpos irregulares em politransfundidos no Hemocentro Regional de Uberaba-MG, de 1997 a 2005. Rev. bras. hematol. Hemoter. 2008;30(4):272-6.
8. Beiguelman B. Os Sistemas Sanguíneos Eritrocitários. 3ª ed. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2003, 234p.
9. Girello AL, Kuhn TIBB. Fundamentos da imuno-hematologia eritrocitária. São. Paulo, Ed. Senac, 2002. 205p.
10. Harmening DM. Técnicas Modernas em Bancos de Sangue e Transfusão. 4ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2006. 594 p.

Correspondência

Michel Mansur Machado

Avenida Roraima, 1000, HUSM, Agência Transfusional

97010-002 – Santa Maria, RS

Tel. (55) 3220.8581

e-mail: michelmachado@globo.com

Comparação entre o diagnóstico citogenético e por biologia molecular das leucemias mieloides crônicas (LMC): uma revisão bibliográfica

Comparison between cytogenetic and molecular biology diagnosis of chronic myeloid leukemias (CML): a bibliographic review

Andrei Gustavo Bonavigo
Michele de Moraes Cardoso
Mychelle Carneiro Santana
Paulo Roberto Sarturi

Resumo

A informação genética contida no DNA, dentro do núcleo celular, é expressa sob a forma de proteínas. Qualquer alteração que ocorra no DNA gera uma desordem na célula, interferindo na sua produtividade e/ou atividade. O dano do DNA celular caracteriza a doença conhecida como câncer, em que células perdem a normalidade do seu ciclo celular e são capazes de migrar para outros tecidos e órgãos. A leucemia é um tipo de câncer que afeta a hematopoiese do sistema sanguíneo. A leucemia aguda é um evento maligno que ocorre num precursor hematopoiético muito inicial. A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença clonal da célula precursora da medula óssea, que pode ter como causa uma translocação recíproca entre os pares de cromossomos 9 e 22, ocorrendo o encurtamento dos braços longos de um dos cromossomos 22, caracterizando o cromossomo Philadelphia (Ph) t(9,22) q(34, q11). A anomalia citogenética move o proto-oncogene ABL de sua posição normal do cromossomo 9 para uma região de ponto de quebra do gene BCR, presente no cromossomo 22. O diagnóstico da LMC é extremamente importante para a caracterização da doença e a análise do tratamento. Portanto, objetiva-se realizar uma revisão bibliográfica sobre o diagnóstico laboratorial da doença, comparando os métodos de citogenética e biologia molecular na detecção da translocação t(9,22).

Palavras-chave

Leucemia mieloide crônica; BCR-ABL; Cromossomo Philadelphia.

INTRODUÇÃO

A identificação de processos de transformação neoplásica (proliferação celular anormal) passou por grandes avanços nas últimas décadas. O gene, que tem como efeito biológico a sua expressão sob forma de proteínas, está localizado no DNA, dentro do núcleo celular. Qualquer mutação que ocorra na estrutura genômica pode levar a alterações na síntese de suas proteínas correspondentes e interferir na sua quantidade ou atividade, gerando perturbações celulares.⁽¹⁾

Em um organismo normal, o ciclo de reprodução celular é controlado de tal maneira que as células formam comunidades minuciosamente organizadas. Entretanto, células que possuem genes mutados podem sofrer perda de controle da divisão mitótica, originando uma desordem na multiplicação das células descendentes, de modo que estas não respondem ou ignoram os sinais para que se diferenciem ou sofram apoptose (morte celular programada).^(2,3)

Estes genes mutantes ou defeituosos são chamados de oncogenes. Eles podem ser inativados ou aumentarem ainda mais a probabilidade de novas mutações. Segundo Harris, os genes supressores de tumores (exemplo: p53) que regulam a reprodução excessiva de células, quando sofrem inativação, têm interferência na transcrição e reparação do DNA no ciclo celular, na senescência, na apoptose e na segregação cromossomal, resultando na perda da normalidade dos mecanismos que freiam a proliferação celular. Já os proto-oncogenes são genes envolvidos especificamente no controle da proliferação e sua falha gera um aumento da sua atividade. Ambas mutações podem resultar em um câncer.⁽⁴⁻⁷⁾

O câncer é o nome dado a um conjunto de inúmeras doenças que têm em comum a danificação do DNA celular, com células que invadem tecidos e órgãos, podendo espalhar-se para outras regiões do corpo (metástases). Essas alterações no DNA podem ser consequência de uma mutação, translocação, amplificação, deleção ou de processos

epigenéticos herdáveis, podendo gerar células tumorais com cariótipos grosseiramente anormais. Quando é ativadora, a mutação apresenta um ganho de função na sequência que codifica o próprio oncogene. Já quando ocorre nos elementos regulatórios ou em elementos que aumentam o número de cópias genômicas, o resultado é uma função ectópica desregulada do produto oncogênico.⁽⁶⁻⁹⁾

Strachan & Read⁽⁹⁾ ressaltam que o efeito dominante dos oncogenes acontece ao nível celular. Apenas um alelo mutante é capaz de iniciar uma mudança no fenótipo da célula, que passa de normal para maligno (no caso dos supressores de tumor, normalmente é preciso perder as duas cópias do gene). Oncogenes ativados, codificadores de proteínas, podem agir em várias etapas que controlam o crescimento celular (fatores de crescimento, receptores e proteínas citoplasmáticas, fatores de transcrição e proteínas que evitam apoptose).⁽⁹⁾

Em geral, é preciso o acúmulo de cinco a nove modificações genéticas numa determinada célula para permitir que a mesma adquira as características necessárias para escapar dos mecanismos normais de controle do crescimento e desenvolver um tumor maligno. A maioria das mudanças genéticas que levam a tumorigênese acontece por mutações em células somáticas, produzindo o que se conhece por tumores esporádicos. Essas mudanças podem ser consequência de uma série de agressões, incluindo toxinas ambientais, como as da fumaça de cigarro, dano ao DNA decorrente da radiação ultravioleta, ou à baixa, mas significativa, taxa de mutação espontânea associada à replicação e ao reparo do DNA.⁽⁷⁾

Dentre os diferentes tipos de câncer, as leucemias são um importante grupo de doenças malignas que afeta o sistema sanguíneo. A hematopoiese normal exige a proliferação controlada e a diferenciação ordenada de células hematopoiéticas pluripotentes para que elas se transformem em células maduras do sangue periférico. A leucemia é o resultado de um, ou uma série de eventos genéticos, em um precursor hematopoiético (*stem cell*), que faz com que a célula afetada e sua descendência seja altamente proliferativa e indiferenciada. No caso das leucemias agudas, o evento maligno ocorre num precursor hematopoiético muito inicial. As células alteradas continuam a proliferar, mas não se diferenciam, o que resulta no rápido acúmulo de células mieloides ou linfoides imaturas na medula. As leucemias crônicas também são neoplasias clonais das células hematopoiéticas, mas as células malignas são mais diferenciadas, com morfologia mais próxima ao normal. Assim, essas doenças caracterizam-se pela proliferação excessiva de células relativamente maduras, que se parecem com neutrófilos normais (na leucemia mieloide crônica), com linfócitos normais (na leucemia linfóide crônica), com hemácias normais (na policitemia vera) ou com plaquetas normais (na trombocitemia essencial).^(7,10)

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma doença clonal da célula precursora da medula óssea, que frequentemente apresenta uma translocação recíproca entre os pares de cromossomos 9 e 22 e que resulta no encurtamento visível dos braços longos de um dos cromossomos 22. O cromossomo anormal t(9,22) q(34;q11) resultante é denominado cromossomo Philadelphia (Ph) e se apresenta pequeno e acrocêntrico. Neste caso, ocorre uma translocação dentro de íntrons de dois genes, que se fusionam em um gene anormal e codificam uma proteína com propriedades oncogênicas. A anomalia citogenética move o proto-oncogene ABL de sua posição normal do cromossomo 9 para uma região de ponto de quebra do gene BCR, presente no cromossomo 22, com função desconhecida. A justaposição das sequências resulta na síntese de uma proteína quimérica maior, que tem sua atividade tirosina quinase aumentada, constituindo o evento primário causador da leucemia crônica e observado em 90% dos pacientes. Essa leucemia apresenta três fases distintas: uma fase crônica ou estável, uma fase acelerada e uma fase aguda. A fase crônica é caracterizada pelo excessivo número não só de células mieloides, mas também de células eritroides e plaquetas no sangue periférico e intensa hiperplasia da medula óssea. Após um intervalo de tempo de aproximadamente quatro a seis anos (podendo variar) em fase crônica, a doença entra na fase de aceleração e, em seguida, na fase aguda (leucemia aguda) invariavelmente fatal, também conhecida como crise blástica da LMC.^(7,9,10)

O diagnóstico laboratorial da LMC é extremamente importante para a caracterização da doença e a análise do tratamento que será aplicado. Durante mais de uma década, análises citogenéticas têm sido utilizadas como método de monitoramento do tratamento quimioterápico em pacientes afetados. Entretanto, esse procedimento necessita de aspiração da medula, o que é invasivo ao paciente e frequentemente doloroso, além de incluir uma elevada taxa de falhas na obtenção de metástases analisáveis. Com o método de *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), é observada uma correlação com resultados citogenéticos, de forma que o mesmo se mostra superior aos outros métodos devido à sua sensibilidade de detecção do rearranjo, tornando-se um método padrão altamente sensível para detecção de LMC e muito útil na detecção de células leucêmicas residuais após quimioterapia ou transplante de medula óssea, bem como na confirmação de diagnósticos citogenéticos iniciais duvidosos. A partir desta técnica pode-se obter com rapidez sequências de cadeias de DNA complementares (cDNA) para amplificar mutações e identificá-las. Utiliza-se apenas um RNA mensageiro (RNAm) isolado como molde, a partir de um tecido de origem conveniente (neste caso o sangue). O RNAm é convertido em cDNA pela transcriptase reversa e posteriormente é usado como molde para reação de PCR.^(9,11,12)

A técnica de *Real Time - PCR* (ou PCR tempo real) trata de uma técnica desenvolvida com base no RT-PCR. É mais um método que pode ser utilizado e que torna os resultados ainda mais sensíveis, mas necessita de *primers* marcados e de termociclador especial para detecção, sendo capaz de medir a quantidade de cDNA ou RNAm de uma amostra, detectando uma célula leucêmica em 10⁵ células normais. Essa detecção do RNA BCR-ABL por PCR confere alta sensibilidade e especificidade, o que o torna particularmente útil para o acompanhamento da doença residual mínima.^(13,14)

Durante sua realização, o acúmulo de amplicons é detectado em "tempo real", para cada ciclo da reação, por meio da excitação de fluorocromos que marcam sondas sequência-específicas ou *primers* usados na reação.

O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão bibliográfica da literatura sobre o diagnóstico laboratorial da LMC, comparando os métodos de citogenética e biologia molecular na detecção da translocação dos cromossomos 9 e 22.

MATERIAL E MÉTODOS

Para a realização deste trabalho foi feita uma revisão da literatura sobre o diagnóstico da LMC. Por meio de base de dados, foram pesquisados artigos científicos no período de junho a agosto de 2010, que relatam sobre o diagnóstico laboratorial da LMC por citogenética e PCR. A partir da análise de uma lista de referência de artigos selecionaram-se os trabalhos mais relevantes publicados entre os anos de 1999 e 2008. Esses trabalhos foram analisados e os resultados, discussões e conclusões foram descritos a seguir.

RESULTADOS

A leucemia mieloide crônica (LMC) é caracterizada em 95% dos casos pela presença de uma translocação recíproca entre os cromossomos 9 e 22, que resulta em um cromossomo marcador chamado "Philadelphia" (Ph1). Devido ao fenômeno de edição do RNA, transcritos de fusão envolvendo éxons diferentes do gene BCR podem ser formados, sendo os principais do tipo b2a2 e b3a2, originando uma proteína quimérica de 210 Kd (P210BCR-ABL). Muitas técnicas específicas têm sido introduzidas para detectar as translocações ou os produtos do cromossomo Philadelphia. O diagnóstico geralmente requer a análise citogenética e a pesquisa do RNAm do gene BCR-ABL no sangue periférico ou na medula óssea.⁽¹⁵⁾

Rotineiramente, a citogenética é recomendada para a detecção da translocação clássica t(9;22)(q34;q11) e anormalidades adicionais que possam aparecer na evolução da LMC para fases avançadas. A análise citogenética da medula óssea pode ser feita pelo método convencional, pela

hibridação *in situ* detectada por fluorescência (FISH) ou por biologia molecular, através da reação em cadeia da polimerase (PCR).⁽⁸⁾

A citogenética convencional tem a vantagem de não necessitar de qualquer tipo de sonda, apresentando, portanto, o menor custo. Ela deve ser sempre realizada para o estudo de outras alterações citogenéticas, mas não é o exame de escolha regular para a detecção da t(9;22). O uso de transcrição reversa associada a PCR em tempo real tornou a quantificação de RNAm mais simples e precisa. A PCR em tempo real requer uma plataforma de instrumentação que contém um termociclador acoplado a um sistema ótico para a excitação da fluorescência e captura da emissão, além de um computador para aquisição de resultados e análise final da reação.⁽⁸⁾

A sensibilidade da PCR em tempo real depende da integridade do RNAm utilizado na análise e é determinada por meio de experimentos de diluição feitos com a amostra do próprio paciente ou um padrão de referência, ou seja, uma linhagem celular ou plasmídeos contendo a sequência gênica de interesse. Fatores que interferem na integridade do RNAm, como atraso na extração e no transporte de amostras, podem causar interferência também nos resultados da PCR em tempo real. Recentemente foi descrita a presença do transcrito p190BCR-ABL em baixos níveis no momento do diagnóstico em pacientes com LMC M-bcr p210BCR-ABL. O fato da quantidade da p190BCR-ABL parecer estar relacionada com a da p210BCR-ABL levanta a hipótese de que a detecção do transcrito p190BCR-ABL durante o acompanhamento do paciente estaria relacionada com um aumento de carga tumoral durante a evolução da doença, enquanto o paciente permanece em remissão. Portanto, pensou-se na utilização da presença de p190 como marcador de recaída.⁽¹⁶⁾

DISCUSSÃO

A RT-PCR qualitativa, que avalia a presença ou ausência dos transcritos BCR-ABL, foi introduzida no final de 1980, mas logo em 1992 foi superada pela PCR quantitativa (*Real Time - PCR* ou PCR - tempo real ou RQ-PCR, normalmente usa-se RT-PCR também para se referir à *Real Time*, daí a confusão de termos), que garante informações muito mais precisas, oferecendo a vantagem de ser facilmente padronizada. Em breve o método quantitativo deverá ser utilizado na rotina clínica, não apenas no diagnóstico da LMC, mas, também, nas demais leucemias que apresentam marcadores moleculares reconhecidos, pois esta metodologia permite a quantificação dos produtos de amplificação gênica em todas as fases de uma reação de PCR.^(8,16)

A partir da análise dos resultados, observa-se que a maior parte dos estudos recomenda que a citogenética

convencional seja realizada para o estudo de outras alterações citogenéticas, mas não como exame para a detecção da t(9;22).

Os pacientes com LMC devem ser seguidos com realização do cariótipo até o desaparecimento do cromossomo Ph, e então, por testes quantitativos moleculares para BCR-ABL por PCR. Recomenda-se a realização do cariótipo, mesmo após sua negativação, pelo menos uma vez ao ano, no sentido de se detectarem precocemente evoluções clonais que podem representar a iminência de uma crise blástica.⁽¹³⁾

CONCLUSÃO

A partir dos dados e estudos analisados, conclui-se que, para avaliação e diagnóstico da LMC, o método PCR-tempo real é o mais indicado. Apesar de ter o custo mais elevado, apresenta-se mais eficaz na detecção do diagnóstico por ser altamente específico, preciso e conclusivo. Além destas características, oferece a quantificação, um dado importante para o monitoramento do estado do paciente, tanto na fase crônica, como na fase aguda da doença.

A análise do cariótipo, embora tenha um custo mais baixo e não necessite de marcadores, tem alto índice de resultados duvidosos, podendo ser realizada em conjunto com o teste molecular para a confirmação de diagnóstico ou durante o acompanhamento da evolução da doença.

Agradecimentos

Agradecimentos à Faculdade Assis Gurgacz e ao Professor Ms. Paulo Roberto Sarturi pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

Abstract

The genetic information contained in the DNA within the cell nucleus is expressed in the form of proteins. Any change that occurs in the DNA generates a disorder in the cell, interfering in its productivity and / or activity. The damage of cellular DNA characterizes the disease known as cancer, where cells predict the normality of their cell cycle and are able to migrate to other tissues and organs. Leukemia is a type of neoplasm that affects the hematopoiesis of the blood system. Acute leukemia is a malignant event that occurs in a very early hematopoietic precursor. Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal disease of the precursor cell of the bone marrow that can cause a reciprocal translocation between the pairs of chromosomes 9 and 22, shortening the long arms of one of the chromosomes 22, which characterizes the Philadelphia chromosome (Ph) t(9;22)(q34; q11). Myeloid leukemia (CML) is a clonal disease of the precursor cell of the bone marrow the cytogenetic anomaly moves the ABL proto-oncogene from its normal position on chromosome 9 to a breakpoint region of the BCR gene, present on chromosome 22. The diagnosis of CML is extremely important for the characterization of the disease and the analysis of the treatment. Therefore, a bibliographical review on the laboratory diagnosis of the disease was carried out, comparing the methods of cytogenetics and molecular biology in the detection of translocation t(9;22).

Keywords

Chronic Myeloid Leukemia; BCR-ABL; Philadelphia Chromosome

REFERÊNCIAS

1. Rivoire WA, Capp E, Corletae HVE, Silva ISB. Bases biomoleculares da oncogênese cervical. Rev Bras de Cancerol. 2001 abr-jun;47(2):179-84.
2. Lopes AA, Oliveira AM, Prado CB. Principais genes que participam da formação de tumores. Revista de Biologia e Ciência da Terra. 2002;2(2).
3. Pratt CW, Cornely K. Bioquímica Essencial. 1ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006, p. 533.
4. Harris CC. Structure and function of the p53 tumor suppressor gene: clues for rational cancer therapeutic strategies. J Natl Cancer Inst. 1996 Oct 16;88(20):1442-55.
5. De Robertis EMF, HIB J. Bases da Biologia Celular e Molecular. 2ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2001, p. 318.
6. Nussbaum RL, Mcinnes RR, Williard HF. Genética na Medicina. 7ª edição. Rio de Janeiro, Elsevier, 2008, 365 p.
7. Pollock RE, et al - Manual de Oncologia Clínica da União Internacional Contra o Câncer. 8ª edição. São Paulo, Fundação Oncocentro de São Paulo, p. 693 a 708, 2006.
8. Almeida PSR, Saddi VA. Monitoramento de doença residual mínima em leucemia mieloide crônica por PCR em tempo real. Rev. bras. hematol. hemoter. 2007;29(4):387-91.
9. Strachan T, Read AP. Genética Molecular Humana. 2ª. edição. Porto Alegre: Artmed, 2002, 459p.
10. Barbosa LP, Souza JM, Simões FV, Bragança IC, Abdelhay E. Análise dos transcritos da translocação t(9;22) em Leucemia Mieloide Crônica - Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto. 2000;22(2):89-98.
11. Henry JB. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 19ª edição. São Paulo, Editora Manole, p. 457 a 461, 1999.
12. Lima AO, Soares JB, Greco JB, Galizzi J, Cançado JR. Métodos de laboratório aplicados à clínica - técnica e interpretação. 8ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2006. 979 p.
13. Hamerschlak N. Leucemia: fatores genéticos e prognósticos - J. Pediatr. (Rio J.) 2008;84(4) suppl.:S52-S57.
14. Schaffel R, Simões BP. Leucemia Linfoblástica Aguda Filadélfia positiva - Rev. bras. hematol. hemoter. São Paulo, Abr 2008 ;30(suppl. 1): 52-58.
15. Andrade GV. Papel da P190 BCR-ABL como parâmetro de recaída na leucemia mieloide crônica P190 BCR-ABL. Rev. bras. hematol. hemoter. 2008;30(4):297-302.
16. Grando AC, Wagner SC. Avaliação laboratorial da doença residual mínima na leucemia mieloide crônica por Real-Time PCR. J Bras Patol Med Lab. 2008;44(6):433-40.

Correspondência

Andrei Gustavo Bonavigo

Curso de Pós-Graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas

Faculdade Assis Gurgacz

Av. das Torres, 500 – Cascavel, PR

andreibonavigo@hotmail.com

Prevalência de traço falciforme em doadores de sangue no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí - Hemopi

Sickle cell trait prevalence in blood donors at the Center of Hematology and Hemotherapy in the state of Piauí - Hemopi

Ivna Cardoso Campos¹

Tatiana Vieira Souza Chaves²

Veronésia Maria de Sena Rosa³

Ana Amélia de Carvalho Melo Cavalcante⁴

Iraildo Bezerra de Lima⁵

Resumo

A anemia falciforme (HbS) é considerada a doença hematológica de maior frequência. Indivíduos homocigóticos (HbSS) apresentam a doença em diversos graus de gravidade, enquanto que os heterocigóticos (HbAS) são clinicamente e hematologicamente normais, sendo aptos à doação de sangue. Entretanto, o sangue contendo HbS apresenta restrições de uso devido ao potencial de falcização no receptor. O trabalho objetivou verificar a prevalência de HbS em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí, em virtude de reduzidos dados no estado. Foi realizado um estudo transversal, de outubro a dezembro de 2009, onde foram incluídos mil doadores atendidos no hemocentro. A triagem de HbS foi feita através da eletroforese de hemoglobina. A prevalência encontrada na população estudada foi de 5,6%, estando de acordo com os dados da literatura para o Nordeste. Ocorreu prevalência de HbS em etnia mestiça (87,5%), no gênero, masculino (72,5%) e na faixa etária entre 18 a 25 anos (44%). Em estatísticas avaliadas, não foram observadas correlações entre sexo e etnia. Entretanto, significativa correlação foi observada em relação à faixa etária. Com a frequência obtida no estudo, mostra-se a importância da triagem de doadores quanto ao aconselhamento genético, permitindo o uso adequado do sangue a ser transfundido.

Palavras-chave

Hemoglobina S; Traço falciforme; Doadores de sangue; Prevalência.

INTRODUÇÃO

Anemia falciforme, também conhecida como drepanocitose, é uma hemoglobinopatia genética, isto é, uma doença herdada através da transmissão de genes de pais para filhos, que causa alteração na conformação espacial da molécula de hemoglobina, responsável direto pelo transporte de oxigênio nas hemácias. Foi descrita inicialmente em 1910, em Chicago, nos Estados Unidos, em um paciente negro procedente de Granada, com uma síndrome composta por dor óssea, anemia grave, palpitações, dispneia e icterícia.⁽¹⁾

Pertence ao grupo das hemoglobinopatias estruturais, devido a uma mutação ocorrida no gene da cadeia β da hemoglobina, localizado no braço curto do cromossomo 11, que determina a troca de apenas um aminoácido em rela-

ção à cadeia β normal (valina no lugar do ácido glutâmico, na posição 6), produzindo a cadeia β s. Em pacientes homocigotos (HbSS) para este gen, desenvolve-se a anemia falciforme, por predomínio da hemoglobina S (HbS) e inexistência de hemoglobina A (HbA), predominante em pessoas normais.⁽¹⁾

É considerada a doença hematológica hereditária mais comum da humanidade, mais prevalente em negros e naqueles com ascendência negra. De acordo com Paiva e Silva et al.⁽²⁾ no Brasil, afeta 0,1% a 0,3% da população negroide e, em decorrência da miscigenação, este índice é parecido em pardos, estando também presente na população caucasóide brasileira.

O traço falciforme, forma heterocigótica da doença (HbAS), caracteriza o portador assintomático, laboratorialmente representado pela associação das hemoglobinas

¹Biomédica – Formada pela Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – Novafapi – Teresina - PI, Brasil.

²Farmacêutica-Bioquímica. Mestre em Farmacologia Clínica pela Universidade Federal do Ceará e Docente do Curso do curso de Biomedicina da Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – Novafapi – Teresina - PI, Brasil.

³Psicóloga. Especialista em educação em saúde pública e gestão pública em serviços de saúde, gerente de planejamento e sistemas de qualidade do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – Hemopi – Teresina - PI, Brasil.

⁴Bióloga. Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul e Docente do curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPI e do Curso de Biomedicina da Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí – Novafapi – Teresina - PI, Brasil.

⁵Farmacêutico-Bioquímico. Especialista em hematologia e infecção hospitalar. Bioquímico responsável pelo setor de hematologia do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí – Novafapi – Teresina - PI, Brasil.

A e S ou HbAS. A concentração da HbS no traço falciforme é sempre menor que a da HbA, variando entre 30% e 40%. Eventualmente, quando associado com anemia ferropriva ou talassemia alfa, a concentração da HbS pode se situar abaixo de 30%. Geralmente detecta-se o portador de HbAS em estudos populacionais e pré-natal, ou em análises de familiares com membros portadores do gene da HbS.⁽³⁾

De acordo com o Ministério da Saúde, estima-se, no Brasil, a prevalência de portadores de traço falcêmico (heterozigotos HbAS) em 2%, número que cresce para 6% entre os negros, permitindo calcular em mais de 2 milhões o número de portadores do gene da HbS e em 8 mil os afetados com a forma homozigótica, o que torna a anemia falciforme um problema de saúde pública no Brasil.⁽⁴⁾ Estudos epidemiológicos sobre a doença falciforme ainda são reduzidos, não havendo até meados dos anos 90 qualquer programa oficial de saúde pública voltado para os indivíduos portadores desta doença; em muitos estados, as notificações ainda são deficientes, dificultando assim o perfil epidemiológico da doença.^(5,6)

O diagnóstico da anemia falciforme é composto de testes laboratoriais inespecíficos, como o hemograma, o esfregaço sanguíneo e o teste do afoiçamento, e de testes específicos, como a eletroforese de hemoglobina e o teste de solubilidade, que identificam hemácias falcizadas e a HbS no sangue. O hemograma destes pacientes revela anemia moderada, índices hematimétricos normais (anemia normocítica e normocrômica). Há presença de reticulocitose, como em toda anemia hemolítica. O esfregaço de sangue periférico revela presença de drepanócitos (presentes em qualquer variante falcêmica); sua ausência, porém, não descarta a anemia falciforme. Outros achados são leptócitos, corpúsculos de Howell-Jolly e de Peppenheimer, policromatofilia, eritroblastose, leucocitose neutrofílica e trombocitose. O diagnóstico de certeza é feito pela eletroforese de hemoglobina.⁽³⁾

Em decorrência da grande morbidade intrínseca de tal doença, o diagnóstico de portadores de HbSS sintomáticos e o rastreamento de portadores do traço falcêmico em serviços de hematologia públicos é de enorme valia no manejo desta doença tão limitante. Permite o tratamento otimizado destes doentes e o aconselhamento genético dos portadores de HbS na forma heterozigótica quanto às implicações sobre sua saúde e seu planejamento familiar.⁽⁷⁾

Diante da paucidade de estudos no estado do Piauí sobre este tema, da necessidade de melhoria constante da qualidade do sangue a ser transfundido, da importância dessa doença, da possibilidade de aconselhamento genético para aquelas famílias com portadores do traço falcêmico e da relevância do estudo para a saúde pública é que nos propomos a desenvolver o presente estudo, com o objetivo de determinar a prevalência do gene da HbS em doadores de sangue no Centro de Hematologia e Hemoterapia do

Piauí - Hemopi e verificar a correlação com as características da população estudada.

MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo transversal para avaliar a prevalência do traço falcêmico em doadores de sangue atendidos no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado do Piauí - Hemopi, durante o período de 28 de outubro a 31 de dezembro de 2009, submetido à apreciação e aprovação do Conselho de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde, Ciências Humanas e Tecnológicas do Piauí - Novafapi (nº. 0243.0.043.000-09).

No estudo foram incluídos os doadores considerados elegíveis pelos critérios do hemocentro: doadores aqueles com mais de 50 kg, com idade acima de 18 anos, hemoglobina entre 13,0 g/dL e 17,0 g/dL para homens e para as mulheres entre 12,0 g/dL e 16,0 g/dL, além de aptos na triagem clínica. A seleção dos participantes foi feita de maneira aleatória, uma vez por semana, sendo sorteado um dia na semana, e, nesse dia, um turno de doação.

A caracterização da população estudada foi feita mediante as informações cadastradas nos prontuários dos doadores, a partir do banco de dados do hemocentro coordenador, seguindo a padronização do banco de cadastros criado pelo Datasus/Hemovida. As variáveis utilizadas no estudo foram: idade, sexo e grupo racial. Devido à variável raça estar classificada em várias etnias, para este estudo, consideraram-se os grupos de acordo com a classificação utilizada no hemocentro: caucasiano, caucasiano brasileiro, negro, amarelo, índio e mestiço.

Para a pesquisa da presença de HbS em cada doador, foram colhidos 4 mL de sangue em tubos contendo EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid*) como anticoagulante e utilizou-se o sistema de coleta a vácuo. As amostras foram preservadas a 4°C até o momento da realização do exame de eletroforese de hemoglobina.

A eletroforese é considerada o melhor método para separação e identificação de hemoglobinopatias. A hemoglobina é uma proteína carregada negativamente e a eletroforese de hemoglobina em pH alcalino parte desse princípio, uma vez que, durante a corrida eletroforética, essas proteínas migram para o pólo positivo. As hemoglobinas com defeitos estruturais causados por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoeletrônicos vão apresentar mudanças em suas cargas elétricas, resultando na ocorrência de diferentes mobilidades.⁽³⁾

Para a avaliação das bandas de hemoglobina, são feitas duas análises: uma qualitativa, onde se verifica a presença de bandas de hemoglobina, e uma quantitativa, na qual se determina a porcentagem relativa de cada banda de hemoglobina. Para análise estatística, os resultados foram processados no programa "SPSS" (versão 10.0) para

caracterização da amostra e correlações de Spearman entre as variáveis pela frequência e estatística descritiva. A associação entre as variáveis foi feita com o teste do qui-quadrado.⁽²⁾ Os gráficos com média e desvio padrão para as variáveis e a significância foram processados no Graphpad Prism (versão 5.0).

RESULTADOS

As características da população de doadores do hemocentro do Piauí no período de outubro a dezembro de 2009 se apresentam da seguinte forma: a maior prevalência de doadores (38,9%) situa-se na faixa etária entre 26 e 35 anos, seguida dos grupos entre 18 e 25 anos (32,4%), entre 36 e 45 anos (18,5%) e 46 e 66 anos (10,2%) (Tabela 1). A maioria dos doadores é do gênero masculino (72,5%) (Tabela 1). Em relação ao grupo étnico, houve predomínio dos mestiços (86,4%), seguidos dos caucasianos (11,3%), negros (1,5%), índios (0,6%) e amarelos (0,2%) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características gerais da população de doadores do Hemopi no período de outubro a dezembro de 2009

Características da população	Frequência	Percentual (%)
Idade		
18-25 anos	324	32,4
26-35 anos	389	38,9
36-45 anos	185	18,5
46-66 anos	102	10,2
Total	1000	100
Sexo		
Masculino	725	72,5
Feminino	275	27,5
Total	1000	100
Grupo étnico		
Amarelo	2	0,2
Negro	15	1,5
Caucasiano	113	11,3
Índio	6	0,6
Mestiço	864	86,4
Total	1000	100
HbS		
Positiva	56	5,6
Negativa	944	94,4
Total	1000	100

A prevalência do traço falcêmico na população de doadores do hemocentro foi relativamente alta. Entre os mil doadores estudados, 56 (5,6%) apresentaram resultados positivos para a HbS no exame de eletroforese de hemoglobina em pH alcalino. Quanto a positividade da HbS de acordo com a idade, 44,7% dos casos positivos estão situados na faixa etária entre 18 e 25 anos, 23,2% entre 26 e 35 anos, 21,4% entre 36 e 45 anos e 10,7% estão na faixa etária de 46 a 66 anos (Tabela 2).

Tabela 2 - Associação da positividade da HbS com o total de doadores do Hemopi, no período de outubro a dezembro de 2009, de acordo com a faixa etária

Faixa Etária	HbS Positiva n (%)	HbS Negativa n (%)
18-25 anos	25 (44,7)	299 (31,6)
26-35 anos	13 (23,2)	376 (39,8)
36-45 anos	12 (21,4)	173 (18,3)
46-66 anos	6 (10,7)	96 (10,1)
Total	56	944

DISCUSSÃO

Em nosso país, segundo o Ministério da Saúde, mais de 2 milhões de pessoas são portadoras do traço falciforme e cerca de 8 mil apresentam anemia falciforme. Estima-se, a cada ano, o nascimento de setecentas a mil crianças portadoras de doença falciforme e 200 mil com o traço falciforme. A hemoglobina S tem uma importância relevante, principalmente pela sua frequência e morbidade no Brasil. Em decorrência da grande miscigenação da população brasileira, a prevalência do gene HbS possui ampla variação nas diferentes regiões do país, sendo mais frequente onde a proporção de antepassados negros da população é maior, variando entre 1% e 2% na região sul, e entre 6% e 10% na região nordeste.^(3,8-10) Nesta região, observa-se o surgimento de um novo caso de doença falciforme para cada mil nascimentos e a presença de um portador do traço falciforme em cada 27 nascimentos, constituindo um verdadeiro problema de saúde pública.⁽¹¹⁾

Neste trabalho, a triagem de portadores do traço falciforme foi feita mediante a realização do exame de eletroforese de hemoglobina em pH 8,5. Esta metodologia é baseada no complexo de interações de hemoglobinas com um tampão eletroforético alcalino e um suporte de agarose. Em meio alcalino, a hemoglobina é uma proteína carregada negativamente e, quando submetida a um campo elétrico, migra em direção ao pólo positivo. As hemoglobinas com defeitos estruturais apresentam, entretanto, diferentes mobilidades quando comparadas à hemoglobina normal durante a eletroforese, fato que se deve às substituições de aminoácidos com diferentes pontos isoelétricos, o que permite a identificação das diversas variantes desta molécula em mais de 85% dos casos.⁽¹²⁾ Por isso é considerado o melhor método para triagem de hemoglobinopatias isoladamente, uma vez que as análises podem ser efetuadas com rapidez e relativo baixo custo, quando comparado aos métodos de triagem que utilizam a associação de diferentes técnicas de identificação de hemoglobinas variantes.⁽¹³⁾

De acordo com a portaria RDC 343, de 13 de dezembro de 2002,⁽¹⁴⁾ "todo sangue a ser coletado, processado e transfundido, deve apresentar boa qualidade, não podendo ser, portanto, veículo de propagação de patologias". Esta portaria recomenda também que seja realizada a detecção

de HbS em doadores de sangue. Os pesquisadores decidiram realizar o presente estudo com o intuito de cumprir essa portaria e com o objetivo de melhorar a qualidade do sangue a ser transfundido.

O objetivo dos programas de triagem para a detecção de hemoglobinopatias é a busca de doentes e de portadores da forma heterozigótica da doença, para se fazer o aconselhamento genético desses indivíduos. Tem como objetivo a orientação dos mesmos sobre a tomada de decisões em relação à reprodutividade e ajuda para a compreensão dos outros aspectos da doença. Apresenta um caráter assistencial, pois o foco é a tomada de decisões conscientes e equilibradas a respeito da procriação, sendo diferente da eugenia, pois visa primordialmente a defesa dos interesses dos pacientes e da família, e não da sociedade.⁽⁷⁾ A grande prevalência do traço falciforme no nosso país, em especial na região nordeste, reforça a importância dessa detecção.⁽³⁾

Até o momento, há poucos relatos e divulgações de estudos realizados no Piauí na literatura. Desta forma, este estudo também oferece uma boa contribuição no sentido de fornecer dados de grande utilidade para os administradores de saúde, pois podem permitir efetivo planejamento de programas educacionais e de prevenção.

Os dados obtidos através do exame de eletroforese de hemoglobina sugerem que 5,6% dos doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí - Hemopi são portadores do traço falcêmico (Tabela 1). Segundo Naoum,⁽³⁾ a prevalência média de portadores desse traço no Brasil é de 2,1%. Nas regiões nordeste e sudeste esta prevalência sobe para valores médios acima de 5%, sendo estas duas regiões as que apresentam maior frequência de HbS.^(3,9,15) Um estudo realizado no ano de 2008 sobre a prevalência de hemoglobinas variantes em doadores de sangue no mesmo hemocentro mostra que 3,4% de mil amostras analisadas apresentaram positividade para a HbS.^(6,10)

Destarte, a prevalência do traço falcêmico obtida neste estudo pode ser considerada alta se comparada à média nacional, sendo concordante, porém, com os valores existentes para a região nordeste. Esta foi a região que recebeu o maior fluxo de escravos durante a era colonial e, conseqüentemente, o maior número de seus descendentes encontra-se nela. Tal dado pode explicar o fato de a prevalência em nosso estudo encontrar-se próxima à prevalência do traço falciforme para a população negra.

Segundo os dados obtidos do estudo, embora o maior número de doadores se encontre na faixa etária entre 26 e 35 anos (38,9%) (Tabela 1), a maior prevalência de portadores do traço falcêmico encontra-se na faixa etária entre 18 e 25 anos (44,7%) (Tabela 2), sendo esta diferença estatisticamente significativa. Isto pode apontar para um possível aumento da incidência do traço falcêmico, reforçando

ainda mais a necessidade da criação de políticas públicas voltadas para a melhoria do sangue a ser transfundido e o aconselhamento genético dessa população. É válido, entretanto, ressaltar que os portadores de HbS são considerados aptos à doação de sangue. Porém a utilização do sangue contendo HbS apresenta restrições de uso, devido ao potencial de falcização no receptor, além de dificuldades operacionais durante a leucorredução de concentrados de hemácias.⁽⁴⁾

O gênero masculino corresponde a 72,5% dos doadores (Tabela 1), abrigando também a maioria dos portadores da HbS (71,9%) (Tabela 3), porém, quando se compara a prevalência do traço falcêmico por sexo (masculino - 5,9% e feminino - 4,7%), observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa, uma vez que os genes que controlam a síntese da cadeia β da hemoglobina não são ligados ao sexo.

Tabela 3 - Distribuição da positividade de HbS em doadores do Hemopi, no período de outubro a dezembro de 2009, de acordo com o sexo e a etnia

Características	HbS negativa n (%)	HbS positiva n (%)
Sexo		
Masculino	682 (71,9)	43 (76,8)
Feminino	262 (28,1)	13 (23,2)
Total	944 (100)	56 (100)
Etnia		
Amarelo	2 (0,2)	-
Negro	13 (1,4)	2 (3,5)
Caucasiano	108 (11,4)	5 (8,9)
Índio	6 (0,6)	-
Mestiço	815 (86,3)	49 (87,5)
Total	944 (100)	56 (100)

(1) $\chi^2 = 0,248$, gL=1, valor de p= 0,618 e (2) $\chi^2 = 2,33$ gL=4, valor de p=0,67

Quando se comparou a prevalência da HbS de acordo com o grupo étnico, observou-se maior prevalência no grupo negro (13,3%) em relação aos demais, seguido pelo grupo mestiço (5,7%) e caucasiano (4,4%) (Tabela 4). Deve-se chamar atenção para os seguintes fatos: os mestiços representam a maioria da população do estudo. A informação sobre a etnia é obtida questionando-se o doador e o fato de que este grupo abrange os mulatos claros, médios e escuros, refletindo assim a grande miscigenação da população nordestina.

Tabela 4 - Comparativo da positividade da HbS com o total de doadores do HEMOPI de acordo com a etnia

Etnia	HbS Positivo (%)	HbS Negativo
Negro	2 (13,3%)	13
Mestiço	49 (5,7%)	815
Caucasiano	5 (4,4%)	108
Índio	0	7
Amarelo	0	2
Total	1000 (100%)	1000

CONCLUSÃO

No estudo sobre a prevalência de traço falciforme em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí - Hemopi, a frequência de HbS encontrada no estudo (5,6%) está de acordo com os dados encontrados na literatura para a região nordeste, provavelmente devido à miscigenação racial e à grande demanda de antepassados negros na região, o que ressalta a importância da implantação de programas de triagem para a detecção de hemoglobinopatias na população doadora de sangue, com o objetivo de orientar os mesmos na tomada de decisões quanto à sua procriação, com um caráter assistencial. Esse estudo colabora com o aprimoramento na qualidade do sangue a ser transfundido, fato de grande importância para a saúde pública, uma vez que existem poucos registros de análises de dados atuais relacionados ao conhecimento e controle da prevalência do traço falciforme no estado, e as notificações sobre essa hemoglobinopatia ainda são deficientes em alguns estados do Brasil.

Agradecimento

Esse artigo teve participação suportada pela Secretaria Estadual da Saúde através do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí, Teresina-PI; os autores agradecem a todos os integrantes e técnicos relacionados ao trabalho pelo apoio e participação na obtenção dos dados para a conclusão desse estudo.

Agradecimentos

Agradecimentos à Faculdade Assis Gurgacz e ao Professor Ms. Paulo Roberto Sarturi pelo apoio ao desenvolvimento da pesquisa.

Abstract

Sickle cell anemia is considered a hereditary blood disease of highest frequency. Homozygous individuals (HbSS) show the disease in various degrees of severity; whereas, the heterozygous ones (HbAS) are clinically and hematologically normal being able to donate blood. However the blood of individuals containing HbS has limitations of use due to the sickling potential of the receiver. This study aimed to determine the prevalence of HbS in blood donors of the Hematology and Hemotherapy Center of the state of Piauí, on account of the reduced of updated data in this state. This was a transverse study, during the period of October until December of 2009, which included 1000 blood treated in the blood center. The screening was made through of hemoglobin electrophoresis. The prevalence of HbS in the population examined was 5.6%, which is consistent with the literature data for the northeast. Prevalence of HbS occurred in mixed ethnicity (87.5%), according to gender, male (72.5%), and aged between 18 and 25 (44%). In statistics evaluated no significant correlations between gender and ethnicity. However significant correlation was observed in relation of age. Upon the average obtained in this research, it's revealed the importance of the screening of donors regarding genetic counseling for appropriate quality of blood to be transfused.

Keywords

Hemoglobin S; Sickle cell trait; Blood donors; Prevalence

REFERÊNCIAS

1. Benz EJ. Hemoglobinopatias. In: Harrison, Tratado de Medicina Interna. 16ª ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill Interamericana, 2006.
2. Paiva e Silva RB, Ramalho AS, Cassoria RMS. Anemia falciforme como problema de saúde pública no Brasil. Rev. Saúde. Pública. 1993;27:54-8.
3. Naoum PC. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997.
4. Grignani CAC, Iamamoto C, Gonçalves T, Mashima D, et al. Prevalência de traço falciforme em doadores de sangue da região de Londrina - Paraná. RBAC. 2006;38(4): 259-62.
5. Soares LF, Oliveira EH, Lima IB; Silva JM, Mota JT, Bonini-Domingos CR. Hemoglobinopatias variantes em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Piauí (Hemopi): Conhecendo o perfil epidemiológico para construir a rede de assistência. Rev. bras. hematol. hemoter. 2009;31(6):471-2.
6. Diniz D, Guedes C. Confidencialidade, aconselhamento genético e saúde pública: um estudo de caso sobre o traço falciforme. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro. 2005;21(3):747-55.
7. Coelho GO. A importância do aconselhamento genético na Anemia Falciforme. Ciência & Saúde Coletiva. Rio de Janeiro: 2007.
8. Zago MA, Silva Jr WA, Franco RF. Hemoglobinopathies and other hereditary hematological diseases in the Brazilian population. Pathology and Human-Parasite Interactions. 1999;51:227-34.
9. Lima RCF, Castro EFP, Nobrega MS. Triagem de hemoglobinas anormais em crianças e adolescentes. NewsLab 2006;76:130-40.
10. Soares LF, et al. Da mãe África aos filhos Brasil: expressão da herança genética para a anemia falciforme em estudantes do curso de farmácia da Universidade Federal do Piauí. RBAC. 2009; 41(3):235-7.
11. Lobo C. Defeitos hereditários das hemoglobinopatias. In: Lopes CA. Tratado de clínica médica. São Paulo: Roca, 2006.
12. Domingos CRB, Zamaro AJP, Ondeí LS. A importância do diagnóstico laboratorial clássico na identificação de variantes de hemoglobina. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(1):72-74.
13. Bandeira FMGC, Leal MC, et al. Características de recém-nascidos portadores de hemoglobina S detectada através de triagem em sangue de cordão umbilical. J Pediatr (Rio J) 1999; 75:167-71.
14. Brasil, Ministério da Saúde. RDC n° 343. Brasília, 2002.
15. Watanabe AM. Prevalência da anemia falciforme no estado do Paraná. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Interna. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2007.

Correspondência

Tatiana Vieira Souza Chaves

Faculdade - Novafapi - Coordenação de Biomedicina
Rua Vitorino Orthiges Fernandes, 6123 - Bairro do Uruguai
64057-100 - Teresina-PI

Avaliação de plaquetas relacionada à anemia ferropriva

Evaluation of platelet related to iron deficiency anemia

Dione da Silva

Resumo

A anemia é um grave problema de saúde que atinge milhares de pessoas no mundo todo, sendo que a anemia ferropriva corresponde por cerca de 50% das anemias. De acordo com a literatura, a anemia por deficiência de ferro é acompanhada por um aumento na contagem de plaquetas. Neste trabalho, foram avaliados 100 pacientes de ambos os sexos e idades entre 1 a 89 anos, com níveis de hematócrito, hemoglobina e ferritina abaixo dos valores de referência. Apenas 1% (n=1) dos casos avaliados apresentou contagem de plaquetas superiores a 450.000 μ /L e 6% (n=6) dos casos apresentaram contagem de plaquetas abaixo do valor de referência 150.000 a 450.000 μ /L. O valor médio de plaquetas para o grupo estudo foi de 263,3 \pm 76,7, enquanto que o valor médio de plaquetas para o grupo controle foi de 221,4 \pm 45,6. No presente trabalho foi observado que não houve um número significativo de casos onde a anemia ferropriva fosse acompanhada de contagem elevada de plaquetas

Palavras-chave

Anemia ferropriva; Trombocitose; Plaquetas

INTRODUÇÃO

A anemia é um problema de saúde pública, ocasionando consequências graves na saúde humana, no desenvolvimento social e econômico, afetando tanto países desenvolvidos como subdesenvolvidos.^(1,2)

Sendo as anemias decorrentes de diferentes fatores, a anemia por deficiência de ferro corresponde a 50% dos casos, e acredita-se que este tipo de anemia afete mais de 2 milhões de pessoas no mundo.⁽¹⁻⁴⁾

Os trombócitos ou plaquetas são fragmentos discoides provenientes da fragmentação do citoplasma dos megacariócitos, são responsáveis pela hemostasia primária (função de adesão e agregação), participam da hemostasia secundária (correlacionam-se como os fatores da coagulação), estão envolvidas nos mecanismos de trombose e são causas de patologias tanto pela diminuição do seu número (trombocitopenia ou plaquetopenia), quanto pelo seu aumento.⁽⁵⁻⁸⁾

Apesar das poucas pesquisas existentes sobre a relação da anemia ferropriva e o comportamento das plaquetas, muitos autores afirmam que perante um estado de anemia ferropriva (anemia por deficiência de ferro) existe uma plaquetose ou trombocitose,^(6,7,9-19) porém, na prática, existem poucos trabalhos sobre o assunto, bem como estudos mais aprofundados.

Esta pesquisa foi realizada com o intuito de verificar se na prática laboratorial existe realmente o aumento do número plaquetário em pacientes com anemia ferropriva, descrevendo a importância da anemia e da trombocitose como problema de saúde mundial, bem como consequências na saúde humana, além de diferenciar e demonstrar as melhores metodologias empregadas no diagnóstico de anemia ferropriva e plaquetometria avaliando e descrevendo o comportamento das plaquetas em um grupo de cem pacientes com anemia ferropriva.

MATERIAL E MÉTODOS

Com os dados cedidos pelo Laboratório PR Análise - Análises e Pesquisas Clínicas, foram analisados os exames de ferritina e hemograma de 1.581 pacientes de ambos os sexos, com idades entre 1 e 89 anos, no período de dezembro de 2009 a junho de 2010, dos quais foram selecionados 100 com anemia ferropriva, e 100 controles (o processo de inclusão e exclusão para o Grupo Estudo e Controle pode ser visto na Tabela 1 e Fluxograma 1).

Os pacientes com anemia ferropriva foram classificados pelos níveis de hematócrito e hemoglobina, de acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde e pelos níveis de ferritina no soro, sendo sua medição particularmente valiosa na distinção entre as anemias por deficiên-

¹Biomédico, Especialista em Análises Clínicas pelo Instituto Brasileiro de Pós-graduação Extensão (IBPEX). Especialista em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial pelo Instituto de Pesquisa e Educação em Saúde de São Paulo (IPESP).

Artigo recebido em 18/03/2011

Artigo aprovado em 28/09/2016

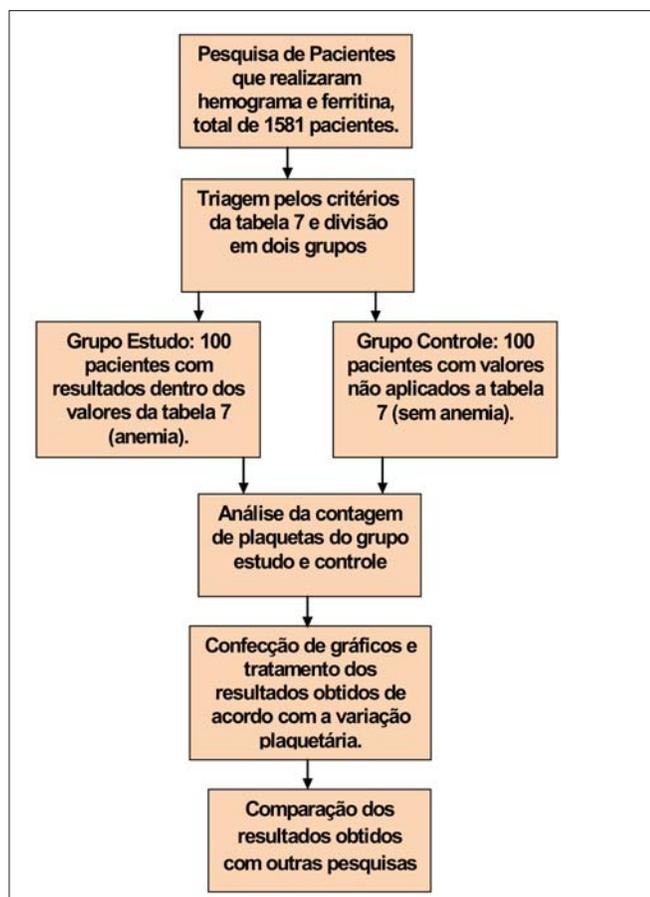
cia de ferro causadas por baixas reservas de ferro e as anemias que resultam de uma utilização de ferro. A seguir encontra-se a tabela utilizada para classificação de pacientes com anemia ferropriva:

Tabela 1 - Níveis de hemoglobina, hematócrito e ferritina utilizados para classificar pacientes com Anemia Ferropriva

Grupos	Hemoglobina (Hb)	Hematócrito (Ht)	Ferritina
Crianças de 6 meses a 5 anos	11 (g/dL)	33%	6 - 60 ng/mL
Crianças de 5 anos a 11 anos	11.5 (d/dL)	34%	6 - 320 ng/mL
Crianças de 12 anos a 13 anos	12 (g/dL)	36%	6 - 320 ng/mL
Mulheres adultas	12 (g/dL)	36%	10 - 291 ng/mL
Homens adultos	13 (g/dL)	39%	22 - 322 ng/mL

Fonte: Adaptado de Manual de Ensaio do ADVIA Centaur, 2008-2009⁽²⁰⁾ e OMS/UNICEF/ONU, 2004.⁽¹¹⁾

Para a classificação da variação na contagem das plaquetas foi utilizado como valor de referência a contagem de 150.000 a 450.000/ μ L, sendo valores abaixo de 150.000/ μ L classificados como trombocitopenia e valores acima de 450.000/ μ L classificados como trombocitose.⁽⁷⁾



Fluxograma 1. Processamento e metodologia simplificados

A dosagem de ferritina foi realizada pelo ADVIA Centaur por meio do método de imunoenensaio do tipo sanduíche, efetuado em dois locais que recorrem à tecnologia quimioluminométrica direta, a qual utiliza quantidades constantes de dois anticorpos antiferritina.⁽²⁰⁾

Já a dosagem de hemoglobina, hematócrito, bem como contagem de plaquetas foram realizadas pelo aparelho Cell Dym 3700, no qual a hemoglobina é feita pelo método de espectrofotometria, num canal do contador eletrônico que compartilha com os leucócitos, sendo a exatidão excelente com coeficiente de variação inferior a 2%.⁽¹¹⁾

Com a utilização destes dados, foi feita uma análise comparativa das dosagens observando se há variação na contagem de plaquetas (trombocitose) entre o Grupo Estudo e o Grupo Controle.

RESULTADOS

Na Figura 1 temos a classificação das plaquetas em percentual do Grupo Controle (n= 100), com idade entre 1 e 89 anos de ambos os sexos.

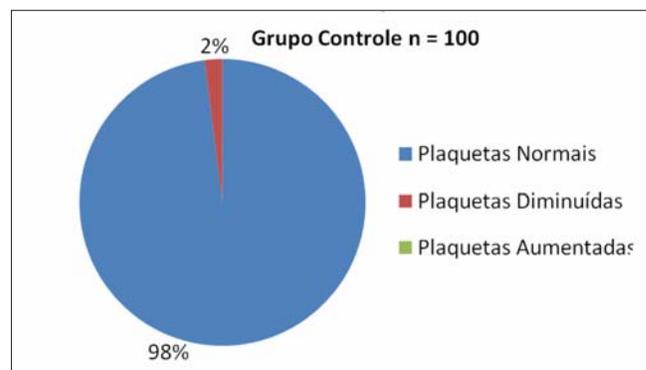


Figura 1. Anemia ferropriva x plaquetas – Grupo Controle.

A Figura 2 mostra a classificação das plaquetas em percentual do Grupo Estudo, sendo 100 pacientes (n=100) com anemia ferropriva, com idade entre 1 e 89 anos de ambos os sexos.

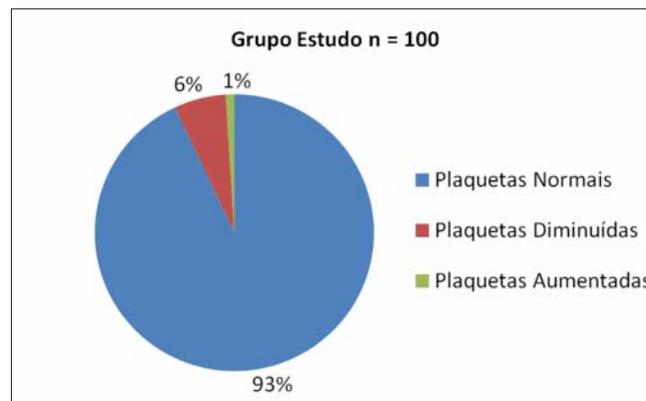


Figura 2. Anemia ferropriva x plaquetas - Grupo Estudo.

A Figura 3 mostra o gráfico do Grupo Controle em paralelo ao Grupo Estudo.

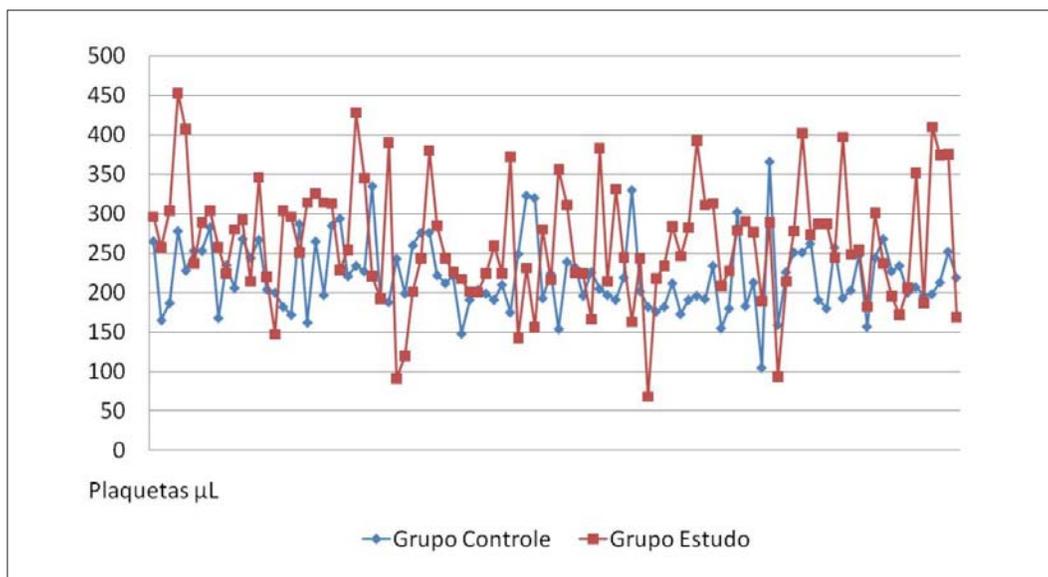


Figura 3. Grupo Controle x Grupo Estudo.

DISCUSSÃO

No Grupo Controle (Figura 1) todos os casos apresentaram hemoglobina, hematócrito e ferritina dentro dos valores de normalidade. Dos 100 casos avaliados, dois (2%) apresentaram contagem de plaquetas diminuídas, ou seja, abaixo de 150.000/ μ L. Não houve nenhum caso de trombocitose/plaquetose (contagem acima 450.000/ μ L). Houve 98 casos (98%) de contagem de plaquetas dentro dos valores normais de referência, sendo o valor médio das plaquetas no Grupo Controle de $221,4 \pm 45,6$.

O Grupo Estudo (Figura 2) apresentou 93% dos casos ($n=93$), que apresentaram contagem de plaquetas dentro dos valores normais de referência (150.000 a 450.000 μ L).

Houve 6% ($n=6$) de casos com trombocitopenia/plaquetopenia e apenas 1% ($n=1$) dos casos foi de trombocitose/plaquetose. O valor médio de plaquetas para o Grupo Estudo foi de $263,3 \pm 76,7$.

No gráfico apresentado na Figura 3 é possível visualizar que o Grupo Estudo (casos de anemia ferropriva) tende a variar na contagem de plaquetas tanto para mais quanto para menos, enquanto o Grupo Controle parece mais estável.

Devido à escassez de pesquisas sobre a plaquetometria relacionada a anemia ferropriva, e as poucas existentes utilizarem diferentes metodologias, fica difícil fazer uma correlação com outros estudos.

Apesar das limitações encontradas durante as pesquisas, seja pela escassez de trabalhos sobre o assunto, seja pela divergência de metodologias, ainda assim foi possível realizar um estudo comparativo com os principais

achados. Na visão do autor deste trabalho, tais diferenças são estatisticamente pouco relevantes no resultado final obtido.

CONCLUSÕES

No presente trabalho foi observado que não houve um número significativo de casos onde a anemia ferropriva fosse acompanhada de contagem elevada de plaquetas. Porém, pode-se observar que, em um estado de deficiência de ferro, as plaquetas se comportam de forma instável, tendo uma grande variação com tendência tanto para elevação como diminuição na contagem, ou seja, ela pode se apresentar tanto para plaquetose quanto para uma plaquetopenia.

Como ainda é desconhecido o processo de interação entre a variação plaquetária em conjunto com a série vermelha, fica difícil afirmar com precisão qual a real influência de uma anemia por deficiência de ferro na hemostasia das plaquetas, porém é possível observar com esse trabalho que ela ocorre. Sendo assim, tal pesquisa fica em aberto para a possibilidade de novos estudos mais aprofundados para entender tal relação.

Agradecimentos

A Leila Jaldim Borracha Gonçalves, Odair José Stumpher, IPESP, Laboratório PR Análise e minha família.

Abstract

Anemia is a serious health problem that affects thousands of people around the world, iron deficiency anemia represents about 50% of

anemias. According to the literature, iron deficiency anemia is accompanied by an increase in platelet count. In this study, 100 one hundred patients were evaluated for both sexes, aged 1-89 years, with levels of hematocrit, hemoglobin and ferritin below the reference values. Only 1% ($n = 1$) of the cases had a platelet count greater than 450,000 μL and 6% ($n = 6$) of cases had a platelet count below the reference value from 150,000 to 450,000 μL . The average count platelets for the study group was 263.3 ± 76.7 , while the average value of platelets in the control group was 221.4 ± 45.6 . In this study it was observed that there was no significant number of cases where the iron deficiency anemia was accompanied by elevated count of platelets.

Keywords

Iron deficiency; Thrombocytosis; Platelets

REFERÊNCIAS

1. Organização Mundial da Saúde e Unicef. Towards an integrated approach for effective anaemia control, 2004. Disponível em: <http://www.who.int/topics/anaemia/en/who_unicef-anaemiastatement.pdf>. Acessado em : 25/06/10.
2. Heijblom GS, Santos LMP. Anemia ferropriva em escolares da primeira série do ensino fundamental da rede pública de educação de uma região de Brasília, DF. Revista Bras Epidemiol 2007; 10: 258-66. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1415-790X2007000200013&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 31 Jul 2010.
3. WHO - World Health Organization, Global database on anaemia. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005. Disponível em : <http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241596657_eng.pdf>. Acessado em: 30/06/10.
4. WHO - Iron Deficiency Anaemia - Assessment, Prevention and Control. A guide for programme managers. Geneva; 2001. Disponível em http://www.who.int/nutrition/publications/en/ida_assessment_prevention_control.pdf>. Acessado em: 01/07/10.
5. Verrastro T, et al. Hematologia e Hemoterapia - Fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Atheneu, 1998.
6. Azevedo MRA. Hematologia Básica. Fisiopatologia e Estudo laboratorial. 3ª. ed. São Paulo:Luana, 2003.
7. Silva P. Henrique et al. Hematologia Laboratorial. Rio de Janeiro: ed. Revinter, 2009.
8. Bordin JO, et al. Hemoterapia: Fundamentos e Prática. São Paulo: ed. Atheneu, 2007.
9. Oliveira RA. Gomes et al. Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnósticos por Técnicas Laboratoriais. São Paulo: ed. Roca. 2004. p.230.
10. Zago MA. Falcão PR, Pasquini R. Hematologia: Fundamentos e Prática. São Paulo: Atheneu, 2001.
11. Failace R, et al. Hemograma: Manual de Interpretação. São Paulo: ed. Artmed, 2009.
12. Ogston D, Dawson AA. Thrombocytosis following thrombocytopenia in man. Postgrad Med J. 1969 Dec;45(530):754-6.
13. Information Center for Sickle Cell and Thalassemia Disorders. Iron Deficiency. Disponível em: <<http://sickle.bwh.harvard.edu/fe-def.html>>. Acessado em: 02/06/2010.
14. Choi SI, Simone JV. Platelet production in experimental iron deficiency anemia. Blood. 1973 Aug;42(2):219-28.
15. Choi SI, Simone JV, Jackson CW. Megakaryocytopoiesis in experimental iron deficiency anemia. Blood. 1974 Jan;43(1):111-20
16. Marmion LC, Desser KB, Lilly RB, Stevens DA. Reversible thrombocytosis and anemia due to miconazole therapy. Antimicrob Agents Chemother. 1976 Sep;10(3):447-9
17. Matos JF, Carvalho MG, Dusse LMS, Ferreira MFR, Stubbert RVB. O papel do RDW, da morfologia eritrocitária e de parâmetros plaquetários na diferenciação entre anemias microcíticas e hipocrômicas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(6):463-9.
18. Kadikoylu G1, Yavasoglu I, Bolaman Z, Senturk T. Platelet parameters in women with iron deficiency anemia. J Natl Med Assoc. 2006 Mar;98(3):398-402.
19. Perdigão, D. Karine. Avaliação de plaquetometria em pacientes com deficiência de ferro. São José do Rio Preto, 2003. Monografia de Pós-graduação Lato Senso em Hematologia Laboratorial, Academia de Ciência e Tecnologia.
20. Manual de Ensaio Advia Centaur. Ferritina, 2008-2009.

Correspondência

Dione da Silva

Rua Vicente Licínio, 99 - Tijuca
20270-902 – Rio de Janeiro-RJ, Brasil
e-mail rbac@sbac.org.br

Alterações hematológicas, terapia antirretroviral e exercícios físicos: impacto no paciente soropositivo

Hematological alterations, antiretroviral therapy and physical exercise: impact on seropositive patient

Kesiane Mayra da Costa*

Flávio Beno Fernandes¹

Patrícia Grolli Ardenghi²

Resumo

Objetivo: Visando pesquisar alterações hematológicas, terapia antirretroviral e exercício físico durante a infecção causada pelo HIV-1, foi realizado um levantamento bibliográfico, abordando a ligação destes assuntos ao vírus em questão. **Métodos:** Realizou-se uma investigação bibliográfica com base em artigos publicados entre os anos de 2000 a 2010. **Resultados:** Nas alterações hematológicas, a anemia e a leucopenia são classificadas como as mais frequentes. Em relação aos efeitos adversos causados pelo uso dos antirretrovirais, destaca-se o AZT da classe dos Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN), como principal droga supressora da medula óssea diminuindo a síntese da hematopoiese, e o efavirenz, da classe dos Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeos (ITRNN), apresentando cerca de 53% das alterações do SNC. Os exercícios físicos apresentam-se como uma alternativa para tentar amenizar as alterações metabólicas corpóreas causadas pelos antirretrovirais no que diz respeito às síndromes lipodistróficas. **Conclusão:** Após o advento da TARV, os soropositivos passaram a ter um prognóstico positivo em relação à qualidade de vida. No entanto, as alterações hematológicas e a lipodistrofia causadas por certas drogas levam o paciente a procurar alternativas para amenizar estes efeitos adversos, onde o exercício físico apresenta-se como uma alternativa para combater estas alterações.

Palavras-chave

HIV-1; Alterações hematológicas; Efavirenz; Zidovudina; Exercícios físicos

INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA, AIDS – *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) é uma doença pandêmica que tem como agente etiológico o vírus da imunodeficiência humana (VIH, HIV – *Human Immunodeficiency Virus*), um retrovírus que contém RNA, pertencente à subfamília *Lentivirinae*.⁽¹⁾

A AIDS é a manifestação clínica avançada decorrente de um quadro de imunodeficiência causado pelo HIV, que é transmitido pelas vias sexual, parenteral ou vertical. O HIV diferencia-se em tipo 1 e 2, sendo que o HIV-1 é o mais patogênico e o mais prevalente no mundo, e o HIV-2 é endêmico na África Ocidental, disseminando-se pela Ásia.⁽²⁾

O número de pessoas vivendo com HIV/AIDS em todo o mundo continuou a crescer em 2008, atingindo um número estimado de 33,4 milhões. O número de novas infec-

ções foi de 2,7 milhões, enquanto que a proporção de pessoas que morreram em decorrência da AIDS contabilizou 2,0 milhões. Estas estatísticas incluem todas as faixas etárias.⁽³⁾

A infecção pelo HIV-1 é caracterizada por uma contínua replicação viral e depleção dos linfócitos T CD4+, acarretando alterações imunológicas, infecções por patógenos oportunistas,⁽⁴⁾ neoplasias secundárias e doenças neurológicas.⁽²⁾ A carga viral e a contagem de células T CD4+ são marcadores prognósticos importantes para o monitoramento da infecção e acompanhamento da evolução da doença nesses pacientes. Outros fatores, como infecções oportunistas, marcadores de ativação imunológica e perda de peso dos pacientes também estão associados com a progressão da doença.⁽⁴⁾

As alterações hematológicas associadas a esta infecção são multifatoriais, mas são causadas principalmente pela diminuição da produção da síntese hematopoiética.⁽⁵⁾

¹Assessor médico do Laboratório Weinmann – Porto Alegre - RS, Brasil.

²Professora do curso de Biomedicina do Centro Universitário – Feevale – Novo Hamburgo - RS, Brasil.

*Trabalho final do Curso de Especialização em Análises Clínicas da Universidade Feevale – Novo Hamburgo - RS, Brasil.

Estudos epidemiológicos recentes têm relatado que a anemia é uma das manifestações hematológicas mais comuns causadas por esta infecção, com prevalência entre 63%-95%, dependendo do estado clínico do paciente.⁽⁴⁾

O melhor entendimento da patogenia da infecção, a descrição de marcadores precoces da evolução da AIDS (contagem dos linfócitos T CD4+ e da carga viral plasmática deste vírus), o estabelecimento das profilaxias das infecções oportunistas e o desenvolvimento do tratamento antirretroviral de alta eficácia (TARV) estão entre os grandes avanços nestas duas últimas décadas.⁽⁵⁾

O advento da TARV alterou a história natural da infecção pelo HIV-1, reduzindo a incidência de infecções oportunistas e melhorando as imunodeficiências.⁽⁶⁾ As classes de fármacos atualmente utilizados na TARV são: Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (ITRN); Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeos (ITRNN); Inibidores de Protease (IP); Inibidores da Entrada do HIV/Inibidores da Fusão.⁽⁷⁾

O efavirenz (EFZ) é uma das classes mais recentes de agentes antirretrovirais e está entre os medicamentos de primeira escolha no tratamento da AIDS. É um antirretroviral inibidor da Transcriptase Reversa Não Análogo de Nucleosídeos (ITRNN) do vírus da imunodeficiência adquirida.⁽⁸⁾

A zidovudina (AZT) tornou-se o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da AIDS e condições relacionadas a ela.⁽¹⁾ Os ITRN, classe da qual a AZT faz parte, são muitas vezes considerados a "espinha dorsal" do tratamento do HIV-1, e tipicamente duas drogas desta classe estão incluídas em regimes de coquetéis. O AZT é uma das escolhas por se tratar de uma medicação de baixo custo, principalmente quando distribuída em recursos públicos de países em desenvolvimento.⁽⁹⁾

Após o desenvolvimento da TARV, no ano de 1996, as manifestações clínicas decorrentes desta infecção tornaram-se menos frequentes, havendo uma melhoria do prognóstico e, conseqüentemente, da qualidade de vida do paciente soropositivo.⁽¹⁰⁾

A partir do ano de 1998, uma série de alterações anatômicas e metabólicas passou a ser descrita nos pacientes portadores de HIV/AIDS, particularmente naqueles em uso da TARV. Estas alterações anatômicas foram descritas de maneira genérica como lipodistrofia e/ou síndrome lipodistrófica. As alterações anatômicas compreendem uma lipodistrofia na região da face, membros superiores e inferiores e uma proeminência das veias superficiais, associadas ou não a um acúmulo de gordura na região do abdômen, região cervical (gibas) e nas mamas.⁽¹¹⁾

As alterações metabólicas compreendem um aumento sérico de lipídeos, intolerância a glicose, aumento da resistência periférica a insulina e *diabetes mellitus*, associadas ou não às alterações anatômicas.⁽¹²⁾ Ainda como alterações metabólicas e graves efeitos adversos, pode-se citar

a supressão da medula óssea e/ou anemia hemolítica que é evidenciada nestes pacientes.⁽⁴⁾

A mudança no estado físico/corporal tem sido uma característica central da infecção pelo HIV/AIDS. Até o ano de 1996, o interesse que norteava os estudos sobre exercício e HIV-1 estava fundamentalmente focado nas possíveis adaptações ao exercício dos sistemas imunológico e cardiovascular.⁽¹³⁾

A partir da cronicidade da infecção, o desenvolvimento de estratégias de intervenção que possam contribuir para a melhoria da aptidão física relacionada à saúde dos portadores constitui-se, cada vez mais, em um desafio para os profissionais da saúde.⁽²⁾ O exercício físico é citado como uma destas estratégias, sendo indicado para combater os efeitos adversos da TARV no documento *Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV*.⁽¹⁴⁾

MATERIAL E MÉTODOS

De acordo com as crescentes estatísticas ligadas ao HIV/AIDS e principalmente às diversas manifestações que esta doença apresenta, verificou-se a necessidade de se realizar uma investigação bibliográfica que abordasse mais profundamente as ligações deste vírus com as alterações hematológicas, o uso de medicamentos – especificamente efavirenz (ITRNN) e zidovudina (ITRN) –, bem como o impacto de exercícios físicos no paciente soropositivo.

Realizou-se uma investigação em artigos publicados entre os anos de 2000 e 2010 em diversos bancos de dados eletrônicos e sítios científicos de acesso livre e privado, havendo assim a seleção de material de âmbito nacional e internacional. A partir dos dados obtidos por esta pesquisa, foram lidos os resumos para uma triagem e seleção dos artigos, não havendo prioridade para qualquer tipo de estudo, mas desde que estes artigos selecionados fossem ligados ao tema abordado pelo presente trabalho. Os artigos foram classificados segundo seu nível de evidência e seu grau de recomendação.

RESULTADOS

A infecção pelo HIV/AIDS

A AIDS, causada pela infecção através do HIV, foi identificada no início da década de 1980.⁽⁷⁾ O HIV pertence à família *Retroviridae*, subfamília *Lentiviridae*, que causa efeitos citopáticos em curto prazo e uma infecção longitudinal persistente que culmina em um quadro geral que corresponde à AIDS.⁽²⁾

O alvo principal do vírus HIV-1 durante a infecção é o linfócito T CD4+. Por esta razão, o quadro clínico da AIDS é caracterizado em função da contagem sanguínea de linfócitos

T CD4+ no indivíduo infectado, da caracterização das condições clínicas relacionadas a esta infecção e, sobretudo, à contagem da carga viral plasmática.⁽¹⁾

O vírus infecta os monócitos, macrófagos, células dendríticas e, principalmente, os linfócitos T auxiliares-indutores, também denominados *T helper cells*, que são responsáveis pela modulação da resposta imunológica. Todas estas células têm um marcador fenotípico de superfície denominado CD4 (CD – *cluster of differentiation*), o qual é o receptor de alta afinidade da proteína gp120 do HIV. Há outro tipo de linhagem de células, os linfócitos T CD8+, que constituem a defesa do indivíduo gerada em consequência desta infecção. As células T CD8+, definidas como células citotóxicas, são responsáveis pela eliminação celular de patógenos ou células infectadas por vírus.⁽²⁾

A evolução natural da infecção pelo HIV-1 divide-se em infecção aguda, infecção assintomática/período de latência clínica e infecção sintomática.⁽¹⁵⁾ A infecção aguda ocorre após a transmissão viral, que se estabelece através da transferência de fluidos corporais de um indivíduo infectado para outro não infectado. As principais características são a viremia elevada, a resposta imunológica intensa, a depleção na contagem de T CD4+ e o aumento de T CD8+, culminando na disseminação do vírus pelo organismo, desta forma atingindo o sistema nervoso central (SNC) e os linfonodos (que serão utilizados como reservatórios). No final da infecção aguda ocorre uma diminuição e estabilização da viremia (mediada pelo desenvolvimento de anticorpos produzidos pelos linfócitos T CD8+) e a resposta imunológica.⁽²⁾

A infecção assintomática caracteriza-se por sintomas clínicos mínimos ou inexistentes, iniciando no 6º mês da infecção e se estendendo em média de cinco a nove anos, que culminam com a pessoa estando sintomática ou laboratorialmente doente. Nesta fase, o tecido linfoide atua como o maior reservatório do HIV-1 no organismo. Porém, com a evolução da infecção, ocorre a sua lenta e progressiva diminuição, e, como consequência, o vírus novamente é liberado na corrente sanguínea, aumentando a viremia plasmática.^(15,16)

A infecção sintomática caracteriza-se pela imunodeficiência grave e de difícil recuperação, em decorrência da elevação da viremia, geralmente com a contagem de células T CD4+ abaixo de 200/μL. Nesta fase, o indivíduo infectado pode apresentar um conjunto de sinais e sintomas com duração superior a um mês, tais como: mal-estar, sudorese noturna, *wasting syndrome* (síndrome da desnutrição), também denominada síndrome consumptiva relacionada à AIDS, na qual ocorre a caquexia superior a 10% associada a diarreia crônica ou fraqueza crônica e febre.^(15,17) AAIDS é o espectro final da infecção pelo HIV-1 e é caracterizada pelo desenvolvimento de doenças oportunistas ou contagem de células T CD4+ abaixo de 350/μL.⁽¹⁴⁾

Alterações hematológicas relacionadas ao HIV-1

As alterações hematológicas associadas à infecção pelo HIV-1 são multifatoriais, mas podem ser causadas principalmente pela diminuição da síntese hematopoiética associada a infiltração da medula óssea por neoplasias e outras infecções, ou por uso de medicamentos mielossupressivos. O aumento da destruição celular também ocorre devido à hemólise prematura no baço, presença de autoanticorpos, síndrome hemofagocítica, púrpura trombocitopênica trombótica ou medicamentos. A produção inefetiva também é um problema nestes pacientes, devido tanto a carências nutricionais crônicas quanto a déficits absorptivos de diferentes causas.⁽¹⁸⁾

A presença de citopenias, além da marcada diminuição de linfócitos T CD4+, sugere que os efeitos da supressão causada por esta infecção sobre as células da hematopoiese são muito mais abrangentes do que apenas o seletivo subconjunto de células T. O potencial de infecção por este vírus é capaz de atingir até mesmo as células mais primitivas da medula óssea.⁽¹⁹⁾

A anemia nos pacientes soropositivos está bem documentada, determinando menor sobrevida e maior risco de progressão para AIDS, particularmente as formas graves (definida como Hb < 8g/dL).⁽⁵⁾ A etiologia é de natureza multifatorial, podendo estar relacionada a infecções oportunistas, deficiências nutricionais (ferro, vitamina B12 e ácido fólico) devido a tumores no trato gastrointestinal ou diarreia,⁽¹⁸⁾ determinadas medicações (antibióticos e agentes antirretrovirais) e doenças invasivas na medula óssea, que provocam alterações nas células progenitoras. O próprio vírus acaba alterando a capacidade de ligação da cobalamina, comprometendo a síntese das cadeias de hemoglobina.⁽⁴⁾

A literatura sugere que a anemia pode estar relacionada com o efeito citopático do HIV-1 nos eritrócitos, além das alterações em células do estroma da medula óssea, com a presença de anticorpos antieritrocitários e a infecção de células progenitoras hematopoiéticas pelo vírus. A anemia é muito comum em adultos infectados, afetando cerca de 30% destes durante os primeiros anos em que se encontram assintomáticos, e 80%-90% com a progressão da doença. É considerada uma anemia de doença crônica, com predomínio de anemia normocítica normocrômica. Outras alterações, tais como anisocitose e poiquilocitose, também são relatadas na maioria dos casos.⁽²⁰⁾ Em relação às anemias, pode-se citar a disfunção da medula óssea provocada pelo vírus que, durante a infecção, provoca alterações na secreção de citocinas, imunoglobulinas e proteínas de fase aguda (APPs) como resposta do sistema imunológico da célula hospedeira.⁽²¹⁾

A associação entre o HIV-1 e trombocitopenia foi descrita pela primeira vez no ano de 1982.⁽⁹⁾ A trombocitopenia

é outra alteração hematológica relacionada ao vírus desde o início da descrição da doença e, muitas vezes, antes do aparecimento dos quadros clássicos da AIDS e indistinguível dos quadros de púrpura trombocitopênica. O quadro clínico em geral é leve, com contagem de plaquetas abaixo de 50.000/ μ L sendo raramente observada e com poucos casos descritos de sangramento importante.⁽⁵⁾

A causa mais comum da trombocitopenia é a púrpura trombocitopênica imune (ITP), que ocorre em 30% ou mais dos pacientes com AIDS. Embora ligeiramente mais prevalente naqueles com doença avançada, normalmente a ITP surge precocemente no curso da infecção e pode ser vista antes de outras manifestações de AIDS. A infiltração da medula por microrganismos infecciosos ou neoplasias, bem como o efeito adverso de certas drogas, também pode causar produção plaquetária alterada.⁽⁹⁾

Estima-se que somente 8% dos pacientes infectados apresentem algum evento hemorrágico, e o tratamento será necessário se os valores das plaquetas estiverem inferiores a 30.000/ μ L, ou se o mesmo estiver sintomático. Formas graves de plaquetopenia, em geral, estão associadas a outras citopenias, com especial importância em pacientes coinfectados com os vírus das hepatites B e C.⁽⁵⁾

A microangiopatia trombótica (TMA) é caracterizada pela anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, trombose microvascular e disfunção de alguns órgãos. É conhecida como uma das complicações da infecção pelo HIV-1, onde há lesão das células endoteliais e com isso ativação da agregação plaquetária na microcirculação. A longo prazo, o prognóstico da TMA é desfavorável e pode depender do estágio da infecção. Esta síndrome é definida como uma lesão da parede vascular, onde há o espessamento intraluminal e com isso agregação de plaquetas formando o trombo (trombo hialino) e, por seguinte, a oclusão vascular. O prognóstico geral desta complicação é menos favorável para pacientes com TMA relacionado ao HIV-1 se comparado a indivíduos com TMA idiopática, pois está relacionada com a profunda imunodeficiência.⁽²²⁾

A trombocitose pode ser atribuída a perda de controle da produção pela medula óssea após a infecção pelo vírus, bem como a perda de ferro, a deficiência de vitamina E e ao uso de drogas mielossupressoras.⁽²⁰⁾ A leucopenia é observada com frequência em indivíduos infectados pelo HIV-1, e os valores dos leucócitos durante o curso da infecção encontram-se abaixo de 4.000/ μ L. O declínio dos neutrófilos costuma ser de maior impacto no hemograma em relação ao declínio dos linfócitos, visto que no curso da infecção há uma perda maior de linfócitos T CD4+ e o aumento de T CD8+, caracterizando uma "falsa" população normal de linfócitos.⁽²³⁾

De acordo com Daminelli et al,⁽⁴⁾ o vírus exerce efeito direto sobre a hematopoiese. Desta forma, poderia haver

comprometimento na síntese de novas células na medula óssea nos estágios iniciais da infecção, causando uma redução significativa de leucócitos e eritrócitos.

Pacientes que apresentam altas ou baixas contagens de linfócitos T CD4+ associadas com baixas contagens de leucócitos têm um prognóstico pior do que indivíduos que apresentam altas contagens de leucócitos, pois sugere-se que a baixa contagem de leucócitos está associada à progressão da doença independentemente da contagem de T CD4+. Portanto, a baixa contagem de leucócitos apenas reflete uma fase mais avançada da doença nos pacientes onde a data da soroconversão não foi claramente estabelecida.⁽²³⁾

As causas de baixas contagens absolutas de neutrófilos em pacientes com HIV-1 incluem a inibição da granulopoese pelo vírus quando se infiltra na medula óssea, por microrganismos infecciosos, neoplasias ou efeito adverso de drogas, ou até mesmo neutropenia autoimune.⁽⁹⁾ Contudo, a eosinofilia evidenciada em alguns pacientes é o resultado de parasitoses intestinais, ou até mesmo da sensibilização pelo uso de medicações.⁽²⁰⁾

A síndrome hemofagocítica é uma complicação rara da infecção, que se caracteriza por proliferação de histiócitos e, conseqüentemente, fagocitose de células da medula óssea precursoras do sangue. O paciente apresenta-se geralmente com febre,⁽⁹⁾ pancitopenia,⁽²⁴⁾ linfadenopatia e esplenomegalia. A síndrome pode ocorrer em decorrência simplesmente da infecção pelo vírus ou em associação com doenças oportunistas.⁽⁹⁾

TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Um dos maiores desafios da indústria farmacêutica atualmente é a descoberta de uma terapia capaz de curar a infecção pelo HIV e, conseqüentemente, a AIDS, porém, enquanto esta descoberta não ocorre, novos fármacos capazes de aumentar a sobrevida dos pacientes infectados por este vírus são comercializados.⁽²⁵⁾ A partir do desenvolvimento da TARV, em 1996, as manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV-1 tornaram-se menos frequentes, havendo uma melhoria do prognóstico e, por conseguinte, da qualidade de vida do paciente soropositivo.⁽¹⁰⁾

O principal objetivo do desenvolvimento desta terapia é a inibição da replicação viral⁽²⁶⁾ para retardar a progressão da imunodeficiência e restaurar a imunidade.⁽¹⁰⁾ Infelizmente, a resistência viral, a toxicidade dos fármacos e a necessidade de elevada adesão ao tratamento permanecem como as principais dificuldades ao sucesso da TARV.⁽²⁷⁾ Os ITRN compõem uma classe de medicamentos que têm como função farmacológica incorporar-se ao material genético (DNA) do vírus, resultando em DNA incompleto, incapaz de criar novos vírus.^(7,28) Entre os diversos fármacos desta classe, encontra-se a zidovudina.

O AZT foi sintetizado inicialmente como um agente antitumor que apresentava atividade antirretroviral contra vírus de leucemia em murinos. Ele demonstrou atividade inibitória contra o HIV-1 *in vitro* e tornou-se o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da AIDS e condições relacionadas a ela.⁽¹⁾ Este sucesso inicial estimulou a avaliação da atividade anti-HIV de diversos análogos de nucleosídeos, sendo então atualmente utilizados seis ITRNs: zidovudina (AZT), didanosina (ddl), zalcitabina (ddC), estavudina (d4T), lamivudina (3TC) e abacavir (ABC), que atuam de forma similar a outros agentes antivirais.⁽⁷⁾

O AZT precisa sofrer fosforilação intracelular para ser convertido em sua forma 5'-trifosfato, a qual atua como um inibidor competitivo ou um substrato alternativo da transcriptase reversa (RT). Se o inibidor for incorporado à cadeia de DNA, torna-se impossível a continuidade do crescimento desta; assim, os ITRNs atuam como terminadores de cadeia.⁽¹⁾ Os Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeos⁽⁷⁾ ou Não Nucleosídeos (ITRNN) inibem diretamente a enzima responsável pela conversão do RNA viral para DNA, impedindo sua incorporação ao material genético da célula.^(8,25,28)

No final da década de 80, dois compostos foram identificados como potentes protótipos anti-HIV em programas de seleção de culturas de células infectadas. Posteriormente, foi verificada a alta potência e especificidade destes compostos na inibição da transcriptase reversa do HIV. A descoberta destes novos inibidores estimulou o rastreamento de novos compostos com atividade semelhante. Estes derivados foram qualificados como ITRNN, e atualmente mais de trinta classes distintas de compostos apresentando esta atividade farmacológica foram identificadas.⁽¹⁾ Três destes compostos, efavirenz (EFZ), nevirapina (NVP) e delavirdina, foram aprovados para o tratamento da infecção.⁽⁷⁾

A principal vantagem dos ITRNN sobre os inibidores nucleosídicos da RT é que não necessitam de uma etapa inicial de ativação intracelular, isto é, fosforilação. Os ITRNNs não interagem com o sítio ativo da RT, mas sim com um sítio de ligação alostérico, localizado a aproximadamente 10.000 pm de distância do sítio catalítico.⁽¹⁾

Com o advento da TARV, o perfil de evolução do HIV/AIDS mudou drasticamente, apresentando reduções significativas das taxas de morbidade e mortalidade. No entanto, estes benefícios têm se associado a múltiplos efeitos adversos, que podem afetar todos os sistemas corpóreos e variam de toxicidade grave a eventos desconfortáveis, mas manejáveis,⁽¹²⁾ assim apresentando novas perspectivas para os pacientes.⁽²⁹⁾

Os sintomas mais comuns que aparecem com o uso do AZT incluem febre, calafrios, inflamação da garganta, palidez, cansaço ou fraqueza incomum, alteração no trânsito intestinal, desconforto, dor de cabeça severa, perda ou

diminuição da força, inflamação muscular, náusea, insônia, vômito, perda de peso,⁽¹²⁾ além de toxicidade mitocondrial, toxicidade hepática, miopatia, neuropatia periférica e pancreatite.⁽⁷⁾

O uso do AZT também está ligado a diversas alterações hematológicas, que são descritas por diversos autores. Muitos pesquisadores concordam que, em alguns casos, a zidovudina é contraindicada como adjuvante na terapia do vírus HIV-1 por se tratar de uma droga supressiva da medula óssea.⁽²⁹⁾ A rota intravenosa do AZT está associada a casos de toxicidade hematológica, incluindo neutropenia e anemia severa.⁽¹²⁾ O uso deste deve ser suspenso quando ocorrer anemia e/ou neutropenia após seu início, desde que exista uma tendência consistente de queda dos glóbulos vermelhos e/ou brancos que leve a potencial prejuízo ao paciente.⁽³⁰⁾

Anteriormente, o uso concomitante de agentes antirretrovirais com a quimioterapia em pacientes em estado avançado de AIDS era considerado prática clínica padrão, mas, com o surgimento dos efeitos adversos, especificamente a zidovudina tornou-se uma exceção devido à supressão da medula óssea.^(31,32)

Entre os antirretrovirais, o AZT pode causar toxicidade medular, mais comumente expressa por anemia durante as seis primeiras semanas de terapia. Fadiga é o sintoma mais frequente relatado em casos de anemia, porém seu agravamento pode levar a insuficiência cardíaca e risco de vida.⁽¹²⁾ O AZT possui um perfil de toxicidade menos favorável e também hematológico associado ao seu uso. Recomenda-se evitar o uso de zidovudina em casos de anemia (Hb <10 g/dL) e/ou neutropenia (neutrófilos <1.000/ μ L).⁽³⁰⁾

O estudo das reações adversas do EFZ se faz bem oportuno, por tratar-se de um fármaco muito utilizado na terapia antirretroviral.⁽²⁵⁾ Os sintomas mais comuns ligados ao EFZ são a depressão, *rash* cutâneo, diarreia, tonturas, sonolência, fadiga, dor de cabeça, sudorese, dificuldade de concentração e insônia, alterações de humor, irritação, hipertrigliceridemias, pensamentos suicidas, redistribuição ou acúmulo de gordura corporal.⁽¹²⁾

O exantema ocorre com frequência em cerca de 27% dos pacientes, e também foram relatadas erupções fatais, como a síndrome de Stevens Johnson, aumento de transaminases hepáticas e níveis séricos elevados de colesterol.⁽²⁵⁾ A toxicidade hematológica é menos evidenciada com o uso do EFZ do que com o AZT.⁽³³⁾

Os efeitos adversos mais relacionados ao EFZ, como tonturas,⁽³⁴⁾ alterações do sono, sonhos vívidos e alucinações, costumam desaparecer após as primeiras duas a quatro semanas de uso. A indicação do efavirenz deve ser evitada em pessoas que necessitam ficar em vigília durante a noite, devido aos riscos ocasionados pelos efeitos neuropsiquiátricos.⁽³⁰⁾

Contudo, os efeitos adversos mais importantes relacionados a esta droga são observados no SNC. Até 53% dos pacientes apresentam alguns efeitos colaterais do SNC ou psiquiátricos, porém menos de 5% interrompem o uso do fármaco por este motivo. A sua administração inicial tem sido associada a episódios de psicose fraca (depressão, alucinação e/ou mania).⁽²⁵⁾

Dentre os transtornos psiquiátricos mais comumente observados em indivíduos infectados pelo HIV-1, a depressão é a mais prevalente, merecendo investigação sistemática de sintomas depressivos nesta população. À medida que a infecção evolui, cresce a probabilidade de aparecimento de síndromes mentais orgânicas próprias da doença, portanto é necessário investigar a indução de sintomas depressivos por medicamentos.⁽²⁸⁾

Pacientes tratados com EFZ relataram níveis mais elevados de estresse e ansiedade, assim como uma maior taxa de sonhos estranhos do que os pacientes não tratados com este medicamento.⁽³⁵⁾ Os pacientes soropositivos podem apresentar desordens neurológicas de várias etiologias: infecciosas, degeneração axonal induzida pelo vírus e neuropatia tóxica associada aos antirretrovirais.⁽¹²⁾

O vírus do HIV-1 produz mudanças em estruturas como gânglios da base, tálamo e lobo frontal, que podem levar a transtornos de motivação e humor. Este processo, no início da infecção, tende a ser contido pelo próprio organismo, porém, com o avançar da doença, o próprio sistema imune pela liberação de citocinas pode contribuir para o aparecimento dos sintomas de uma síndrome caracterizada por: apatia, sintomas depressivos, abandono das atividades habituais, mudanças na personalidade e dificuldade em administrar conhecimentos adquiridos. Este quadro é conhecido como demência associada ao HIV-1, e os sintomas, principalmente nos estágios iniciais, podem ser semelhantes ao quadro depressivo.⁽²⁸⁾

Conforme comentado, a infecção assume características crônico-degenerativas, com efeitos relacionados ao convívio ao longo do tempo com o vírus, suas comorbidades e a repercussão imunológica, além da ocorrência dos efeitos adversos do tratamento. Tais efeitos ocasionaram o surgimento de novas características nessa população, muitas delas acarretando condições estigmatizantes, como o que ocorre com a lipodistrofia, que muitas vezes compromete a qualidade de vida e a autoestima. Outros, como a síndrome metabólica, exigem modificações nos hábitos de vida e muitas vezes manejo farmacológico para prevenção de eventos cardiovasculares e outros.⁽³⁰⁾

O AZT, em relação aos efeitos adversos metabólicos, a longo prazo causa a lipoatrofia,⁽³⁶⁾ geralmente sendo evidenciada antes de um ano de uso.⁽⁷⁾ Seu aparecimento deve acarretar a troca por outro ITRN com menor perfil de toxicidade.⁽³⁰⁾ Este efeito adverso também já foi observado em crianças quando em uso da zidovudina.⁽³⁶⁾ O EFZ também

exerce efeitos adversos metabólicos, que incluem hipertrigliceridemias, má absorção de alimentos, redistribuição ou acúmulo de gordura corporal.⁽¹²⁾

O impacto dos exercícios físicos em relação às alterações metabólicas causadas pela TARV

A partir da introdução da TARV, houve significativa melhora na sobrevivência das pessoas portadoras do HIV-1. Por outro lado, passou a ser relatada uma série de alterações no metabolismo e na distribuição da gordura corporal, descritas como lipodistrofia ou síndrome lipodistrófica.^(37,38)

O efeito colateral, que vem deixando muitas pessoas soropositivas com pernas, braços, nádegas e rosto fino, e abdômen, tórax e nuca com concentração excessiva de gordura,⁽³⁹⁾ leva estes indivíduos a se defrontar novamente com a possibilidade de morte social e a enlutar-se antecipadamente com medo do preconceito e discriminação, causando assim alteração no sentido da vida e da própria existência.⁽³⁷⁾

Não se conhece ainda o mecanismo exato que leva ao desenvolvimento das alterações anatômicas e metabólicas nestes pacientes. Várias hipóteses têm sido levantadas, mas, individualmente, nenhuma delas explica todos os aspectos destas alterações, sendo provavelmente multifatoriais.⁽¹¹⁾

A lipodistrofia em pacientes soropositivos foi inicialmente relacionada ao uso dos antirretrovirais, porém estas alterações já foram descritas em pacientes que não fazem uso destas drogas, sugerindo o envolvimento de outros mecanismos, tais como citocinas pró-inflamatórias, fatores ambientais e genéticos. O tecido adiposo é o que mais contribui para os aspectos clínicos e metabólicos da síndrome, pois sofre influências a partir da célula progenitora até a diferenciação em adipócito maduro, e são esses mecanismos de diferenciação dos adipócitos os principais alvos de ação dos antirretrovirais.⁽³⁸⁾

Caracteriza-se como lipo-hipertrofia o acúmulo de gordura visceral no abdômen, subcutânea, nas mamas e na região cervical (giba), além de lipomas.⁽³⁰⁾ A lipo-hipertrofia está relacionada ao uso de IPs em qualquer parte do tronco e pescoço. Há relatos também de pseudoginecomastia em pacientes utilizando efavirenz (ITRNN).⁽³⁸⁾

A lipoatrofia caracteriza-se por perda de gordura nas pernas, braços, gordura glútea e, sobretudo, na face.⁽³⁰⁾ Esta alteração metabólica está correlacionada não só com a própria infecção pelo HIV-1, mas também com o uso de ITRN, por ação direta da droga no metabolismo celular ou por depleção do DNA mitocondrial (toxicidade mitocondrial), com conseqüente perda da função da célula adiposa. Estudos recentes demonstram que o EFZ também está associado ao aparecimento e à progressão da lipoatrofia.⁽³⁸⁾

Entre as mudanças corpóreas, deve ser ressaltada a lipoatrofia facial, que se apresenta com a perda progressiva da gordura da região malar (gordura de Bichat), temporal e pré-auricular. Surgem áreas de depressão, acentuação do arcabouço ósseo e aspecto de envelhecimento. Essa condição trouxe de volta o estigma da AIDS, quebra do sigilo (pois permite identificação dos pacientes) e dificuldades de socialização.⁽³⁰⁾

Apesar dos efeitos adversos da TARV, a sua utilização no Brasil aumentou de 5 para 58 meses (12 vezes) a sobrevivência das pessoas com AIDS, e diminuiu em 50% o número de óbitos.⁽⁴⁰⁾ Com este número maior de indivíduos infectados pelo HIV e com uma expectativa de vida também mais ampla, ressalta-se a importância da manutenção e melhoria da qualidade de vida destes pacientes.⁽⁴¹⁾

Não há até o momento um tratamento curativo para as alterações morfológicas induzidas pela lipodistrofia. Várias estratégias, incluindo exercícios físicos, orientação nutricional, minimização da exposição aos antirretrovirais (retardo no início da utilização da TARV e mudança de medicamentos) e tratamentos cirúrgicos, têm sido exploradas com diversos graus de sucesso.⁽³⁸⁾

Várias formas de enxertos (permanentes ou temporários) com aplicação de prótese em determinadas partes do corpo, a lipoescultura e a utilização de aminoácidos associados a exercícios físicos para o desenvolvimento de músculos são as técnicas que vêm sendo mais utilizadas para amenizar os efeitos causados pela lipodistrofia.⁽⁴¹⁾

Entretanto, por tudo o que a lipodistrofia representa, as estratégias não devem restringir-se a intervenções plásticas: devem ser multidimensionais e contar com o apoio da equipe multidisciplinar para abordagem tanto emocional quanto física e nutricional. Recomenda-se a prática regular de exercícios físicos (aeróbicos e de resistência) e reeducação alimentar. A realização de exercícios dos músculos da mímica (ginástica facial) pode atenuar e restabelecer o equilíbrio estético da face.⁽³⁸⁾

Diante disso, o exercício físico vem sendo uma opção de terapia para uma melhoria da saúde e da qualidade de vida do soropositivo e que pode amenizar os efeitos adversos da medicação. Deste modo, o exercício físico é recomendado pelo Ministério da Saúde com o objetivo de suavizar as consequências decorrentes da utilização da TARV.⁽⁴¹⁾

De acordo com Yarasheski et al.,⁽⁴²⁾ em estudo realizado com 18 pacientes, ao final de 16 semanas de exercícios houve aumento de massa corporal magra e diminuição de gordura na região do tronco, além da diminuição de triglicerídeos. O mesmo aumento/ganho de massa magra foi notado em parâmetros analisados por Bhasin et al.⁽⁴³⁾ e Roubenoff et al.⁽⁴⁴⁾

Dolan et al.⁽⁴⁵⁾ realizaram um estudo com quarenta mulheres soropositivas durante 16 semanas, e, ao final, foi

observada uma melhora significativa de força muscular, dos parâmetros cardiorrespiratórios e da composição corporal (índices antropométricos). Já Dricoll et al.,⁽⁴⁶⁾ avaliando também os índices antropométricos, constataram que os 37 candidatos soropositivos participantes de seu estudo diminuíram significativamente a relação cintura/quadril.

Fillipas et al.⁽⁴⁷⁾ puderam observar que o grupo experimental melhorou sua capacidade cardiovascular e, conseqüentemente, a qualidade de vida após o início da prática física. Simon et al.,⁽⁴⁸⁾ em estudo realizado com seis pacientes que apresentavam lipodistrofia, observaram um aumento significativo na massa magra e na força muscular, combinado com a redução de gordura corporal.

Os exercícios físicos aeróbicos (que diminuem os níveis de triglicerídeos e colesterol, proporcionando a queima de gordura localizada e revertendo algumas alterações corporais referentes ao acúmulo de gordura central) e de resistência com peso (auxiliam no ganho de massa magra, melhorando o aspecto dos membros superiores e inferiores e do tórax), constituem um tratamento coadjuvante muito importante para o portador do HIV-1, auxiliando na recuperação das alterações corporais e distúrbios metabólicos causados pela lipodistrofia.⁽³⁸⁾

DISCUSSÃO

Com o desenvolvimento da TARV, a partir do ano de 1996, houve uma diminuição das manifestações clínicas causadas pelo vírus, através da supressão da replicação viral e, como consequência, da restauração do número de células T CD4+ e T CD8+. Os antirretrovirais causaram redução na morbidade e mortalidade, diminuindo em 50% o número de óbitos no Brasil, concomitantemente com o aumento da qualidade de vida do paciente.^(49,50)

Nos últimos anos, foi publicado um grande número de ensaios clínicos de supressores virais mostrando resultados promissores,⁽⁵¹⁾ mas os mesmos medicamentos que melhoram a perspectiva de vida provocam, a médio e longo prazo, efeitos colaterais que levam o paciente a desenvolver, entre outros sintomas, o estigma da AIDS.⁽³⁷⁾ As toxicidades crescentes e as temidas alterações metabólicas com o uso da TARV⁽⁵²⁾ causam impactos negativos no paciente, levando à desistência da terapia.⁽⁵³⁾

Dentre as diversas alterações que o vírus do HIV-1 provoca nos indivíduos soropositivos, podem-se destacar as manifestações hematológicas, pois, segundo Gomes et al.,⁽⁵⁴⁾ a anemia é descrita em 60% dos casos, 40% de casos de trombocitopenia e 50% de neutropenia, entre outras relevantes. Estas citopenias ocorrem em razão da depleção das células do sistema imune decorrentes da infecção, de doenças oportunistas e como efeitos secundários dos agentes antirretrovirais. Além disso, também verifica-se a macrocitose, alteração da série vermelha mais evidente

em decorrência do uso de drogas supressoras da replicação viral.

Durante a fase da infecção primária, podem ser notados sintomas de linfopenia, seguida por linfocitose e a presença de linfócitos atípicos, neutropenia, trombocitopenia e pancitopenia transitória. Na fase assintomática, há uma diminuição gradual de linfócitos T CD4+, o que inicialmente pode ser mascarado pela linfocitose devido a um aumento da contagem de T CD8+. Após o diagnóstico da AIDS, os pacientes apresentam linfopenia e geralmente pancitopenia, sendo a anemia caracterizada como normocítica normocrômica. Algumas vezes, a anemia pode ser macrocítica mesmo na ausência de tratamento antirretroviral. Além disso, pode haver casos de anemia hemolítica microangiopática trombótica ou de púrpura trombocitopênica.⁽²⁰⁾

O AZT, apesar de seu baixo custo e por ser a primeira indicação de ITRN a ser utilizada no início da infecção,⁽⁹⁾ provoca o principal e mais prejudicial efeito adverso, que é a supressão da medula óssea⁽³²⁾ e toxicidade medular,⁽¹²⁾ além de tantos outros efeitos secundários. O risco iminente de vida nestes pacientes é agravado, visto que a diminuição induzida da hematopoiese acarreta baixas contagens de linfócitos, levando a um risco aumentado de infecções bacterianas nestes pacientes neutropênicos, além de um pior prognóstico quando há diminuída contagem de células T CD4+ abaixo de 100/ μ L.⁽⁵⁵⁾

O EFZ é um agente antirretroviral que pode ser administrado uma vez ao dia, o que permite uma maior eficiência na adesão ao tratamento, diminuindo a irregularidade e o abandono.⁽²⁵⁾ No entanto, no que diz respeito às reações adversas, esta droga provoca principalmente alterações ligadas ao SNC, incluindo tonturas, alterações do sono, sonhos vívidos e alucinações,⁽³⁰⁾ que chegam a afetar 53% dos pacientes.⁽²⁵⁾

Em relação às alterações anatômicas e/ou metabólicas nos pacientes infectados pelo HIV-1, já existem relatos em diversos países e continentes das modificações físicas que afetam tanto adultos quanto crianças. As taxas de prevalência podem variar de 5% a 83% nos pacientes, sendo que as incidências das alterações corpóreas aumentam com o tempo de uso da TARV, sendo de 5% após seis meses, 9% após doze meses e 26% após vinte e quatro meses de terapia.⁽¹¹⁾

De caráter progressivo e variada apresentação clínica, a síndrome lipodistrófica constitui um fator importante para a baixa adesão ao tratamento⁽³⁸⁾ e preocupação crescente em relação ao impacto psicossocial na vida do portador.⁽³⁷⁾ As alterações anatômicas ocorrem por distribuição anormal da gordura corporal e podem ser classificadas em três grupos: lipoatrofia (perda da gordura periférica), lipohipertrofia (acúmulo de gordura central e/ou localizada) e forma mista.⁽³⁸⁾

Não se conhece ainda o mecanismo exato que leva ao desenvolvimento das alterações anatômicas nestes pacientes. Várias hipóteses têm sido levantadas, mas, individualmente, nenhuma delas explica todos os aspectos destas alterações, sendo provavelmente multifatoriais.⁽¹¹⁾

Por enquanto, uma das maneiras eficientes de combater e prevenir a síndrome lipodistrófica é a prática de exercícios físicos. O paciente soropositivo tem uma perda calórica maior do que o paciente soronegativo, e isto acarreta alterações no metabolismo, levando à perda de massa magra, tendo como resultado a síndrome consumptiva. A prática física auxilia no ganho de massa magra, além de auxiliar no combate ao aumento de triglicérides e do colesterol, outro efeito adverso aliado ao uso da TARV.⁽³⁹⁾

CONCLUSÕES

Diante das diversas modificações que o vírus do HIV-1 causa no paciente, seja em nível de progressão da doença ou pela necessidade do uso de antirretrovirais, é inevitável estar atento para iniciar as intervenções o mais precocemente possível. A substituição de drogas por outras com menor prevalência de efeitos adversos induzidos, como, por exemplo, a supressão da medula óssea, e provocados ao longo do tempo, como a síndrome lipodistrófica, é uma alternativa eficaz e de impacto positivo para que o paciente continue a terapia.

Incluir práticas regulares de exercícios físicos e melhores hábitos de vida têm se apresentado como possibilidade de reconstrução corporal, psíquica e social. Portanto, é vital trabalhar as condições físicas e emocionais apresentadas pelo portador do vírus para que, desta forma, haja uma melhor compreensão da doença.

Abstract

Objective: This paper addresses the hematological alterations, the antiretroviral therapy and the importance of physical exercise in the course of HIV-1 disease. **Methods:** a bibliographical survey was performed based on papers published between 2000 and 2010. **Results:** concerning hematological alterations, anemia and leucopenia are ranked among the most frequent ones. Regarding the adverse effects caused by the use of antiretrovirals, the highlights are the Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI) class AZT, as the main bone marrow suppressor drug diminishing the hematopoiesis synthesis, and the Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor (NNRTI) class efavirenz, with circa 53% of CNS alterations. Physical exercise arises as an alternative to mitigate the corporal metabolic alterations caused by antiretrovirals in what regards lipodystrophic syndromes. **Conclusion:** with the availability of high-efficiency antiretroviral treatment, seropositives have obtained positive prognosis in relation to quality of life. However the hematological alterations and the lipodystrophy caused by certain drugs make the patient look for alternatives able to mitigate these adverse effects. Thus, physical exercise becomes the most efficient way to try to fight these alterations.

Keywords

HIV-1; Hematological alterations; Efavirenz; Zidovudine; Physical exercise.

REFERÊNCIAS

1. Peçanha EP, Antunes OAC, Tanuri A. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. *Quím. Nova*. 2002;25(6b):1108-16.
2. Lazarotto AR, Deresz LF, Sprinz E. HIV/Aids e treinamento concorrente: a revisão sistemática. *Rev Bras Med Esporte* 2010;16(2): 149-54.
3. UNAIDS/OMS 2009. AIDS epidemic update: November 2009. Disponível em <http://www.unaids.org>. Acesso em 30 ago. 2010.
4. Daminelli EN, Tritinger A, Spada C. Alterações hematológicas em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana submetidos à terapia antirretroviral com e sem inibidor de protease. *Rev bras hematol hemoter*. 2010;32(1):10-5.
5. Leite OHM. Alterações hematológicas associadas a infecção pelo HIV, ainda um problema? *Rev bras hematol hemoter*. 2010; 32(1):3-4.
6. Krishnan A, Molina A, Zaia J, Smith D, Vasquez D, Kogut N, et al. Durable remissions with autologous stem cell transplantation for high-risk HIV-associated lymphomas. *Blood*. 2005 15;105(2):874-8.
7. Kramer AS, Lazzarotto AR, Sprinz E, Manfroi WC. Alterações metabólicas, terapia antirretroviral e doença cardiovascular em idosos portadores de HIV. *Arq Bras Cardiol*. 2009;93(5):561-8.
8. Viana OS, Junior JB, Silva RMF, Medeiros FPM, Junior SG, Albuquerque MM, Neto PJR. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de obtenção de comprimidos revestidos de efavirenz - terapia anti-HIV. *Rev. Bras. Ciênc. Farm*. 2006;42(4):505-11.
9. Volberding PA, Baker KR, Levine AM. Human immunodeficiency virus hematology. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2003:294-313.
10. Kraemer AS, Sprinz E, Lazzarotto AR. O peptídeo-C como indicador de resistência à insulina em pacientes HIV positivos com TARV. *RBAC*. 2009;41(4):267-70.
11. Munhoz O. Alterações anatômicas e/ou metabólicas (Síndrome Lipodistrófica) em portadores do HIV/AIDS. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/services/Acesso> em 13 abr. 2010.
12. Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo de Assistência Farmacêutica em DST/HIV/Aids 2010. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
13. Terry L. HIV e exercício. *Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul*. 2006;15(9):1-7.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Recomendações para terapia antirretroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV. 6ª ed., 2007. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. 6ª ed., 2005. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
16. Langford SE, Ananworanich J, Cooper DA. Predictors of disease progression in HIV infection: a review. *AIDS Res Ther*. 2007 May 14;4:11.
17. OMS - Scaling up antiretroviral in resource-limited settings: Treatment guidelines for a public health approach. Disponível em: <http://www.who.int/en>. Acesso em 22 agos. 2010.
18. Volberding PA, Levine AM, Dieterich D, Mildvan D, Mitsuyasu R, Saag M; Anemia in HIV Working Group. Anemia in HIV infection: clinical impact and evidence-based management strategies. *Clin Infect Dis*. 2004 May 15;38(10):1454-63.
19. Levine AM, Scadden DT, Zaia JA, Krishnan A. Hematologic aspects of HIV/AIDS. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2001: 463-78.
20. Silva EB, Grotto HZ, Vilela MM. Clinical aspects and complete blood counts in children exposed to HIV-1: comparison between infected patients and seroreverters. *J Pediatr (Rio J)*. 2001 Nov-Dec;77(6):503-11. [Article in Portuguese]
21. Claster S. Biology of anemia, differential diagnosis, and treatment options in human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*. 2002 May 15;185 Suppl 2:S105-9.
22. Ahmed S, Siddiqui RK, Siddiqui AK, Zaidi SA, Cervia J. HIV associated thrombotic microangiopathy. *Postgrad Med J*. 2002 Sep;78(923):520-5.
23. Kulkarni H, Marconi VC, He W, Landrum ML, Okulicz JF, Delmar J, et al. The Duffy-null state is associated with a survival advantage in leukopenic HIV-infected persons of African ancestry. *Blood*. 2009 Sep 24;114(13):2783-92.
24. Modest GA, Cooley TP, Zacks JF. HIV and refractory anemia with excess blasts (RAEB). *Am J Hematol*. 2002 Aug;70(4):318-9.
25. Testa EC, Silveira ECSA, Guaraldo L, Brasil PEEA, Teixeira JL, Avelar KE S, et al. Análise das reações adversas ao Efavirenz em pacientes do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas/FIOCRUZ. *Rev. Bras. Farm*. 2009;90(1):81-5.
26. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, et al; Study 934 Group. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. *N Engl J Med*. 2006 Jan 19;354(3):251-60.
27. Carr A, Cooper D. Adverse effects of antiretroviral therapy. *Lancet*. 2000 Oct 21;356(9239):1423-30.
28. Malbergier A, Schöffel AC. Tratamento de depressão em indivíduos infectados pelo HIV. *Rev. Bras. Psiquiatr*. 2001;23 (3):160-7.
29. Navarro WH, Kaplan LD. AIDS-related lymphoproliferative disease. *Blood*. 2006 Jan 1;107(1):13-20.
30. Brasil. Ministério da Saúde. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV 2008. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
31. Bower M, McCall-Peat N, Ryan N, Davies L, Young AM, Gupta S, et al. Protease inhibitors potentiate chemotherapy-induced neutropenia. *Blood*. 2004 Nov 1;104(9):2943-6.
32. Mounier N, Spina M, Gabarre J, Raphael M, Rizzardini G, Golfier JB, et al. AIDS-related non-Hodgkin lymphoma: final analysis of 485 patients treated with risk-adapted intensive chemotherapy. *Blood*. 2006 May 15;107(10):3832-40.
33. Berenguer J, González J, Ribera E, Domingo P, Santos J, Miralles P, et al; GESIDA 3903 Team. Didanosine, lamivudine, and efavirenz versus zidovudine, lamivudine, and efavirenz for the initial treatment of HIV type 1 infection: final analysis (48 weeks) of a prospective, randomized, noninferiority clinical trial, GESIDA 3903. *Clin Infect Dis*. 2008 Oct 15;47(8):1083-92. Erratum in: *Clin Infect Dis*. 2008 Dec 15;47(12):1611.
34. Marcellin F, Moh R, Carrieri MP, Danel C, Protopopescu C, Gabillard D, et al. Depressive symptoms and exposure to efavirenz in West African HIV-infected adults. *HIV Clin Trials*. 2008 Nov-Dec;9(6):445-7.
35. Rihs TA, Begley K, Smith DE, Sarangapany J, Callaghan A, Kelly M, et al. Efavirenz and chronic neuropsychiatric symptoms: a cross-sectional case control study. *HIV Med*. 2006 Nov;7(8):544-8.
36. Aupibul L, Puthanakit T, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Haematological changes after switching from stavudine to zidovudine in HIV-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2008 May;9(5):317-21.
37. Adão VM, Caraciolo JMM. Secretaria de Estado de Saúde, Coordenação dos Institutos de Pesquisa, Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS. Impacto psicossocial da lipodistrofia, 2002. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
38. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Manual de tratamento da lipoatrofia facial: recomendações para o preenchimento facial com polimetilmetacrilato em portadores de HIV/Aids. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais - Brasília, 2009. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
39. Brasil. Ministério da Saúde. A lipodistrofia. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
40. Brasil. Ministério da Saúde. Aids. Disponível em: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.

41. Oliveira GT, Lazzarotto AR. Treinamento de força com séries simples e múltiplas nos parâmetros virológico, imunológico, antropométrico e muscular de indivíduos HIV positivos. *Diálogo*. 2008;12:27-50.
42. Yarasheski KE, Tebas P, Stanerson B, Claxton S, Marin D, Bae K, et al. Resistance exercise training reduces hypertriglyceridemia in HIV-infected men treated with antiretroviral therapy. *J Appl Physiol* (1985). 2001 Jan;90(1):133-8.
43. Bhasin S, Storer TW, Javanbakht M, Berman N, Yarasheski KE, Phillips J, et al. Testosterone replacement and resistance exercise in HIV- infected men with weight loss and low testosterone levels. *JAMA*. 2000 Feb 9;283(6):763-70.
44. Roubenoff R, Wilson IB. Effect of resistance training on self-reported physical functioning in HIV infection. *Med Sci Sports Exerc*. 2001 Nov;33(11):1811-7.
45. Dolan SE, Frontera W, Librizzi J, Ljungquist K, Juan S, Dorman R, et al. Effects of a supervised home-based aerobic and progressive resistance training regimen in women infected with human immunodeficiency virus: a randomized trial. *Arch Intern Med*. 2006 Jun 12;166(11):1225-3.
46. Driscoll SD, Meininger GE, Lareau MT, Dolan SE, Killilea KM, Hadigan CM, et al. Effects of exercise training and metformin on body composition and cardiovascular indices in HIV-infected patients. *AIDS*. 2004 Feb 20;18(3):465-73.
47. Fillipas S, Oldmeadow LB, Bailey MJ, Cherry CL. A six-month, supervised, aerobic and resistance exercise program improves self-efficacy in people with human immunodeficiency virus: a randomized controlled trial. *Aust J Physiother*. 2006;52(3):185-90.
48. Jones SP, Doran DA, Leatt PB, Maher B, Pirmohamed M. Short-term exercise training improves body composition and hyperlipidaemia in HIV-positive individuals with lipodystrophy. *AIDS*. 2001 Oct 19;15(15):2049-51.
49. Yeni PG, Hammer SM, Carpenter CC, Cooper DA, Fischl MA, Gatell JM, et al. Antiretroviral treatment for adult HIV-infection in 2002: Updated Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*. 2002 Jul 10;288(2):222-35. Erratum in *JAMA*. 2003 Jan-Feb;11(1):32.
50. Brasil. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. Disponível em <http://www.aids.gov.br>. Acesso em 13 abr. 2010.
51. Vanni T, Morejón KM, Santana RC, Melo Ld, Ferrão SB, Amorim AP, et al. Comparison of the effectiveness initial combined antiretroviral therapy with nelfinavir or efavirenz at a university-based outpatient service in Brazil. *Braz J Med Biol Res*. 2007 Jul;40(7):963-9.
52. Sundaram M, Saghayam S, Priya B, Venkatesh KK, Balakrishnan P, Shankar EM, et al. Changes in antioxidant profile among HIV-infected individuals on generic highly active antiretroviral therapy in southern India. *Int J Infect Dis*. 2008 Nov;12 (6):e61-6.
53. Rizzardini G, Trabattoni D, Capetti A, Castelletti E, Migliorino M, Panebianco R, et al. An immunological comparison of third companion in advanced drug-naive HIV-Infected Patients. *HIV Clin Trials*. 2006 Sep-Oct;7(5):221-8.
54. Gomes AP, Esperidião AV, Siqueira-Batista R, Gonçalves-Rego TC, Velloso RBV, Nunes ER, et al. Manifestações Hematológicas na Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS). *Prática Hospitalar*. 2006;18 (176):27-33.
55. Kaplan LD, Lee JY, Ambinder RF, Sparano JA, Cesarman E, Chadburn A, et al. Rituximab does not improve clinical outcome in a randomized phase 3 trial of CHOP with or without rituximab in patients with HIV-associated non-Hodgkin lymphoma: AIDS-Malignancies Consortium Trial 010. *Blood*. 2005 Sep 1;106(5):1538-43.

Correspondência

Kesiane Mayra da Costa
 Rua Maurício Cardoso, 786, Centro
 95940-000 – Arroio do Meio, RS
 kesianemc@yahoo.com.br

Diagnóstico de anemia ferropriva em crianças de 0 a 59 meses internadas em um hospital no município de Cruz Alta - RS por meio da avaliação do hemograma

Diagnosis of iron deficiency anemia in children aged 0 - 59 months admitted to a hospital in the city of Cruz Alta -RS by blood count evaluation

Pedro Piazer Scalcon¹

Patrícia da Costa Marisco²

Lisiane Silveira Zavalhia¹

Resumo

A anemia ferropriva é a carência nutricional mais comum no mundo, podendo levar à redução do desempenho físico e cognitivo dos indivíduos anêmicos. Avaliou-se a prevalência de anemia ferropriva em crianças de 0 a 59 meses internadas em um hospital em Cruz Alta, RS, no período entre novembro de 2006 e maio de 2008, por meio de um estudo transversal retrospectivo, analisando-se os laudos dos exames daquele período. Foram classificadas como portadoras de anemia ferropriva as crianças que apresentavam baixos valores de hemoglobina, VCM ou de HCM, e RDW alterado. Na avaliação utilizou-se o ponto de corte proposto pela Organização Mundial da Saúde de 11,0 g/dL para anemia, e para a anemia grave considerou-se <9,5g/dL. A análise dos 387 laudos revelou que 47,02% estavam anêmicas e que, destas, 48,9% apresentaram anemia grave e 45% anemia ferropriva. Observou-se a maior taxa de anemia nos dois primeiros anos de vida. Concluiu-se que houve elevada prevalência de anemia e significativa taxa de anemia grave entre as crianças estudadas. Estes resultados são semelhantes aos de vários trabalhos da literatura, indicando que a anemia ainda apresenta elevada prevalência em nosso país e representa um importante problema de saúde pública, em especial a anemia ferropriva.

Palavras-chave

Anemia; Ferro; Hemoglobina; Hemograma

INTRODUÇÃO

A anemia é uma condição em que ocorre redução de hemoglobina e/ou da massa eritrocitária, com variações segundo idade e sexo, e altitude em relação ao nível do mar.⁽¹⁾

É bem sabido que as crianças apresentam um acelerado crescimento e desenvolvimento durante os seus dois primeiros anos de vida, apresentando expressivas aquisições psicomotoras e neurológicas nesse período. Entretanto, sabe-se que a desnutrição e as infecções são particularmente comuns, especialmente nos países em desenvolvimento, e que há prevalência de carências nutricionais relevantes nesse estágio de vida. Com base nisso, é importante enfatizar os cuidados com as práticas alimentares adequadas em crianças menores de dois anos. Essa prática será importante para prevenir ou minimizar deficiências nutricionais e, também, para não prejudicar a curto prazo a saúde da criança nem deixar sequelas futuras, como retardo de crescimento, atraso escolar e desenvolvimento de doenças crônicas.^(2,3)

No Brasil, 5 milhões de crianças de 1 a 4 anos são anêmicas, correspondendo a um total de 35% da população com essa faixa etária.⁽⁴⁾

A anemia ferropriva é a carência nutricional de maior ocorrência no mundo, afetando tanto populações de países desenvolvidos quanto de países em desenvolvimento.⁽⁵⁻⁹⁾ Nos países em desenvolvimento, 51% das crianças menores de 5 anos de idade encontram-se anêmicas, enquanto que nos países desenvolvidos este percentual atinge 12%.⁽¹⁰⁾

A deficiência de ferro é um estado no qual há redução da quantidade total de ferro, e o fornecimento de ferro é insuficiente para atingir as necessidades de diferentes tecidos, incluindo as necessidades para formação de hemoglobina (Hb) dos eritrócitos.⁽¹¹⁾ A diminuição da concentração de Hb sérica acaba comprometendo o transporte de oxigênio para os tecidos, reduzindo a capacidade de trabalho e o desempenho físico em indivíduos anêmicos.⁽¹²⁾

Três estágios da anemia ferropriva podem ser identificados, cada um evoluindo progressivamente para o outro de acordo com a gravidade da deficiência. O primeiro está-

¹Bacharel em Biomedicina, Universidade de Cruz Alta – Unicruz – Cruz Alta - RS, Brasil.

²Departamento de Ciências da Saúde, Universidade de Cruz Alta – Unicruz – Cruz Alta - RS, Brasil.

gio – a depleção de ferro – produz inicialmente uma redução dos depósitos, que se caracteriza por ferritina sérica abaixo de 12 µg/L. Se o balanço negativo continua, instala-se a segunda fase – a eritropoiese ferro deficiente – na qual há um declínio da concentração de ferro sérico e aumento da capacidade de ligação do ferro, que refletem a insuficiência de ferro para a produção normal de hemoglobina e outros compostos férricos, ainda que a concentração de hemoglobina não esteja reduzida. Quando há restrição na síntese de hemoglobina ocorre o terceiro estágio – a anemia por deficiência de ferro. A hemoglobina situa-se abaixo dos padrões para a idade e o sexo, com prejuízos funcionais ao organismo, tanto mais grave quanto maior for essa redução. Na anemia ferropriva, os eritrócitos, que eram normocíticos e normocrômicos, sofrem alterações morfológicas, tornando-se microcíticos e hipocrômicos.⁽¹³⁻¹⁹⁾

Em um estudo realizado por Hadler et al.,⁽¹⁵⁾ a avaliação da deficiência de ferro no organismo é mais bem realizada por uma combinação de vários parâmetros hematológicos e bioquímicos. Na sua impossibilidade, a alternativa é o uso isolado da dosagem de hemoglobina. Na utilização de mais dois índices além do da hemoglobina, quando não foi usado entre esses o RDW, a prevalência encontrada de etiologia ferropriva naquele estudo foi de 87,0%. Ao se incluir o RDW, a prevalência passou a ser de 97,8%, ou seja, o RDW aumentou a sensibilidade na detecção da deficiência de ferro, além de permitir a distinção entre anemia ferropriva e talassemia.

Sendo assim, a anemia, principalmente a anemia ferropriva, é um grave problema de saúde, devendo ser vista com seriedade, tanto no diagnóstico quanto no tratamento adequado, pela rede pública de saúde, podendo assim ser um indicador significativo para o entendimento da situação de saúde e para se adotarem medidas eficazes de prevenção, diagnóstico e tratamento do problema em questão, no intuito de contribuir para um melhor planejamento de ações destinadas a minimizar a anemia hospitalar, proporcionando aos pacientes melhor recuperação e menor tempo de hospitalização.

Este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de anemia em crianças internadas em um hospital no município de Cruz Alta, RS no período entre novembro de 2006 e maio de 2008, por meio de um estudo transversal retrospectivo da análise dos laudos de exames realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Cruz Alta.

MATERIAL E MÉTODOS

Em estudo retrospectivo, por meio de uma coleta de dados, foi estimada a prevalência de anemia em crianças internadas em um hospital no período compreendido entre novembro de 2006 e maio de 2008. Os dados foram obti-

dos através de exames realizados no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Cruz Alta, RS.

Para compor a amostra, os indivíduos foram selecionados de acordo com os seguintes critérios de elegibilidade: ter idade entre 0 e 59 meses, estar hospitalizados e possuir no laudo o hemograma completo.

Foram analisados 387 hemogramas de pacientes internados. O procedimento de coleta desses pacientes foi por punção venosa de 5 mL de sangue, com seringas e agulhas descartáveis, utilizando-se tubos contendo etileno-diamino-tetracético (EDTA) como anticoagulante.

Todas as análises referentes ao hemograma foram realizadas no aparelho ABX Micros 60, seguindo os critérios dos procedimentos de Controle de Qualidade Interno e Controle de Qualidade Externo que o laboratório utiliza. Nos laudos, para esse estudo, avaliaram-se a Hemoglobina, o Hematócrito (Hct), os índices hematimétricos VCM (Volume Corpuscular Médio), HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), CHCM (Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média) e o RDW (*Red blood cell Distribution Width*).

O ponto de corte utilizado para diagnóstico de anemia foi de 11 g/dL, ou seja, as crianças consideradas anêmicas foram as que apresentaram taxa de hemoglobina sanguínea inferior a 11 g/dL. Esse critério está de acordo com a recomendação da OMS para crianças menores de 6 anos.⁽²⁰⁾

Foram consideradas crianças portadoras de anemia grave as que apresentaram valores de hemoglobina inferiores a 9,5 g/dL.^(4,21)

Neste estudo, também foram considerados os seguintes valores: (a) Hct inferior a 33% para crianças menores de 23 meses de idade e inferior a 34% para crianças entre 24 a 59 meses de idade;⁽¹⁾ (b) Valores de CHCM inferiores a 30 g/dL para crianças menores de 23 meses de idade e inferior a 31 g/dL para crianças entre 24 a 59 meses de idade.⁽²²⁾

Para investigar a etiologia da anemia presente nas crianças e correlacionar com a anemia ferropriva, utilizaram-se, além da hemoglobina, os seguintes critérios:

1. Para o VCM, valores inferiores a 70 fL para crianças com menos de 23 meses de idade e inferiores a 73 fL para crianças entre 24 a 59 meses de idade;^(1,22)
2. Para o HCM, valores inferiores a 23 pg para crianças com menos de 23 meses de idade e inferiores a 24 pg para crianças entre 24 a 59 meses de idades;⁽²²⁾
3. RDW >14,5% para todas as idades avaliadas.^(22,23)

A adoção desses critérios foi baseada num estudo realizado por Hadler et al.,⁽¹⁵⁾ que mostrou que, ao se relacionar a taxa de hemoglobina diminuída com os baixos valores de VCM ou de HCM, incluindo o RDW, ocorre um aumento da sensibilidade na detecção da anemia ferropriva.

RESULTADOS

Foram avaliadas 387 crianças de 0 a 59 meses de idade. A prevalência de anemia na população estudada foi de 47,02% (n=182), sendo que foi maior na faixa etária entre 12 a 23 meses (65,49%). Observou-se um aumento na prevalência de anemia ao longo dos dois primeiros anos de vida, retrocedendo gradualmente a partir do terceiro.

Foi considerada anemia grave os casos em que os valores de hemoglobina foram inferiores a 9,5 g/dL.^(4,21) No total das crianças analisadas, 23% (n=89) apresentaram anemia grave, o que representou uma prevalência de 48,9% de anemia grave nas crianças anêmicas, sendo maior na faixa etária entre 12 e 23 meses (56,75%).

A tabela a seguir apresenta a distribuição, em percentuais, do Hct, VCM, HCM, CHCM e RDW entre as crianças anêmicas, mostrando o Hct como o índice mais alterado.

Tabela 1 - Distribuição (%) dos índices hematimétricos com valores alterados nas crianças anêmicas

Índices	% das anêmicas	n=182
Hct	83%	151
VCM	52%	95
HCM	62%	113
CHCM	25%	45
RDW	58%	105

Hematócrito (Hct), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), When Red Cell Distribution Width (RDW).

Neste estudo, segundo os critérios de Hadler et al.,⁽¹⁵⁾ observou-se que 45% (n=81) das crianças anêmicas estavam com o RDW alterado, além do VCM e/ou HCM alterados, caracterizando assim um grande índice de anemia ferropriva em um estágio mais avançado. Observou-se também que 71% (n=129) das crianças anêmicas apresentaram mais de dois índices alterados. Os índices avaliados foram Hematócrito (Hct), Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), *When Red Cell Distribution Width* (RDW).

DISCUSSÃO

Com base nos resultados obtidos, observou-se elevada prevalência de anemia na população estudada (47,02%). A prevalência encontrada está próxima àquelas obtidas em estudos realizados na região sudeste, que varia de 12,3% a 64,3%,⁽⁹⁾ e está acima do relatado no Brasil (35%) segundo Neuman et al.⁽⁴⁾

Monteiro et al.⁽¹⁰⁾ demonstraram que ocorre um grande aumento na prevalência de anemia no decorrer do desenvolvimento da criança, indicando que o risco para esse

distúrbio aumenta muito ao longo do primeiro ano de vida, mantém-se elevado no segundo ano e retrocede gradualmente a partir do terceiro ano. Esses dados corroboram com os dados obtidos no presente estudo, no qual se demonstraram elevadas taxas de anemia no primeiro (52,34%) e segundo (65,49%) anos de vida, diminuindo gradativamente a partir do terceiro ano (35,29%) (Tabela 1). Silva et al.⁽²⁴⁾ encontraram taxas semelhantes (65,6%) nessa faixa etária (12 a 23 meses) em Porto Alegre. Portanto, a faixa etária de risco encontrada nessa pesquisa é compatível com outros estudos, em que nessas idades concentra-se o período mais crítico.^(4,21,25-27) Isso pode ser explicado pelo fato de a criança apresentar acelerado crescimento e desenvolvimento durante os seus dois primeiros anos de vida, com aumento das necessidades pelas expressivas aquisições psicomotoras e neurológicas.^(2,3) Outros fatores desencadeantes podem ser a alta prevalência de desmame precoce, o atraso na introdução de alimentos ricos em ferro na dieta da criança e uma alta incidência de doenças como diarreia e infecções respiratórias nos primeiros anos de vida.⁽²⁴⁾ Por isso, devem-se enfatizar os cuidados com as práticas alimentares adequadas em crianças com menos de 2 anos, que são importantes para prevenir ou minimizar deficiências nutricionais e, também, para não prejudicar a curto prazo a saúde da criança nem deixar sequelas futuras, como retardo de crescimento, atraso escolar e desenvolvimento de doenças crônicas.^(2,3)

Lozzof et al.,⁽²⁸⁾ em um estudo realizado na Costa Rica, mostraram que crianças anêmicas que foram diagnosticadas e tratadas entre 12 e 23 meses de idade continuaram a demonstrar baixos escores de desenvolvimento mental e motor aos 5 anos, mesmo após completa correção da anemia e apresentando crescimento adequado. Isso evidencia a importância do diagnóstico precoce da anemia.

Sabe-se que a gravidade da anemia é inversamente proporcional aos níveis de hemoglobina sanguínea. Neste estudo foi considerada anemia grave aqueles casos em que os valores de hemoglobina foram inferiores a 9,5 g/dL,^(4,21) encontrando-se uma prevalência de 48,9% entre as crianças anêmicas. Esses dados indicam uma incidência maior do que a observada em São Paulo (25,1%) por Torres et al.⁽²⁹⁾ e em Viçosa, MG (43,5%) por Miranda et al.⁽²⁷⁾ Já Silva et al.⁽³⁰⁾ encontraram nesse mesmo município de Minas Gerais prevalência maior de anemia grave (55,6%).

Com relação a todas as crianças estudadas, 23% (n=89) apresentaram anemia grave, prevalência semelhante à observada por Brunken et al.,⁽²⁵⁾ que verificaram 22,5% de anemia grave em crianças menores de 36 meses de idade que frequentavam creches públicas de Cuiabá.

O hematócrito foi o índice com maior frequência de alteração entre os anêmicos (83%), indicando que possui boa correlação com valores diminuídos de hemoglobina e

que grande parte dessa porcentagem deve estar relacionada à microcitose.

No presente trabalho observou-se entre os anêmicos uma taxa de 25% com CHCM alterado. Já Sigulem et al.⁽³¹⁾ encontraram o CHCM com níveis abaixo do limite da normalidade em 81% de crianças anêmicas menores de 5 anos. Esses autores consideraram essa alteração um indicador de anemia do tipo hipocrômica.

Constatou-se uma alteração do HCM em 62% dos anêmicos. Percebe-se que essa taxa de alteração é mais elevada que no CHCM (25%). Esse dado indica que o HCM representa um índice de maior sensibilidade a diminuições na concentração de hemoglobina do que o CHCM, em especial na anemia ferropriva, já que, neste caso, o CHCM só apresenta valores baixos na fase avançada da doença.⁽³²⁾

A microcitose foi um achado observado em mais da metade dos anêmicos (52%), uma vez que o VCM apresentava-se com valor abaixo do limite da normalidade nesses casos. Pereira et al.⁽⁷⁾ realizaram um estudo com 267 escolares, no qual verificaram que 83,3% dos anêmicos apresentaram microcitose. Entretanto, a ocorrência de alteração do VCM (52%) (anemia microcítica) juntamente com o RDW alterado (58%) alcançou um baixo percentual entre os anêmicos na presente pesquisa, pressupondo-se, dessa forma, que as alterações morfológicas no eritrócito parecem ocorrer tardiamente em relação ao decréscimo nas concentrações de hemoglobina.⁽²⁰⁾ Esses dados mostram que a microcitose decorrente da diminuição do VCM e a anisocitose devido ao aumento do RDW têm melhor relação com a presença de anemia no estágio mais avançado, em especial a anemia ferropriva.

Neste estudo observou-se que 45% (n=81) das crianças anêmicas estavam com o RDW alterado além do VCM e/ou HCM alterados. Segundo os critérios de Hadler et al.,⁽¹⁵⁾ a presença dessas alterações caracteriza um grande índice de anemia ferropriva já em um estágio mais avançado. Observou-se também que 71% (n=129) das crianças anêmicas apresentaram mais de dois índices alterados, mostrando que, juntamente com o decréscimo da hemoglobina, há aumento na frequência e intensidade de alterações nos demais índices do eritrograma. Entretanto, sabe-se que, para um diagnóstico mais preciso da anemia ferropriva, são fundamentais a dosagem de ferritina sérica, a dosagem de ferro sérico e da capacidade de ligação do ferro (TIBC), entre outros exames.

Os resultados deste trabalho nos permitem concluir que houve uma elevada prevalência de anemia entre as crianças estudadas, existindo entre estas uma significativa taxa de anemia grave. Os resultados encontrados são semelhantes aos de vários trabalhos descritos na literatura, indicando que a anemia ainda apresenta elevada prevalência em nosso país e representa um importante problema de saúde pública, em especial a anemia ferropriva.

Portanto, sabe-se o grande prejuízo que a anemia ferropriva pode causar para o desenvolvimento da criança e o relevante problema de saúde pública que pode representar, já que pode onerar ainda mais o Sistema Único de Saúde, elevando os gastos públicos decorrentes do aumento de consultas médicas, do uso de medicamentos e do número de internações hospitalares, uma vez que pode predispor as crianças afetadas a outros tipos de doenças ou agravar ainda mais um quadro já existente. Com base no exposto, pode-se dizer que trabalhos que avaliem a saúde da população são de fundamental importância tanto para avaliar o estado de saúde geral e diagnosticar doenças quanto para o desenvolvimento de políticas públicas de prevenção de tais patologias, pois podem servir de subsídios para os gestores públicos de saúde desenvolverem projetos que visem tanto a promoção da saúde quanto a redução de gastos desnecessários.

Abstract

The iron deficiency anemia is the most common nutritional deficiency in the world and may lead to reduction of performance physical and cognitive of individuals anemic. Was evaluated, the prevalence of anemia in children from 0 to 59 months admitted to a hospital in Cruz Alta/RS in the period between november/06 and may/08, through a cross retrospective study analyzing the reports of examinations that period. They were classified as suffering from iron deficiency anemia children who had low values of hemoglobin, VCM or HCM, and RDW changed. In the assessment used to be the point of cutting proposed by the World Health Organization, <11,0g/dL for anemia, and for severe anemia it was <9,5g/dL. The analysis of 387 reports showed 47,02% were anemic and 48,9% of those had severe anaemia and 45% iron deficiency anemia. There was a higher rate of anemia in the first two years of life. It was concluded that there was high prevalence of anemia and significant rate of severe anemia among children studied. These results are similar to those of several works of literature, indicating that anemia still has high prevalence in our country and represents a major public health problem, especially iron deficiency anemia.

Keywords

Anemia; Iron; Hemoglobin; Hemogram

REFERÊNCIAS

1. Braga JAP, Tone LG, Loggetto SR. Hematologia para o pediatra. 1º ed. São Paulo, Atheneu, 2007.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Guia alimentar para crianças menores de 2 anos. Brasília, DF; 2002.
3. WHO - Guiding principles for complementary feeding of the breast fed child. Geneva: World Health Organization, 2003.
4. Neuman NA, Tanaka OY, Szarfacs SC, Guimarães PR, Victora CG. Prevalence and risk factors for anemia in Southern Brazil. Rev Saude Publica. 2000 Feb;34(1):56-63. [Article in Portuguese].
5. Castro TG, Novaes JF, Silva MR, Costa NMB, Franceschini SCC, Tinoco ALA, et al. Caracterização do consumo alimentar, ambiente socioeconômico e estado nutricional de pré-escolares de creches municipais. Rev Nutr. 2005;18(3):321-30.
6. Frutuoso MFP, Vigantzy VA, Gambardellella AMD. Níveis séricos de hemoglobina em adolescentes segundo estágio de maturação sexual. Rev Nutr. 2003;16:155-62.
7. Pereira RC, Ferreira LO, Diniz AS, Batista Filho M, Figueirôa JN. Eficácia da suplementação de ferro associado ou não à vitamina A no controle da anemia em escolares. Cad Saúde Pública. 2007;23(6):1415-21.

8. Santos I, Cesar JA, Minten G, Marco PL, Valle N. Efetividade do aconselhamento nutricional da Pastoral da Criança sobre a variação de hemoglobina entre menores de seis anos de idade. *Cad Saúde Pública*. 2005;21(1):130-40.
9. Silva FC, Vitalle MS, Quaglia EC, Braga JÁ, Medeiros EH. Proporção de anemia de acordo com o estadiamento puberal, segundo dois critérios diagnósticos. *Rev Nutr*. 2007;20(3):297-306.
10. Monteiro CA, Szarfarc SC, Mondini L. Tendência secular da anemia na infância na cidade de São Paulo (1984-1996). *Rev Saúde Pública*. 2000;34(6):62-72.
11. Cardoso MA, Penteadó MVC. Intervenções nutricionais na anemia ferropriva. *Cad. Saúde Pública*. 1994;10(2):231-40.
12. Demaeyer EM, Dallman P, Gurney JM, Hallberg L, Sood SK, Srikantia SG. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. Geneva: World Health Organization. 1989.
13. Capanema FD, Lamounier JA, Norton RC, Jácome AAA, Rodrigues DA, Coutinho RL, et al. Anemia ferropriva na infância: novas estratégias de prevenção, intervenção e tratamento. *Rev Med Minas Gerais*. 2003;13(Supl. 2):30-4.
14. Cook JD, Baynes RD, Skikne BS. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutr Res Rev*. 1992;5:189-202.
15. Hadler MC, Juliano Y, Sigulem DM. Anemia do lactente: etiologia e prevalência. *J Pediatr*. 2002; 78(4):321-6.
16. Krause MV, Mahan LK. Alimentos, nutrição e dietoterapia. 7ª ed., São Paulo, Roca, 1991.
17. Paiva AA, Rondó PHC, Guerra-Shinohara EM. Parâmetros para avaliação do estado nutricional de ferro *Rev Saúde Pública*. 2000; 34(4):421-6.
18. Queiroz SS, Torres MAA. Anemia ferropriva na infância. *J Pediatr* 2000;76(3 Suppl):298-304.
19. Simões MCC, Moura EC, Sgarbieri VC, Figueiredo DB. Avaliação do impacto de um suplemento nutricional rico em ferro hematínico. *Cad. Saúde Pública*. 1999;15(4):871-81.
20. WHO - Iron deficiency anaemia: Assessment, Prevention, and Control - A guide for programme managers. Geneva: World Health Organization, 2001.
21. Monteiro CA, Szarfarc SC. Health conditions of children of the municipality of São Paulo, SP (Brazil), 1984-1985. V-Anemia. *Rev Saude Publica*. 1987 Jun;21(3):255-60. [Article in Portuguese].
22. Nathan DG, Oski FA. Hematology of infancy and childhood. 4ª ed. Philadelphia, 1993.
23. Oliveira RAG, Poli Neto A. Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnósticos por técnicas laboratoriais. 1ª ed. São Paulo, Roca, 2004.
24. Silva LSM, Giugliani ER, Aerts DR. Prevalência e determinantes de anemia em crianças de Porto Alegre, RS, Brasil. *Rev Saude Publica*. 2001 Feb;35(1):66-73.
25. Brunken GS, Guimarães LV, Fisberg M. Anemia in children under 3 years of age in public day care centers. *J Pediatr*. 2002;78(1):50-6. [Article in Portuguese].
26. Devincenzi UM, Ribeiro LC, Sigulem DM. Anemia ferropriva na primeira infância - I. Compacta - Temas em Nutrição e Alimentação. 2000;1(2):5-17.
27. Miranda SM, Ranceschini SCC, Priore SE, Euclides MP, Araújo RMA, Ribeiro SMR, et al. Anemia ferropriva e estado nutricional de crianças com idade de 12 a 60 meses do município de Viçosa, MG. *Rev Nutr*. 2003;16:163-9.
28. Lozoff B, Jimenez E, Wolf AW. Long-term developmental outcome of infants with iron deficiency. *N Engl J Med*. 1991 Sep 5;325(10): 687-94.
29. Torres MAA, Sato K, Queiroz SS. Anemia em crianças menores de dois anos atendidas nas unidades básicas de saúde no Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública*. 1994;28(4):290-4.
30. Silva DG, Franceschini SCC, Priore SE, Ribeiro SMR, Szarfarc SC, Souza SB, et al. Anemia ferropriva em crianças de 6 a 12 meses atendidas na rede pública de saúde do município de Viçosa, Minas Gerais. *Rev. Nutr* 2002;15:301-8.
31. Sigulem DM, Tudisco ES, Goldemberg P, Athaide MMM, Vaisman E. Anemia ferropriva em crianças no Município de São Paulo. *Rev. Saúde Pública*. 1978;12:168-78.
32. Failace R. Hemograma: Manual de Interpretação. 4ª ed., Porto Alegre, Artes Médicas, 2003.

Correspondência

Lisiane S. Zavalhia

Rua Guilherme Alves, 125/302

90680-000 – Porto Alegre, RS, Brasil

Fone/Fax: (51) 8139.7749

lisi.zavalhia@hotmail.com

Avaliação do eritrograma de mulheres pós-menopausa do município de Catuípe - RS

Erythrogram evaluation of postmenopausal women in the municipality of Catuípe - RS

Joice Nedel Ott¹

Marlei Uecker Pletsch²

Resumo

Menopausa é um fenômeno fisiológico feminino decorrente do esgotamento dos folículos ovarianos que ocorre em todas as mulheres de meia idade, seguido da queda progressiva da secreção de estradiol, culminando com a interrupção definitiva dos ciclos menstruais e o surgimento de sintomas característicos. As modificações, que não são apenas físicas, variam desde aspectos psicológicos, alterações no estilo de vida e, com o passar da idade, consequentes distúrbios nos exames médicos rotineiros destas mulheres. Com o objetivo de investigar alterações hematológicas de mulheres no período pós-menopausa, ou seja, com no mínimo um ano de amenorreia, residentes no município de Catuípe, RS, na área urbana, realizou-se a análise do eritrograma, fração do hemograma que determina o perfil das células vermelhas do sangue. Além disso, as possíveis alterações determinadas foram correlacionadas com o uso, ou não, de Terapia de Reposição Hormonal (TRH) nas mulheres menopáusicas incluídas no estudo. Os resultados revelaram que a menopausa, enquanto fenômeno natural feminino, associada ou não à TRH, não interfere na produção de glóbulos vermelhos do sangue nem tampouco promove alterações significativas nos valores de hemoglobina, hematócrito e nos índices hematimétricos analisados, tais como VCM, HCM, CHCM e RDW.

Palavras-chave

Menopausa; Eritrograma; Anemia; Terapia de Reposição Hormonal

INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) considera a menopausa um evento biológico espontâneo e natural, que se refere ao último período menstrual do ciclo de desenvolvimento feminino, época da vida da mulher em que a capacidade reprodutiva cessa. Entretanto, sabe-se que as mulheres, enquanto sujeitos socioculturais, têm modos de agir, de pensar, sentir e interpretar a menopausa com base na sua visão de mundo, decorrentes das relações e interações que estabelecem com as pessoas e o ambiente em que vivem.⁽¹⁾

De maneira geral, considera-se o climatério um fenômeno natural, não como tendência a minimizar as consequências físicas e psicológicas da deficiência dos esteroides sexuais, mas sim pelo fato de que a menopausa ocorre em todas as mulheres, geralmente entre os 45 e 55 anos, uma

condição não fatal. Sabe-se que ela é inevitável, bem como que os sintomas desaparecem espontaneamente e, naquelas mulheres com sintomas intensos e persistentes, um novo equilíbrio pode ser alcançado, se necessário com ajuda médica, por exemplo, através da Terapia de Reposição Hormonal (TRH).⁽²⁾

Segundo Notelovitz, autor citado por França,⁽³⁾ denomina-se climatério o período da vida da mulher que se inicia ao redor dos 35 anos, quando podem ser detectadas as primeiras alterações hormonais, estendendo-se até os 65 anos. A fase inicial do climatério caracteriza-se por alterações ginecológicas, associadas à esteroidogênese anormal, como sangramento uterino irregular e síndrome pré-menstrual. A perimenopausa compreende o período entre 45 a 50 anos e a pós-menopausa o período de 50 a 65 anos de idade, estendendo-se no caso de maior expectativa de vida para estas mulheres.

¹Farmacêutica, aluna do Curso de Farmácia Habilitação Farmacêutico Bioquímico em Análises Clínicas – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí - RS, Brasil.

²Professora do DCSa da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul – Unijuí - RS, Brasil. Orientadora do Projeto de Pesquisa.

Trabalho de Conclusão de Curso II apresentado ao Curso de Farmácia Habilitação Farmacêutico Bioquímico em Análises Clínicas da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - Unijuí - RS, Brasil.

Artigo recebido em 14/01/2010

Artigo aprovado em 28/09/2016

A menopausa, mais especificadamente, é definida pela Organização Mundial da Saúde por um período de 12 meses consecutivos de amenorreia, sem outra causa patológica ou psicológica evidente, não existindo nenhum indicador biológico independente e adequado para caracterizá-la.⁽⁴⁾ Dessa forma, é considerada um evento único, que marca a transição do período reprodutivo para o não reprodutivo, ou seja, da menacne para a senilidade, com consequências sistêmicas e potencialmente patológicas.⁽⁵⁾

As consequências endócrinas e físicas da diminuição da secreção de esteroides ovarianos são bem conhecidas. A situação durante anos de pré e pós-menopausa caracteriza-se pela ausência de progesterona, por concentrações baixas de estrogênios derivados da conversão periférica da testosterona e androstenediona em estrona e, na maioria das vezes, com concentrações menores de androgênios.⁽²⁾ As consequências físicas são, usualmente, um período de instabilidade vasomotora, atrofia dos caracteres sexuais secundários, aumento do risco de doenças cardiovasculares e, mais frequentemente, diminuição da massa óssea, uma desordem comum que se caracteriza pela perda de massa óssea e risco aumentado de fraturas.⁽⁶⁾ Além disso, nervosismo, diminuição da memória e fadiga são as principais manifestações clínicas do climatério e acometem cerca de 60% das mulheres nesta fase, sendo que a atrofia urogenital pode surgir após alguns anos.⁽⁵⁾

As consequências psicológicas, ao contrário das consequências físicas, são mais difíceis de definir exatamente. A autoimagem é um componente importante que pode associar-se tanto à prevalência quanto à intensidade dos sintomas, bem como à atitude ante a menopausa. Mulheres com baixa autoestima apresentam muitos sintomas e geralmente têm atitude negativa nesse período da vida. Dessa forma, esses fatores podem contribuir para a diminuição da qualidade de vida, assim como levar ao decréscimo da produtividade no trabalho e a dificuldades nos relacionamentos pessoais e sociais.⁽²⁾

Verifica-se assim que o climatério é uma etapa marcante no envelhecimento feminino. Caracterizado pelo hipostrogenismo progressivo, culminando com a interrupção definitiva dos ciclos menstruais, a menopausa é o evento demarcador desta fase.⁽⁵⁾ Embora seja um fenômeno fisiológico, resulta em profundas transformações no organismo da mulher, que fica mais vulnerável a um conjunto de doenças, podendo manifestar-se neste momento ou exacerbar seus sintomas.⁽⁷⁾

Uma das formas de verificar tais alterações é através do estudo do perfil hematológico feminino, mais especificadamente pelo eritograma, instrumento que avalia as células vermelhas do sangue, estritamente relacionadas à anemia ou doenças afins. A primeira preocupação gira em torno de um sangramento natural, que cessa no climatério e pode

alterar os estoques de ferro no organismo feminino, até mesmo após a TRH. Isso porque a prevalência e a gravidade da deficiência de ferro são maiores em mulheres do que em homens devido a diferenças hormonais e exigências relacionadas à reprodução, como menstruação, gravidez e lactação. O equilíbrio de ferro nas mulheres em idade reprodutiva e no climatério é sempre precário devido às perdas e sobrecargas fisiológicas deste elemento, podendo-se observar, como consequências destas alterações, a anemia microcítica hipocrômica e o aumento do risco do aparecimento de câncer e doenças cardiovasculares, respectivamente.⁽⁸⁾

As mulheres no climatério caracterizam-se por apresentar diminuição da produção de estradiol e elevação dos níveis dos hormônios folículo-estimulante e luteinizante. Mulheres nesta fase constituem um grupo populacional altamente sensível às mudanças no estado férrico nutricional e ao estresse oxidativo. No entanto, os sintomas e sinais do climatério são minimizados ou postergados pela implantação da Terapia de Reposição Hormonal à base de estradiol e progesterona. A TRH atua normalizando os níveis hormonais femininos, diminuindo a frequência de estresse oxidativo celular e, conseqüentemente, reduzindo o risco de aparecimento de tumores e doenças cardíacas nas mulheres no climatério e na menopausa. Dessa forma, mulheres submetidas à TRH apresentam equilíbrio férreo positivo, pois as perdas sanguíneas causadas pela menstruação irregular, presente na pré-menopausa, cessam, e a concentração da hemoglobina aumenta, além de ocorrer um acúmulo de ferro em estoque.⁽⁸⁾

Em relação aos níveis de ferro nas mulheres pós-menopausa, que fazem uso da TRH, Résio et al.⁽⁸⁾ destacam que a determinação da concentração de ferro sérico sofre grande variação diária, o que impede sua utilização como parâmetro único para avaliação da anemia. Segundo os estudos destes autores, os níveis de ferritina sérica não se alteraram significativamente após seis meses da TRH, resultado que indica que a terapia de reposição de estrógenos não influencia na concentração sérica de ferritina, ou seja, na quantidade de ferro estocado.

Em conclusão, Résio et al.⁽⁸⁾ não encontraram alterações que impeçam a utilização da TRH no climatério e na menopausa com relação ao balanço de ferro no organismo. Ao contrário, os resultados de seus estudos indicam que esta reposição hormonal manteve normal o estoque de ferro. A manutenção do estado férrico em níveis normais pode ser considerada um efeito benéfico desta TRH, uma vez que o estoque de ferro normal ou baixo protege as mulheres menopausadas do estresse oxidativo, diminuindo o risco de desenvolvimento de doenças cardíacas e de câncer em mulheres pré-menopausadas e menopausadas.

Segundo Wygoda et al.⁽⁹⁾ os níveis de estradiol na pós-menopausa oscilam entre 10 pg/mL e 20 pg/mL. Na maioria

das mulheres, este hipoestrogenismo dá origem a fogachos, secura vaginal e alterações psíquicas, de intensidade variável. Os baixos níveis de estrogênio e progesterona também modificam a distribuição de gordura corporal, favorecendo maior deposição no abdômen. Nesses casos, a TRH tem se revelado benéfica no controle da sintomatologia e na melhora da qualidade de vida, uma vez que previne a deposição androgênica da gordura corporal e diminui a relação cintura-quadril, diminuindo o risco de coronariopatia e prevenindo ou minimizando a osteoporose.

Manter níveis estrogênicos adequados durante a TRH, maiores que 60 pg/mL e menores que os que ocasionem hiperestrogenismo clínico, é fundamental para o controle da sintomatologia da menopausa, inclusive para a prevenção de perda óssea, muito comum nessa etapa de vida. Contudo, dosagens de estradiol, LH e FSH são dispendiosas e nem sempre disponíveis, podendo não ser confiáveis por sofrer influência do tipo de hormônio utilizado, sua farmacocinética, forma de aplicação e de possíveis picos endógenos de gonadotrofinas.⁽⁹⁾

Fica claro a real importância dos estrógenos no desenvolvimento feminino, sendo que muitos dos seus usos terapêuticos são baseados em efeitos farmacológicos reconhecidos como mecanismo fisiológico normal ou mecanismo de substituição por deficiente produção. Seu principal uso terapêutico está indicado nas doenças em que a falta desses esteroides teriam um papel patogênico, tais como a menopausa.^(10,11)

Ressalva-se, apenas, para a relação risco-benefício na terapêutica com estrógeno, que deve ser avaliada individualmente para cada paciente e reconsiderada periodicamente. Quando usados, os estrogênios devem ser administrados na menor dose eficaz e pelo tempo mais curto possível, sendo preferível a terapêutica clínica.⁽¹²⁾

Tendo em vista a escassez de pesquisas a respeito do tema menopausa e/ou climatério *versus* alterações hematológicas e, também, o desconhecimento sobre os mecanismos envolvidos na manutenção dos estoques de ferro normais pela TRH, faz-se necessária a realização de novas investigações. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo analisar quais são as modificações que ocorrem no organismo feminino pós-menopausa, relacionadas principalmente aos glóbulos vermelhos do sangue, além de verificar a interferência da TRH nas mulheres que dela fazem uso. Analisou-se o eritograma de mulheres com idade entre 50 e 67 anos, pós-menopausa, do município de Catuípe, RS, área urbana, verificando possíveis alterações nos valores de referência preconizados ao sexo e à idade, correlacionado-as com o uso ou não de TRH. Esse engajamento prevê um estudo mais aprofundado de possíveis distúrbios hematológicos com a finalidade exclusiva de garantir maior qualidade de vida, uma vez que a atenção à

saúde de mulheres, principalmente no período da menopausa, mostra-se importante devido às alterações às quais as mesmas estão expostas.

MATERIAL E MÉTODOS

Catuípe é um município do estado do Rio Grande do Sul, mais especificadamente da região noroeste, com uma população de 9.499 habitantes, conforme a última contagem, realizada em 2007, pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Deste total, 5.088 são mulheres. Na faixa etária de 50 a 54 anos estão 276 mulheres; de 55 a 59 anos encontram-se 262; de 60 a 64 anos são 251 e de 65 a 69 anos existem, na cidade, 173 mulheres.⁽¹³⁾

A população da pesquisa foi composta de mulheres com idade entre 50 e 67 anos, pós-menopausa, residentes no território de abrangência da Unidade de Saúde da Família deste município, mais especificadamente na área urbana. A amostra correspondeu a 61 mulheres com, no mínimo, um ano de amenorreia.

Inicialmente, com a ajuda dos Agentes Comunitários de Saúde, realizou-se um levantamento do número de mulheres na faixa etária e nas condições determinadas pelo estudo no município. Uma visita domiciliar teve como objetivo convidar cada mulher a participar da pesquisa, explanando anteriormente os objetivos e a metodologia a ser utilizada. Tendo o aceite, devidamente documentado pela assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e estando dentro dos critérios de inclusão para a constituição da amostra, foi dado o início da coleta de dados.

Na Unidade de Saúde Central de Catuípe, as mulheres foram aguardadas em jejum, conforme data e hora pré-determinadas. Coletaram-se cerca de 10 mL de sangue por punção venosa, de cada mulher menopausada, acondicionados em frascos contendo os anticoagulantes específicos para as dosagens hematológicas a serem realizadas. Após transporte adequado, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas da Unijuí, o Unilab. O sangue total com EDTA foi analisado em automação pelo aparelho ABX Micros 60, o qual emite o laudo do hemograma a ser discutido posteriormente. Com a mesma amostra de sangue foram feitas distensões sanguíneas, identificadas e coradas para análise microscópica da morfologia eritrocitária.

Cabe ressaltar que o presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (Unijuí), sob o número do parecer consubstanciado nº 255/2009, viabilizando a pesquisa. Realizou-se, então, no município de Catuípe, RS, um estudo do tipo transversal, prospectivo, analítico descritivo, uma vez que os dados foram analisados e discutidos utilizando-

se a estatística descritiva, ou seja, por meio de índices como média e desvio padrão.

RESULTADOS

Do total de mulheres analisadas, a idade mínima foi de 52 anos e a máxima de 67 anos, sendo 59 anos a média da idade, respeitando-se os dados da literatura e o critério de inclusão da amostra para a pesquisa em mulheres pós-menopausa.

Conforme a renda individual, 40 mulheres (65,6%) recebem de um a dois salários; 12 (19,7%) recebem abaixo de um salário mínimo e apenas duas (3,3%), recebem acima de dois salários mínimos. Há ainda 1,6% que declararam não saber e 9,8% informaram que não possuem renda individual, mas participam do total da renda familiar.

A escolaridade revelou que 72,1%, correspondentes a 44 mulheres, possuem o ensino fundamental incompleto. Cinco (8,2%) completaram o ensino fundamental, três (4,9%) possuem o ensino médio incompleto e outras três mulheres já completaram o ensino médio. Apenas 3,3%, ou seja, duas mulheres possuem ensino superior, contrapondo com 6,6%, quatro mulheres, que são analfabetas.

A análise do tempo de amenorreia destas mulheres revelou que 13,1% (8/61) possuem o tempo mínimo descrito na literatura para a inclusão na pesquisa até cinco anos de pausa, enquanto que a maioria das mulheres, 42,6% (26/61), tem de seis a dez anos; 26,2% (16/61) se incluem na faixa de 11 a 15 anos de amenorreias e 11,5% (7/61) possuem de 16 a 20 anos; 4,9% (3/61) estão entre 21 a 25 anos e apenas uma paciente revelou ter o maior período, aproximadamente 30 anos de pausa.

O uso de Terapia de Reposição Hormonal (TRH) também foi avaliado. Entre as 61 mulheres menopausadas, 41 delas (67,2%) não utilizam ou nunca fizeram uso de hormônios de reposição. Analisou-se o tempo de uso da TRH para as vinte mulheres (32,8%) que dela usufruem, conforme a Figura 1.

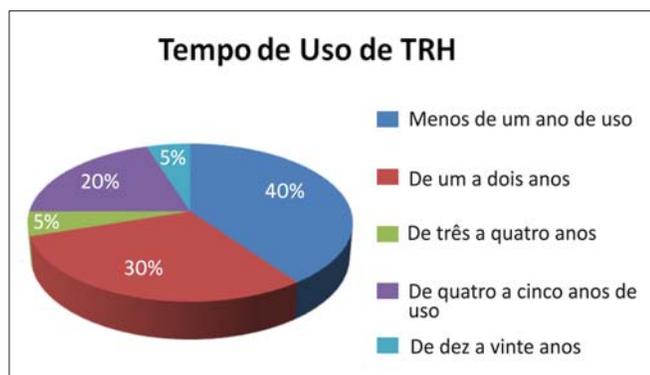


Figura 1. Percentual de mulheres pós-menopausa do município de Catuípe (RS) que fazem uso de TRH de acordo com o tempo de uso.

ANÁLISE DO ERITROGRAMA

Além desses dados foi analisado também o hemograma, teste laboratorial que estabelece aspectos qualitativos e quantitativos das células sanguíneas, cujos valores de referência podem sofrer alterações, embora discretas, relacionadas à idade do paciente, sexo e condições físicas, tais como gestação, menstruação ou climatério.⁽¹⁴⁾ Frisa-se que os resultados do hemograma são divididos em eritrograma (células vermelhas) e leucograma (células brancas). Analisou-se apenas o eritrograma, a fim de se avaliar a série vermelha do sangue através de parâmetros como o número de eritrócitos, dosagem de hemoglobina e hematócrito, além da avaliação dos índices hematimétricos e a morfologia das hemáceas nas pacientes menopausadas.

Os resultados do eritrograma mostraram que, quanto ao número total de glóbulos vermelhos, 98,4%, equivalentes a 60 mulheres, apresentaram-se dentro dos valores de referência preconizados ao sexo e à idade, de 3,9 a 5,3 milhões eritrócitos/mm³.⁽¹⁵⁾ Apenas uma paciente apresentou um número menor de hemáceas, mais especificamente 3,85 milhões/mm³. No entanto, percebe-se que a diferença não é significativa, não sendo um indício para a avaliação de um processo anêmico.

A dosagem de hemoglobina configura-se como a mais importante determinação do eritrograma, uma vez que é considerada o verdadeiro parâmetro para o diagnóstico de anemias. Segundo Oliveira,⁽¹⁵⁾ os valores de referência para mulheres adultas estão entre 12 g/dL e 16 g/dL. Nesta faixa encontraram-se 58 mulheres (95,1%), sendo que 4,9%, ou seja, apenas três mulheres estavam possivelmente anêmicas. Porém, os valores não são assim tão discrepantes da normalidade, ficando numa faixa de 11,7 g/dL a 11,9 g/dL.

O hematócrito das pacientes revelou um bom prognóstico. A relação percentual entre as células vermelhas do sangue (volume de empacotamento dos eritrócitos) e o plasma, em sua normalidade para mulheres adultas, varia de 36% a 48%.⁽¹⁵⁾ Nessa faixa de referência estava a maioria das mulheres do estudo, 96,7% ou 59 mulheres. Duas pacientes tiveram valores discrepantes, estando uma abaixo dos valores de referência (34,7% de hematócrito) e a outra acima (48,2% de hematócrito), representando, cada uma, 1,6% do total.

Salienta-se que a mesma paciente que apresentou valores baixos de hematócrito também apresentou um valor abaixo do normal de hemoglobina (11,9 g/dL). Isso se explica porque o hematócrito sofre influências das alterações do conteúdo de hemoglobina, do tamanho e da forma do eritrócito.⁽¹⁵⁾ No entanto, para um diagnóstico correto de anemia, é necessária a análise dos índices hematimétricos, tais como VCM, HCM, CHCM, além do RDW, conforme segue.

O Volume Corpuscular Médio (VCM) corresponde à média dos volumes de uma população de eritrócitos,

expressos em fentolitros (fL). É o índice mais importante por automação, pois é a base para a classificação morfológica das anemias. Anemias microcíticas possuem um VCM menor que 80 fL, enquanto que anemias macrocíticas possuem um VCM maior que 100 fL. Então, segundo Oliveira,⁽¹⁵⁾ os valores de referência para o VCM estão entre 80 a 100 fL. Nesta faixa, dita normocítica, encontraram-se 100% das mulheres pós-menopausas analisadas. O VCM médio das 61 pacientes foi de 90,42 fL, sendo o mínimo 84,28 fL e o máximo 97,44 fL, com um desvio padrão de $\pm 2,98$, demonstrando a homogeneidade dos dados.

A Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) é a média do conteúdo (peso interno) de hemoglobina de uma população de eritrócitos. 96,7%, ou seja, 59 das mulheres analisadas têm o VCM considerado normal, de 27 pg a 33 pg.⁽¹⁵⁾ Apenas duas pacientes (3,3%) apresentaram valores acima, mais precisamente de 33,90 pg e 34,36 pg, o que nos indica uma hemácea mais pesada e pode traduzir uma possível hiperchromia dos eritrócitos, que somente será confirmada após análise do CHCM, bem como da avaliação morfológica da distensão sanguínea. Salienta-se que o desvio padrão encontrado também foi pequeno, de $\pm 1,40$. A média do HCM estabeleceu-se em 29,70 pg, o valor mínimo 27,16 pg e o máximo 34,36 pg.

O CHCM é o índice hematimétrico que, de fato, avalia a cor dos eritrócitos, já que corresponde à média das concentrações internas de hemoglobina de uma população de eritrócitos. No estudo, o CHCM médio foi de 32,83 pg, estando o mínimo estabelecido em 30,92 pg e o máximo em 36,05 pg, com um desvio padrão de apenas $\pm 0,85$. Os resultados encontram-se expressos na Figura 2, que segue abaixo.

Eritrócitos hipocrômicos, pouco corados, possuem um CHCM abaixo de 32 pg. Em um comparativo geral entre as mulheres e todos os dados apresentados anterior-

mente, observa-se que as nove pacientes com eritrócitos hipocrômicos não possuem alteração na concentração de hemoglobina, nem diminuição dos valores de VCM e HCM. Ressalta-se ainda que os valores de CHCM alterados encontram-se muito próximos à normalidade, não representando significado clínico.

Já as hemáceas muito coradas, denominadas hiperchromicas, possuem o CHCM acima de 36 pg. Em análise observa-se que a única paciente com CHCM elevado é a mesma que havia apresentado um HCM elevado, confirmando a hiperchromia dos eritrócitos analisados no esfregaço; entretanto, frisa-se que este não é um caso de anemia uma vez que a paciente apresenta a concentração de hemoglobina normal.

O RDW é um índice exclusivamente automatizado. Equivale ao grau de anisocitose, que é o termo que caracteriza a diferença de tamanho entre os eritrócitos, ou seja, corresponde à amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos e revela numericamente a variação do volume dessas hemáceas. Dessa forma, o RDW normal revela homogeneidade em relação ao volume dos eritrócitos, o que é comum em pessoas não anêmicas, mas também pode ocorrer em alguns tipos de anemias. Valores diminuídos não têm significado clínico, enquanto que valores aumentados indicam alterações na maturação eritrocitária. Para o RDW, o estudo revelou que 100% das mulheres pós-menopausa analisadas possuem valores entre 11% a 14,5%, considerada, segundo Oliveira,⁽¹⁵⁾ a faixa de normalidade para o sexo e a idade das pacientes. O RDW mínimo obtido foi de 11,00% e o máximo 13,20%, obtendo-se uma média de 12,15%, com desvio padrão de $\pm 0,43$, traduzindo a total homogeneidade dos resultados encontrados.

Comparação do eritrograma com o uso de TRH

Quanto ao número de células vermelhas, observa-se que todas as mulheres (100%) que fazem uso de TRH apresentaram-se dentro da faixa dos valores de referência para o número de eritrócitos. Apenas uma mulher (2,4%) do total de 41 que não fazem, ou nunca fizeram, uso de hormônios de reposição, apresentou um número menor que 3,9 milhões/mm³ de hemáceas.

A relação entre o uso de TRH e a concentração de hemoglobina, encontra-se representada na Tabela 1, conforme segue. Duas mulheres que apresentaram concentração de hemoglobina inferior a 12 g/dL, valor de referência para a idade e sexo, fazem uso de TRH, ambas por um período de quatro a cinco anos. Entre as pacientes que não fazem uso de TRH verifica-se também um possível caso de anemia (2,4%), confirmando que a terapia hormonal não é fator determinante na concentração da hemoglobina.

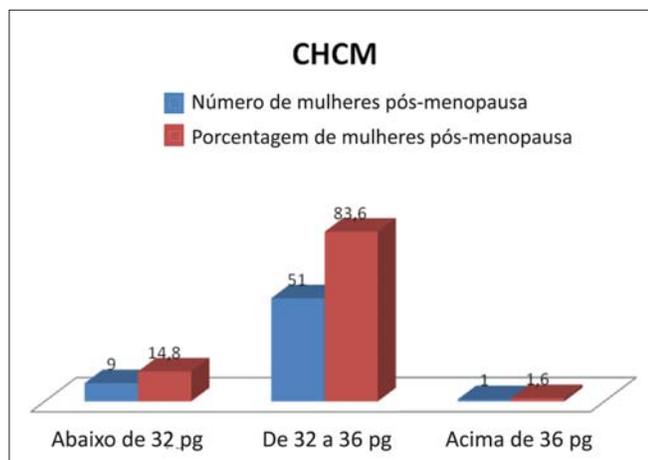


Figura 3. Valores de CHCM para mulheres pós-menopausa do município de Catuípe, RS.

Tabela 1 - Uso de TRH x Concentração de hemoglobina (HGB)

		HGB		Total	
		Abaixo de 12 g/dL	De 12 g/dL a 16 g/dL		
Uso TRH	Sim	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	2 10,0%	18 90,0%	20 100,0%
	Não	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	1 2,4%	40 97,6%	41 100,0%
Total		Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	3 4,9%	58 95,1%	61 100,0%

Quanto aos valores de hematócrito, nenhuma mulher que faz uso de TRH apresentou valores superiores a 48% e apenas 5% (1/20) apresentaram valores abaixo da normalidade, de 36% de HCT. Entre as pacientes que não utilizam a TRH, a grande maioria, 97,6% (40/41), teve um hematócrito normal, entre 36% a 48%, conforme ilustra a Tabela 2.

A relação entre o uso de TRH e os resultados dos valores da hemoglobina corpuscular média, o HCM, está expressa na Tabela 3.

Tal relação demonstra que, entre as mulheres que fazem uso de TRH, apenas 10% (2/20) revelaram um peso

superior dos eritrócitos, com HCM acima de 33 pg, enquanto que em 100% das mulheres que não utilizam a TRH o HCM encontra-se dentro dos valores de normalidade, de 27pg a 33 pg.⁽¹⁵⁾

Quanto ao CHCM, concentração de hemoglobina corpuscular média, outro índice hematimétrico que avalia a cor dos eritrócitos, os valores foram mais discrepantes, conforme a Tabela 4. Na normalidade, de 32 pg a 36 pg, encontram-se 75% (15/20) das mulheres que fazem uso de TRH e 87,8% (36/41) das pacientes que não utilizam ou nunca fizeram uso de TRH.

Tabela 2 - Uso de TRH x Hematócrito (HCT)

		HCT			Total	
		Abaixo de 36%	De 36% a 48%	Acima de 48%		
Uso TRH	Sim	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	1 5,0%	19 95,0%	0 0%	20 100,0%
	Não	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	0 0%	40 97,6%	1 2,4%	41 100,0%
Total		Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	1 1,6%	59 96,7%	1 1,6%	61 100,0%

Tabela 3 - Uso de TRH x HCM

		HCM		Total	
		De 27 pg a 33 pg	Acima de 33 pg		
Uso TRH	Sim	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	18 90,0%	2 10,0%	20 100,0%
	Não	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	41 100,0%	0 0%	41 100,0%
Total		Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	59 96,7%	2 3,3%	61 100,0%

Tabela 4 - Uso de TRH x CHCM

		CHCM			Total	
		Abaixo de 32 pg	De 32 pg a 36 pg	Acima de 36 pg		
Uso TRH	Sim	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	4 20,0%	15 75,0%	1 5,0%	20 100,0%
	Não	Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	5 12,2%	36 87,8%	0 0%	41 100,0%
Total		Mulheres pós-menopausa % dentro de uso de TRH	9 14,8%	51 83,6%	1 1,6%	61 100,0%

Conforme descrito anteriormente, para o VCM, 100% das mulheres analisadas encontraram-se dentro da faixa considerada normal, de 80 fL a 100 fL, independente do uso ou não de TRH. O mesmo foi verificado para o RDW, onde a totalidade das pacientes possui valores entre 11% a 14,5%, considerados normais, segundo Oliveira.⁽¹⁵⁾

DISCUSSÃO

Inicialmente deve-se distinguir a fase pré e pós-menopausa, principalmente quanto aos sintomas e consequências no organismo feminino. O período pré-menopausa é caracterizado por menstruações irregulares que alteram períodos sem sangramento e períodos de sangramento em demasia, o que pode resultar em perdas consideráveis de sangue de uma só vez, desencadeando assim um desequilíbrio de ferro devido a perdas fisiológicas, mas elevadas, desse elemento no organismo, o que pode ser a possível causa de anemia em mulheres pré-menopáusicas.⁽¹⁶⁾

O período pós-menopausa, neste trabalho avaliado na prática, considera o término definitivo da menstruação, ou seja, as pacientes apresentam no mínimo um ano de amenorreia, sem sangramento algum. Nesse caso, segundo Rêsió et al., a alteração mais frequente é, além do equilíbrio de ferro positivo, a concentração da hemoglobina aumentada, que se deve ao fato das perdas sanguíneas causadas pela menstruação irregular, presente na pré-menopausa, terem cessado por completo, levando a acúmulos no organismo feminino.⁽⁸⁾

Nesses casos, entende-se que quadros anêmicos seriam achados pouco prováveis no estudo prático desenvolvido, uma vez que a população de amostra foram mulheres do período pós-menopausa. Assim, apesar de se detectarem três casos de concentração diminuída de hemoglobina, nenhum deles caracterizou um quadro de anemia com significância clínica, uma vez que as pacientes não demonstraram alterações significativas nos demais aspectos analisados, como, por exemplo, os índices hematimétricos, que ajudam a determinar o perfil hematológico da série vermelha do sangue.

Quanto à concentração interna de hemoglobina ou seu conteúdo nos eritrócitos, foram verificadas pequenas alterações nos índices HCM e CHCM. No entanto, os valores mínimos de desvio padrão para ambos os resultados demonstraram a homogeneidade dos dados que não implicariam em alterações hematológicas relacionadas à menopausa. Além disso, o número de glóbulos vermelhos também não apresentou modificações significativas nas mulheres analisadas, independentes de fazerem ou não uso de TRH.

Dessa forma, acredita-se que os casos superficiais de anemias verificados por uma concentração diminuída de hemoglobina muito pouco significativa estão relacionados talvez a uma deficiência de ferro em função de uma alimen-

tação inadequada ou, ainda, a pequenas perdas sanguíneas paralelas, de causas variadas e desconhecidas.

Ressalta-se que a análise de aspectos secundários relacionados a possíveis quadros anêmicos como, por exemplo, doenças do trato gastrointestinal, é muito comum nos estudos que envolvem mulheres no período pré-menopausa. Isso porque, para que o sangramento irregular do climatério seja a causa direta da anemia, todas as demais hipóteses relacionadas a perdas sanguíneas devem ser descartadas. Por isso, os autores que investigam quadros anêmicos realizam estudos multidisciplinares envolvendo avaliações ginecológicas e gástricas, através de exames que contemplem todo o aparelho digestivo, como endoscopias e colonoscopias, radiografia gastrointestinal e exame de sangue oculto em fezes, a fim de comprovar que a anemia tenha uma só causa, a ginecológica, uma vez que a anemia por deficiência de ferro não é incomum em mulheres pré-menopáusicas.⁽¹⁶⁻¹⁹⁾

Quanto ao achado mais provável proposto pela literatura, o acúmulo de ferro em estoque no organismo feminino pós-menopausa, acredita-se que a melhor análise para sua comprovação seria a determinação de ferritina sérica. No entanto, estes testes não foram neste trabalho analisados, ficando a oportunidade de seguimento do estudo desenvolvido, ou ainda, novas pesquisas no sentido de elucidar melhor o assunto, proporcionando garantia dos resultados propostos, uma vez que não foram encontrados muitos dados na literatura que comprovassem alterações específicas no eritrograma de mulheres pós-menopausa.

Por fim, quanto aos apanhados teóricos analisados, verificou-se a importância em conhecer, prevenir e identificar precocemente os problemas que estão relacionados ao período da menopausa, no qual a mulher passa por modificações corporais e endócrinas que interferem no físico, no psíquico e no social, uma vez que, além dos sinais e sintomas corriqueiros que acompanham estreitamente a interrupção da função ovariana normal, não foram observados maiores alterações que influenciariam tanto a saúde quanto o bem-estar das mulheres pós-menopáusicas.

CONCLUSÃO

Apesar de existirem atitudes conservadoras que consideram a menopausa uma enfermidade que ocorre em todas as mulheres, comprovou-se por meio de exames hematológicos que as alterações nas células vermelhas deste período de vida feminino não são significativas quanto menos patológicas. Além disso, pôde-se verificar que a Terapia de Reposição Hormonal (TRH) não é fator determinante nas alterações hematológicas encontradas nas mulheres pós-menopáusicas.

Dessa forma, acredita-se que a interrupção natural da perda sanguínea, associada às alterações hormonais pró-

prias do organismo feminino, ou aquelas artificiais, induzidas pela TRH, não interferem na hematopoiese, ou seja, no processo de formação de células sanguíneas, tais como os eritrócitos.

Em suma, à guisa de conclusão, pode-se dizer que o significado da menopausa depende mais de aspectos culturais, influências sociais e conhecimento pessoal, bem como da interação entre esses fatores ao longo da vida. A atitude dos profissionais envolvidos nos cuidados de mulheres no climatério deve variar de acordo com a maneira como se percebe o fenômeno, apesar do período do climatério ser frequentemente visto com preocupação pelas mulheres, correlacionado a problemas e sintomas diversos. Por isso, cabe aos pesquisadores e estudantes das áreas da saúde investigar todos os aspectos relacionados à menopausa, suas transformações e/ou complicações, a fim de elucidar a biologia feminina nos mais variados âmbitos, detalhando ao máximo este fenômeno, permitindo a melhora da qualidade e o aumento na expectativa de vida destas mulheres.

Abstract

Menopause is a feminine physiologic phenomenon due to the exhaustion of the ovarian follicles that it happens in all of the women of stocking age, following by the progressive fall of the estradiol secretion, culminating with the definitive interruption of the menstrual cycles and the appearance of characteristic symptoms. The modifications, that are not just physics, vary from psychological aspects, alterations in the lifestyle and, with passing of the age, consequent disturbances in these women's routine medical examinations. With the objective of investigating women's hematological alterations in the period powder-menopause, in other words, with at least a year of amenorrhoea, residents in the municipal district of Catuípe/RS, in the urban area, he/she took place the analysis of the eritrograma, fraction of the blood count that determines the profile of the red cells of the blood. Besides, the possible certain alterations were correlated with the use, or no, of Therapy of Hormonal Replacement (TRH) in the menopausal women included in the study. The results revealed that the menopause, while feminine, associated natural phenomenon or no TRH, doesn't interfere in the production of erythrocytes of the blood nor, either, it promotes significant alterations in the hemoglobin values, hematócrito and in the indexes analyzed hematimétricos, such like VCM, HCM, CHCM and RDW.

Keywords

Menopause; Erythrogram; Anemia; Hormonal Replacement Therapy

REFERÊNCIAS

- Costa GMC, Gualda, DMR. Conhecimento e significado cultural da menopausa para um grupo de mulheres. In: Revista da Escola de Enfermagem da USP. 2008;42(1):81-9. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0080-62342008000100011&lng=pt&nrm=iso>.
- Valadares AL, Pinto-Neto AM, Conde DM, Osis MJ, Sousa MH; Costa-Paiva L. The opinion of women on menopause and treatment of its symptoms. Rev Assoc Med Bras (1992). 2008 Jul-Aug;54(4):299-304. [Article in Portuguese].
- França AP. Estado nutricional e risco de doença cardiovascular em mulheres no climatério atendidas em um ambulatório da cidade de São Paulo. 2003. 83p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo FCF /FEA /FSP, São Paulo, 2003.
- Brasil. Ministério da Saúde. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/area.cfm?id_area=124>.
- De Lorenzi DRS, Danelon C, Saciloto B, Padilha Jr I. Fatores indicadores da sintomatologia climatérica. In: Rev Bras Ginecol Obstet. 2005; 27(1):12-9. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbgo/v27n1/24286.pdf>>.
- Pacifici R, Browns C, Puscheck E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. Proc Natl Acad Sci USA. 1991 Jun 15;88(12):5134-8.
- Freitas EV, Pimenta L. Climatério. In: Freitas EV, Py L, Neri AL, et al. editores. Tratado de Geriatria e Gerontologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002, 487 p.
- Résio MPZ, Souza AM; Toloi MRT; Gregório ZMO; Montes MBA, Franceschini SA; Castro FA. Efeito da terapia de reposição hormonal sobre o estado fértil. J. Bras. Patol. Med. Lab. [Internet]. 2003 39(4):295-300. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1676-24442003000400006&lng=pt.
- Wygoda MM, Filippa Jr. RB, Gomes MAS, Clapach R. Monitorizando a terapia de reposição estrogênica (TRE) na menopausa. Arq Bras Endocrinol Metab [online]. 1999, vol.43, n.5, p.336-343. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-27301999000500005&lng=pt&nrm=iso>.
- Zanini AC, Oga S. Farmacologia Aplicada. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 739 p.
- Katzung, Bertram G. Farmacologia: Básica & Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. 1054 p.
- Goodmann LS, Gilman AG. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1987. 1195 p.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Cidades@. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>.
- Verrastro T, Lorenzi TF, Wendell Neto S. Hematologia e Hemoterapia - Fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.
- Oliveira, Raimundo Antônio Gomes. Hemograma: como fazer e interpretar. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007. 505 p.
- Kepczyk T, Cremens JE, Long BD, Bachinski MB, Smith LR, McNally PR. A prospective, multidisciplinary evaluation of premenopausal women with iron-deficiency anemia. Am J Gastroenterol. 1999 Jan;94(1):109-15.
- Fireman Z, Zachlka R, Abu Mouch S, Kopelman, Y. The role of endoscopy in the evaluation of iron deficiency anemia in premenopausal women. Isr Med Assoc J. 2006. Feb;8(2):88-90. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16544728?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.ubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=3>.
- Green BT, Rockey DC. Gastrointestinal endoscopic evaluation of premenopausal women with iron deficiency anemia. J Clin Gastroenterol. 2004 Feb;38(2):104-9. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14745282?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=6>.
- Robson K, Barto A, Liberman RF. The evaluation of premenopausal women with anemia: what is the yield of gastrointestinal endoscopy? Dig Dis Sci. 2009 Aug;54(8):1667-71. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19034654?itool=EntrezSystem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum&ordinalpos=1>.

Correspondência

Marilei Uecker Pletsch

Rua Vicente Licínio, 99 – Tijuca
20270-902 – Rio de Janeiro-RJ, Brasil
e-mail rbac@sbac.org.br

Ácido metilmalônico no diagnóstico das anemias megaloblásticas

Methylmalonic acid in diagnosis of megaloblastic anemias

Caroline Pereira Domingueti
Ana Paula Salles Moura Fernandes
Karina Braga Gomes Borges
Luci Maria Sant'Ana Dusse
Maria das Graças Carvalho

Resumo

As principais causas de anemia megaloblástica consistem nas deficiências de vitamina B12 e/ou de ácido fólico, sendo muito importante o diagnóstico diferencial entre estas deficiências, já que a administração de ácido fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas sem impedir a progressão da doença neurológica. As manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 podem ocorrer mesmo quando os níveis plasmáticos desta vitamina estão dentro dos valores de referência, de modo que também é muito importante o diagnóstico da doença subclínica. A determinação de parâmetros associados à vitamina B12, como ácido metilmalônico e homocisteína, tem emergido como ferramenta adicional para melhorar o diagnóstico desta doença subclínica como também tem facilitado a realização do diagnóstico diferencial entre as deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico. Dessa forma, a determinação destes parâmetros constitui uma ferramenta com grande potencialidade para aperfeiçoar o diagnóstico das anemias megaloblásticas nos laboratórios clínicos. Considerando as limitações relacionadas à determinação e interpretação dos níveis plasmáticos de vitamina B12, o principal objetivo desta revisão consiste em alertar os profissionais que lidam com esta questão sobre a importância da doença subclínica e dos métodos laboratoriais mais recentes potencialmente aplicáveis para melhorar o diagnóstico desta condição. Todavia, muitas lacunas ainda persistem quanto à devida abordagem e confirmação de casos suspeitos de deficiência de vitamina B12 e/ou ácido fólico, o que indubitavelmente demanda estudos adicionais.

Palavras-chave

Ácido fólico; Vitamina B12; Ácido metilmalônico; Homocisteína; Anemia megaloblástica.

INTRODUÇÃO

As anemias megaloblásticas consistem em um grupo de doenças com alterações morfológicas similares na medula óssea, que cursam com macrocitose. Estas alterações possuem em comum uma redução na síntese de DNA, o que leva a um comprometimento da hematopoiese normal e ao surgimento de alterações morfológicas nos precursores dos eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Além disso, ocorrem alterações em outros locais onde há grande proliferação celular, como intestino delgado, língua e útero. Contudo, as alterações da medula óssea são as mais expressivas.⁽¹⁾

Dentre as anemias megaloblásticas, destaca-se por sua importância clínica a anemia perniciosa, a qual resulta da deficiência de vitamina B12. A anemia perniciosa clássica geralmente não apresenta grandes dificuldades para o diagnóstico, já que os pacientes portadores desta doença apresentam os sintomas característicos de anemia macrocítica, glossite e alterações neurológicas, sendo então facilmente reconhecidos. O principal desafio diagnósti-

co consiste nos pacientes que desenvolvem uma deficiência leve ou subclínica de vitamina B12, frequentemente sem a presença de anemia. Embora seja difícil diagnosticar estes pacientes, é importante fazê-lo, pois as manifestações neurológicas podem ser irreversíveis se o tratamento for iniciado tardiamente. Este desafio diagnóstico levou à pesquisa por marcadores bioquímicos precoces da deficiência de vitamina B12 e, assim, ao desenvolvimento de métodos aperfeiçoados para a determinação de dois metabólitos que se acumulam quando há deficiência de vitamina B12: o ácido metilmalônico plasmático e urinário e a homocisteína total plasmática.⁽²⁾

Vitamina B12 (cobalamina)

A vitamina B12 corresponde somente à cianocobalamina, contudo, várias outras cobalaminas possuem propriedades nutricionais idênticas, de modo que, na literatura hematológica, os termos cobalamina e vitamina B12 são utilizados como sinônimos. A vitamina B12 é sintetizada pelas bactérias e é encontrada no solo e na água contami-

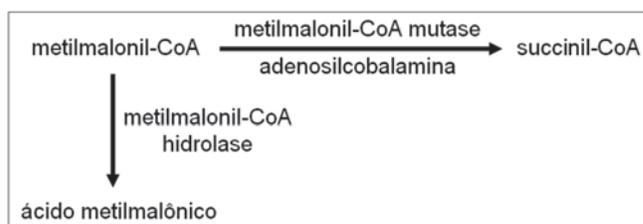
nada. Alimentos de origem animal (carne, ovos e leite) consistem nas fontes dietéticas primárias. A quantidade média de vitamina B12 na dieta ocidental (5 µg a 15 µg/dia) é mais do que suficiente para suprir as necessidades diárias de 2 µg/dia. Assim, exceto pelos vegetarianos estritos, a presença de deficiência de vitamina B12 geralmente resulta de um problema na absorção desta vitamina. O corpo armazena uma grande quantidade de vitamina B12 (2 mg a 5 mg) em relação aos requerimentos diários. Assim, são necessários de dois a cinco anos para o desenvolvimento da deficiência de vitamina B12, mesmo ocorrendo uma grande deficiência na absorção.⁽³⁾

Após a ingestão de produtos de origem animal, a vitamina B12 presente nestes alimentos chega ao estômago ligada a proteínas animais, onde esta é liberada pela ação da pepsina e do ácido clorídrico, e se liga à haptocorrina produzida pelas glândulas salivares. No intestino, a haptocorrina é degradada pelas enzimas pancreáticas, e a vitamina B12 se liga ao fator intrínseco, uma proteína sintetizada pelas células parietais gástricas e secretada no suco gástrico. O complexo fator intrínseco-vitamina B12 é internalizado na parte distal do intestino, no íleo terminal, através do receptor deste complexo, e, então, o fator intrínseco é degradado por proteólise, de modo que somente a vitamina B12 entra na circulação sistêmica. Acredita-se que aproximadamente 1% da vitamina B12 ingerida é absorvida por difusão passiva na sua forma livre, o que explica o fato da deficiência de vitamina B12 poder ser tratada com uma grande dose de vitamina B12 oral. Na circulação, a vitamina B12 se liga à transcobalamina II ou às haptocorrinas plasmáticas (transcobalaminas I e III). A vitamina B12 ligada à transcobalamina II consiste na holotranscobalamina, a qual representa a fração biologicamente ativa que é liberada em todos os tecidos do corpo, enquanto que a função das haptocorrinas é desconhecida.^(2,4) Alguns estudos têm sugerido que a determinação da holotranscobalamina plasmática consiste em um método mais confiável para avaliar a vitamina B12 biologicamente ativa e a disponibilidade desta para os tecidos do que a vitamina B12 total, contudo, sua utilidade clínica ainda não está bem estabelecida.⁽⁵⁾ Após a captação celular da holotranscobalamina, a transcobalamina II é degradada, e a vitamina B12 atua como uma coenzima em reações enzimáticas.⁽²⁾

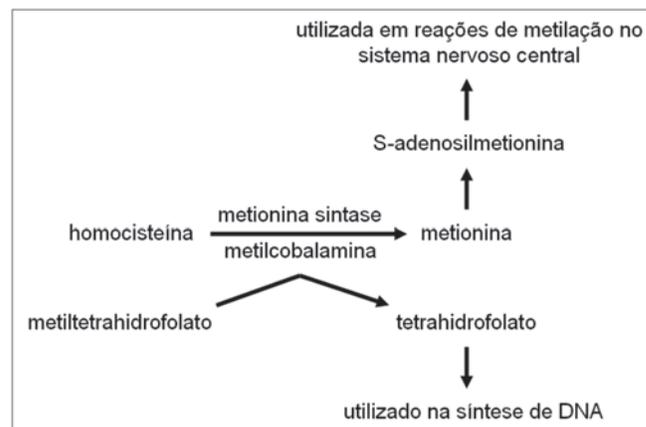
Nos mamíferos, apenas duas reações enzimáticas dependentes da vitamina B12 foram identificadas. Uma delas envolve a conversão do metilmalonil-CoA a succinil-CoA, catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, utilizando a adenosilcobalamina como cofator (Quadro 1). A deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento de metilmalonil-CoA e do produto da sua hidrólise, o ácido metilmalônico. A outra reação dependente da vitamina B12 envolve a conversão da homocisteína à metionina catalisada pela enzima metionina sintase, utilizando a metilcobalamina

como cofator, que é acompanhada, na mesma reação enzimática, da conversão do metiltetrahydrofolato a tetrahydrofolato (Quadro 2). Como o tetrahydrofolato é necessário para a síntese normal de DNA, a deficiência de vitamina B12 resulta em um comprometimento da síntese de DNA, o que impede a divisão celular na medula óssea e resulta no desenvolvimento de uma hematopoiese megaloblástica. Além disso, o comprometimento desta reação enzimática na deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento dos níveis plasmáticos de homocisteína total.⁽³⁾

A produção de S-adenosilmetionina a partir da metionina é crítica para a função do sistema nervoso, o que explica os efeitos neuropáticos da deficiência de vitamina B12. Embora o folato seja necessário para a produção de S-



Quadro 1. Conversão do metilmalonil-CoA a succinil-CoA catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, utilizando a adenosilcobalamina como cofator, e conversão do metilmalonil-CoA a ácido metilmalônico catalisada pela enzima metilmalonil-CoA hidrolase.



Quadro 2. Conversão da homocisteína a metionina catalisada pela enzima metionina sintase, utilizando a metilcobalamina como cofator e o metiltetrahydrofolato como cossubstrato.

adenosilmetionina, as complicações neurológicas são incomuns na deficiência de ácido fólico, provavelmente porque a célula desenvolve mecanismos alternativos que preservam o suprimento de S-adenosilmetionina quando há privação de folato.⁽⁶⁾

Ao contrário do folato da dieta, o ácido fólico sintético (ácido pteroilglutâmico) é reduzido diretamente a tetrahydrofolato sem a necessidade da vitamina B12 como cofator. Por isso, a administração de suplementos de ácido

fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas megaloblásticas, mas sem impedir a progressão da doença neurológica, de modo que o tratamento inadequado da deficiência de vitamina B12 com ácido fólico pode causar uma degeneração nervosa irreversível.⁽³⁾

A deficiência de vitamina B12 deve ser suspeitada em todos os pacientes com anemia inexplicada e/ou sintomas neurológicos, assim como nos indivíduos com risco de desenvolvimento de deficiência de vitamina B12, como os idosos, os pacientes com doenças intestinais e os vegetarianos estritos.⁽⁷⁾ As gestantes vegetarianas constituem um grupo de elevado risco, já que a deficiência desta vitamina durante a gestação pode levar à má formação fetal decorrente de defeitos no desenvolvimento do tubo neural.⁽⁸⁾

Os sintomas neurológicos mais comuns são parestesia das extremidades, entorpecimento, fraqueza muscular e ataxia, embora demência e psicose também possam ocorrer.⁽⁹⁾ Embora as anormalidades hematológicas frequentemente se desenvolvam antes do estabelecimento da doença neurológica, mais de um quarto dos pacientes com manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 apresentam ou o hematócrito normal ou o volume corpuscular médio normal, sendo que, algumas vezes, ambos são normais.⁽¹⁰⁾ A deficiência de vitamina B12 também está associada a um risco aumentado para o desenvolvimento de lesões vasculares oclusivas secundárias à hiper-homocisteinemia.⁽¹¹⁾

A principal causa da deficiência de vitamina B12 consiste em má absorção, a qual pode ser decorrente de anemia perniciosa (uma doença autoimune, em que ocorre atrofia e inflamação crônica da mucosa gástrica, levando à ausência de fator intrínseco e da secreção de ácido clorídrico), insuficiência pancreática, doença ou ressecção ileal, gastrectomia parcial ou total, gastrite atrófica, má absorção da vitamina B12 ligada às proteínas, deficiência congênita ou anormalidade do fator intrínseco, induzida por fármacos (colchicina, neomicina, ácido p-aminosalicílico, omeprazol, colestiramina, antagonistas H2). Além disso, a deficiência de vitamina B12 pode ser resultante da carência na dieta devido ao vegetarianismo estrito; da competição biológica da vitamina B12 da dieta devido a uma proliferação de bactérias no intestino, que consomem a vitamina B12, ou a uma infestação pelo cestódeo *Diphyllobotrium latum*; ou da deficiência na utilização da vitamina devido à deficiência congênita de transcobalamina II, que é o seu transportador.⁽¹⁾

Uma circulação entero-hepática ativa conserva a vitamina B12 no corpo, sendo que, uma vez que a vitamina B12 retorna ao intestino pela bile, o fator intrínseco é novamente necessário para a reabsorção. Quando comparados com os pacientes que apresentam anemia perniciosa, os vegetarianos estritos, os quais produzem normalmente o fator

intrínseco, retêm mais vitamina B12 da circulação entero-hepática, e, assim, demoram mais para se tornarem deficientes em vitamina B12 (dez a vinte anos).⁽³⁾

A deficiência subclínica de vitamina B12 é comum entre os indivíduos idosos, podendo resultar em graves problemas neurológicos.⁽¹²⁾ Devido ao elevado risco de desenvolvimento de deficiência de vitamina B12 entre os idosos e vegetarianos nos países mais ricos e à grande prevalência da deficiência desta vitamina nas populações dos países mais pobres, tem sido considerada a possibilidade de se utilizarem suplementos vitamínicos e/ou alimentos fortificados com vitamina B12 para reduzir o risco de deficiência desta vitamina nestas populações e também entre as gestantes.^(13,14)

Ácido fólico (folato)

O termo ácido fólico pode designar um composto específico, ácido pteroilglutâmico, porém este é mais comumente utilizado como um termo geral de uma classe de compostos relacionados (também denominados folatos) que possuem atividade nutricional semelhante. O ácido fólico é sintetizado por microrganismos e por plantas e está amplamente distribuído na dieta. Vegetais, frutas, laticíneos e cereais são as fontes mais importantes. A ingestão média ocidental de 200 µg a 300 µg/dia está próxima das necessidades diárias. Ao contrário da vitamina B12, o corpo armazena o folato em uma quantidade pequena em relação às necessidades diárias (5 mg a 10 mg).⁽³⁾ Assim, as reservas corporais de folato se tornam depletadas mais rapidamente do que as reservas corporais de vitamina B12, sendo que a macrocitose decorrente da deficiência de ácido fólico pode se desenvolver em cerca de cinco meses após a adoção de uma dieta deficiente nesta vitamina.⁽¹⁵⁾

As coenzimas folato transferem unidades de carbono durante o metabolismo dos aminoácidos e a síntese das purinas e pirimidinas. O metilenotetrahydrofolato, um derivado do tetrahydrofolato, é necessário para a metilação dependente da timidilato sintase do deoxiuridilato para gerar o timidilato, uma etapa limitante na síntese de DNA. Na deficiência de folato, e indiretamente na deficiência da vitamina B12, esta reação é prejudicada acarretando um comprometimento da síntese de DNA e o desenvolvimento de uma hematopoiese megaloblástica. Além disso, a deficiência desta vitamina resulta no acúmulo do substrato homocisteína.⁽¹⁵⁾

O folato dos alimentos é susceptível à oxidação quando estes são aquecidos ou cozidos na água. Estima-se que 50% ou mais da vitamina podem ser perdidos durante o cozimento, especialmente quando o alimento é fervido. A maioria dos folatos é derivada do poliglutamato e devem ser convertidos a monoglutamato no intestino antes da absorção.⁽¹⁶⁾ A absorção do folato ocorre no jejuno, e o seu

principal local de armazenamento é o fígado. A distribuição do folato para outros tecidos depende principalmente da circulação entero-hepática, em que o folato é reabsorvido da bile para o plasma. A interrupção do fluxo da bile resulta em uma redução imediata dos níveis plasmáticos de folato. De modo semelhante, a ingestão de álcool interfere na liberação do folato do fígado para a bile, causando uma rápida diminuição nos níveis plasmáticos de folato.^(17,18)

A deficiência de ácido fólico geralmente é suspeitada devido à presença de anemia ou macrocitose inexplicada. Quando doenças neuropsiquiátricas são encontradas em pacientes com deficiência de ácido fólico, provavelmente eles devem apresentar também uma deficiência de vitamina B12 ou outras doenças.⁽¹⁾ Contudo, há algumas evidências de que, em algumas ocasiões, depressão, demência e outras síndromes neurológicas possam ser causadas pela deficiência de ácido fólico.⁽¹⁹⁾

As principais causas da deficiência de ácido fólico são ingestão inadequada na dieta; aumento das demandas da vitamina que ocorre durante a gravidez, na infância, e na presença de doenças associadas a uma rápida proliferação celular, como anemias hemolíticas, doenças neoplásicas e psoríase; má absorção decorrente de doenças jejunais ou de síndromes do intestino; competição biológica pelo folato da dieta devido à proliferação bacteriana; e induzida por drogas (anticonvulsivantes, anticoncepcionais orais, sulfasalazina, metotrexato, agentes antifólicos e agentes alquilantes).⁽¹⁾

Diagnóstico laboratorial das deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico

Volume corpuscular médio

A macrocitose (volume corpuscular médio > 100 fL) com ou sem anemia é um achado comum em adultos. Pacientes com um volume corpuscular médio elevado podem apresentar uma doença megaloblástica, definida pela presença de alterações morfológicas na medula óssea que refletem um comprometimento na síntese de DNA, ou uma doença não megaloblástica. A presença de alterações megaloblásticas na medula óssea geralmente implica o diagnóstico de deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico.⁽²⁰⁾

Nos pacientes com deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, o volume corpuscular médio tende a aumentar antes que os níveis de hemoglobina diminuam significativamente. Contudo, mesmo quando há evidência bioquímica de deficiência de vitamina, o volume corpuscular médio pode permanecer dentro da faixa de referência, principalmente se uma deficiência de ferro ou talassemia estiver presente concomitantemente.⁽²¹⁾

O volume corpuscular médio também carece de especificidade para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12

e de ácido fólico. Algumas causas não megaloblásticas de macrocitose com ou sem anemia consistem no alcoolismo, doenças hepáticas, anemias hemolíticas, hipotireoidismo, síndromes mielodisplásicas e uso de agentes quimioterápicos.⁽²⁰⁾

Filme do sangue periférico

O exame do filme sanguíneo mostra alterações eritrocitárias úteis para o diagnóstico da anemia megaloblástica, como macro-ovalócitos, poiquilocitose com esquistócitos, dacriócitos, corpúsculos de Howell-Jolly, anel de Cabot, eritroblastos e até mesmo megaloblastos, conforme o grau de anemia. A hipersegmentação dos neutrófilos é o sinal mais precoce da disfunção da granulopoese, aparecendo mesmo antes da macrocitose e da anemia e persistindo por dias ou semanas após o início do tratamento. A presença de neutrófilos hipersegmentados é altamente sensível e específica para o diagnóstico da anemia megaloblástica.⁽¹⁾

Determinação da vitamina B12 plasmática

A determinação da vitamina B12 plasmática consiste na primeira linha de investigação para avaliar os níveis de vitamina B12. Dependendo da técnica utilizada para a determinação, o limite inferior dos níveis normais de vitamina B12 plasmática varia, sendo geralmente em torno de 148 pmol/L (200 pg/mL).⁽³⁾ A sensibilidade desta determinação é de 95% a 97%, de modo que um nível plasmático normal de vitamina B12 não exclui completamente a possibilidade de deficiência desta vitamina.⁽¹⁵⁾

Estudos com populações idosas demonstraram que ocorre um aumento dos metabólitos relacionados à vitamina B12, ácido metilmalônico plasmático e homocisteína total plasmática, em uma proporção significativa de indivíduos que possuem níveis normais de vitamina B12. Em um destes estudos, 35% dos indivíduos com níveis plasmáticos de vitamina B12 próximos do limite inferior (140-258 ng/L) e 24% dos indivíduos com níveis plasmáticos elevados de vitamina B12 (>258 ng/L) apresentaram níveis plasmáticos elevados de ácido metilmalônico e/ou de homocisteína total, sendo que 12% e 11% destes indivíduos, respectivamente, apresentaram níveis plasmáticos elevados apenas de ácido metilmalônico.⁽²²⁾

Níveis plasmáticos reduzidos de vitamina B12 não são específicos da deficiência de vitamina B12, podendo também ser encontrados na deficiência de ácido fólico, gravidez, infecção por HIV, mieloma, deficiência leve ou grave de transcobalamina I e em pacientes que recebem anticonvulsivantes. Quando os níveis plasmáticos de vitamina B12 são determinados, os níveis de folato também devem ser determinados para avaliar a possibilidade de que a deficiência primária possa ser de ácido fólico ao invés de vitamina B12.⁽¹⁵⁾ Nestes pacientes, os níveis plasmáticos de vita-

mina B12 retornam ao normal após a terapia com folato. Contudo, se após a administração de folato os níveis plasmáticos de vitamina B12 não retornarem ao normal, uma deficiência concomitante de vitamina B12 pode estar presente.⁽³⁾

Determinação do folato plasmático e do folato eritrocitário

Os níveis plasmáticos de folato diminuem após poucos dias de restrição dietética, embora os estoques teciduais possam estar normais. Dependendo da técnica utilizada para a determinação, o limite inferior dos níveis normais de folato no plasma varia, mas geralmente está em torno de 6,8 nmol/L (3,0 ng/mL). A concentração de folato nos eritrócitos é muito maior do que a concentração plasmática, de modo que um leve grau de hemólise pode causar um falso aumento nos níveis plasmáticos de folato.⁽³⁾

Os níveis de folato no plasma refletem principalmente a ingestão recente de folato e, conseqüentemente, são mais úteis na detecção da deficiência aguda de ácido fólico do que da deficiência crônica. Por outro lado, os níveis de folato nos eritrócitos correspondem à medida do estado de folato dos três meses precedentes.⁽¹⁵⁾ Isto ocorre porque depois que o folato atinge a maioria dos tecidos, incluindo os eritrócitos, este permanece nestas células até que estas sejam destruídas. Assim, o conteúdo de folato dos eritrócitos representa a média das concentrações de folato durante toda a vida de cada glóbulo vermelho, o que é muito menos dependente das flutuações dietéticas. Por isso, a determinação dos níveis de folato dos eritrócitos tem sido considerada um método mais eficaz para avaliar os estoques teciduais de folato. Além disso, tem sido observado que os níveis de folato dos eritrócitos se correlacionam mais fortemente com a presença de alterações megaloblásticas no esfregaço do sangue periférico e na medula óssea do que os níveis plasmáticos de folato, e a concentração de folato dos eritrócitos é quarenta a cem vezes maior do que a plasmática, o que a torna mais fácil de ser medida.⁽²³⁾

Contudo, limitações de sensibilidade e especificidade reduzem o valor da determinação do folato eritrocitário. Tem sido observado que o folato eritrocitário encontra-se baixo em quase dois terços dos pacientes com deficiência de vitamina B12, o que se deve provavelmente ao fato de que a vitamina B12 é necessária para a transferência normal do metiltetrahydrofolato do plasma para as células. Assim, este teste não possibilita o diagnóstico diferencial das anemias megaloblásticas.⁽¹⁾

Determinação do ácido metilmalônico plasmático e urinário, e da homocisteína total plasmática

A homocisteína é formada a partir da desmetilação da metionina através de reações que dependem da S-adenosilmetionina. O seu metabolismo posterior é dependente de várias vitaminas do complexo B. A homocisteína pode ser convertida novamente à metionina, através de uma reação que é catalisada na maioria dos tecidos por uma enzima metionina sintase ubíqua (metiltetrahydrofolato homocisteína metiltransferase), a qual requer metiltetrahydrofolato como cossustrato e metilcobalamina como cofator. Alternativamente, quando há um excesso de metionina, a homocisteína excedente é direcionada para a via de transulfuração, a qual converte a homocisteína em cisteína em uma reação catalisada por duas reações sequenciais dependentes da vitamina B6, sendo que a reação catalisada pela cistationina β -sintase consiste na etapa limitante. As deficiências de ácido fólico ou de vitamina B12 comprometem a remetilação da homocisteína, resultando em um aumento da homocisteína total plasmática.⁽²⁴⁾

O ácido metilmalônico é derivado da hidrólise do metilmalonil-CoA, que consiste em um intermediário metabólico da conversão do ácido propiônico a ácido succínico. Esta reação hidrolítica é catalisada pela enzima metilmalonil-CoA hidrolase. A conversão a succinil-CoA consiste em uma via metabólica alternativa da metilmalonil-CoA, catalisada pela enzima metilmalonil-CoA mutase, a qual requer adenosilcobalamina como cofator. Assim, a deficiência de vitamina B12 resulta em um aumento da concentração de ácido metilmalônico no plasma e na urina, o qual consiste em um marcador sensível e específico da deficiência desta vitamina.⁽²⁴⁾ O desenvolvimento de ensaios específicos para a determinação do ácido metilmalônico na urina, soro e plasma por meio de técnicas que possuem elevada sensibilidade e especificidade, como a cromatografia líquida ou gasosa acoplada à espectrometria de massa, tem tornado o ácido metilmalônico disponível para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12 e para a sua diferenciação da deficiência de ácido fólico.⁽²⁵⁾

O ácido metilmalônico é um marcador bastante específico da deficiência de vitamina B12, já que, além desta condição, este se encontra elevado apenas na insuficiência renal, hipovolemia e defeitos metabólicos congênitos raros que afetam a atividade da metilmalonil-CoA mutase.⁽²³⁾ Por outro lado, os níveis plasmáticos de homocisteína total podem estar elevados na deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, e também na deficiência de piridoxina, insuficiência renal, hipovolemia, hipotireoidismo e defeitos metabólicos congênitos.⁽²⁶⁾

Um nível elevado de ácido metilmalônico é mais específico para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12 do que um nível elevado de homocisteína, contudo, a determinação do ácido metilmalônico é cara, não está amplamente disponível e é demorada. As deficiências tanto de vitamina B12 quanto de ácido fólico podem resultar em um aumento dos níveis de homocisteína. Assim, os níveis de ácido fólico também devem ser avaliados nos pacientes com

hiper-homocisteinemia isolada. Além disso, a deficiência de ácido fólico pode causar uma falsa redução nos níveis plasmáticos de vitamina B12.⁽²⁷⁾

A insuficiência renal causa uma elevação nos níveis plasmáticos de ambos os metabólitos, embora esta elevação seja geralmente modesta quando comparada com aquela causada pela deficiência de vitamina B12. A determinação dos níveis de ácido metilmalônico na urina corrigida pela excreção de creatinina pode ser uma alternativa em relação à determinação do ácido metilmalônico no plasma, principalmente nos pacientes com doença renal ou hipovolemia.⁽²⁸⁾ Os níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total também aumentam com a idade, embora isto possa ser causado por um aumento da prevalência de deficiência subclínica de vitamina nos pacientes idosos.⁽²⁹⁾

A determinação dos níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total tem se mostrado mais sensível no diagnóstico da deficiência de vitamina B12 do que a determinação apenas dos níveis plasmáticos desta vitamina.⁽¹²⁾ Além disso, estes metabólitos consistem em marcadores mais precoces da deficiência de vitamina B12 nos tecidos, estando elevados mesmo antes do surgimento de manifestações hematológicas e da redução dos níveis plasmáticos de vitamina B12.⁽³⁰⁾

Nos pacientes com deficiência de vitamina B12 ou de ácido fólico, os níveis dos metabólitos tendem a normalizar 7 a 14 dias após o início da terapia de reposição. A redução dos níveis plasmáticos de ácido metilmalônico e de homocisteína total relacionada ao tratamento tem sido considerada uma evidência de deficiência da vitamina.⁽³¹⁾ Além disso, tem sido relatado que nos pacientes com deficiência de ácido fólico que são inadequadamente tratados com vitamina B12, a homocisteína total plasmática permanece elevada, e que os níveis aumentados de ácido metilmalônico e de homocisteína total na deficiência de vitamina B12 retornam ao normal após o tratamento com vitamina B12, mas não com folato. Assim, a determinação dos níveis dos metabólitos antes e após o início do tratamento tem sido proposta como um meio de distinguir a deficiência de vitamina B12 da deficiência de ácido fólico nos casos em que os níveis plasmáticos de ambas as vitaminas estão reduzidos.⁽³⁾

Quando os níveis elevados de homocisteína total ou de ácido metilmalônico e a normalização destes metabólitos em resposta à terapia de reposição são utilizados como um critério para o diagnóstico da deficiência de vitamina B12, aproximadamente 50% destes pacientes apresentam níveis plasmáticos de vitamina B12 acima de 200 pg/mL. Esta observação sugere que a utilização dos níveis plasmáticos reduzidos de vitamina B12 como um único método de diagnóstico pode levar ao subdiagnóstico de metade dos pacientes com deficiência tecidual de vitamina B12.⁽³¹⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico consistem nas principais causas de anemia megaloblástica, sendo que a deficiência de vitamina B12 ainda está associada com o desenvolvimento de distúrbios neurológicos. O diagnóstico diferencial entre estas deficiências é muito importante, já que a administração de suplementos de ácido fólico a pacientes com deficiência de vitamina B12 pode corrigir as alterações hematológicas megaloblásticas, mas sem impedir a progressão da doença neurológica.

As manifestações neurológicas da deficiência de vitamina B12 podem ocorrer mesmo na ausência de sintomas hematológicos, de modo que é muito importante o diagnóstico da doença subclínica, já que as alterações neurológicas podem frequentemente ser revertidas pelo diagnóstico precoce e tratamento adequado. O diagnóstico da deficiência de vitamina B12 geralmente é baseado na determinação dos níveis plasmáticos desta vitamina. Todavia, cerca de metade dos pacientes com doença subclínica apresentam níveis plasmáticos normais de vitamina B12.

A determinação do ácido metilmalônico plasmático e urinário e da homocisteína total plasmática tem se mostrado mais sensível para o diagnóstico da doença subclínica, já que estes metabólitos se encontram precocemente elevados na deficiência de vitamina B12. Além disso, a determinação destes metabólitos possibilita a realização do diagnóstico diferencial das anemias megaloblásticas, já que o ácido metilmalônico está elevado apenas na deficiência de vitamina B12, enquanto que a homocisteína está elevada na deficiência de ambas as vitaminas.

Assim, o emprego da determinação dos níveis do ácido metilmalônico e da homocisteína total parece contribuir para um aumento no diagnóstico precoce da deficiência de vitamina B12, principalmente nos pacientes com doença subclínica, além de facilitar a realização do diagnóstico diferencial entre as deficiências de vitamina B12 e de ácido fólico e o acompanhamento da resposta destes pacientes ao tratamento.

Para finalizar esta breve revisão, cumpre mencionar a abordagem de Carmel⁽³²⁾ sobre a deficiência subclínica de vitamina B12 encontrada em levantamentos epidemiológicos, cujo diagnóstico só é possível por meio de biomarcadores bioquímicos. Diante das dificuldades inerentes aos métodos utilizados para mensurar estes biomarcadores, seleção de *cutoffs*, interpretação de resultados e outras, recomenda-se uma leitura cuidadosa do trabalho citado acima buscando conhecer as limitações ainda existentes acerca deste tema.

Abstract

The main causes of megaloblastic anemia are the deficiencies of vitamin B12 and/or folic acid and it is very important the differential diagnosis between these deficiencies, since the administration of folic acid to

patients with vitamin B12 deficiency can correct the hematologic changes, without preventing the progression of neurological disease. The neurological manifestations of vitamin B12 deficiency can occur even when plasma levels of this vitamin are within the reference values, so that it is also very important the diagnosis of subclinical disease. The determination of parameters associated with vitamin B12, such as methylmalonic acid and homocysteine, have emerged as additional tools to improve the diagnosis of subclinical disease, and has also facilitated the realization of the differential diagnosis between vitamin B12 and folic acid. Thus, the determination of these parameters is a tool with great potential to improve the diagnosis of megaloblastic anemia in clinical laboratories. Considering the limitations related to the determination and interpretation of plasma levels of vitamin B12, the main objective of this review is to alert the professionals who deal with this issue on the importance of subclinical disease and the latest laboratory methods potentially applicable for improving the diagnosis of this condition. However, many gaps still exist regarding the proper approach and confirmation of suspected cases of vitamin B12 deficiency and/or folic acid, which undoubtedly will demand further study.

Keywords

Folic acid; Vitamin B12; Methylmalonic acid; Homocysteine; Megaloblastic anemia.

REFERÊNCIAS

- Malvezzi M, Zago MA. Deficiências de vitamina B12 e de folatos: anemias megaloblásticas. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia fundamentos e prática. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 195-210.
- Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency - an update. *Haematologica*. 2006; 91(11):1506-12.
- Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch Intern Med*. 1999;159(12):1289-98.
- Russell-Jones GJ, Alpers DH. Vitamin B12 transporters. *Pharm Biotechnol*. 1999;12:493-520.
- Vanderjagt DJ, Ujah IA, Ikeh EI, Bryant J, Pam V, Hilgart A, et al. Assessment of the vitamin B12 status of pregnant women in Nigeria using plasma holotranscobalamin. *ISRN Obstet Gynecol*. 2011;2011:365894.
- Weir DG, Scott JM. Brain function in the elderly: role of vitamin B12 and folate. *Br Med Bull*. 1999;55(3):669-82.
- Nexo E, Hansen M, Rasmussen K, Lindgren A, Gräsbeck R. How to diagnose cobalamin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1994; 219:61-76.
- Pepper MR, Black MM. B12 in fetal development. *Semin Cell Dev Biol*. 2011 Aug;22(6):619-23.
- Svenson J. Neurologic disease and vitamin B12 deficiency. *Am J Emerg Med*. 2007; 25(8):987.e3-4.
- Hin H, Clarke R, Sherliker P, Atoyebi W, Emmens K, Birks J, et al. Clinical relevance of low serum vitamin B12 concentrations in older people: the Banbury B12 study. *Age Ageing*. 2006;35(4):416-22.
- Ingenbleek Y, McCully KS. Vegetarianism produces subclinical malnutrition, hyperhomocysteinemia and atherogenesis. *Nutrition*. 2012 Feb;28(2):148-53.
- Hultberg B, Isaksson A, Nilsson K, Gustafson L. Markers for the functional availability of cobalamin/folate and their association with neuropsychiatric symptoms in the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2001;16(9):873-8.
- Allen LH, Rosenberg IH, Oakley GP, Omenn GS. Considering the case for vitamin B12 fortification of flour. *Food Nutr Bull*. 2010;31(1):36-46.
- Stover PJ. Vitamin B12 and older adults. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2010;13(1):24-7.
- Wickramasinghe SN. Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood Rev*. 2006;20(6):299-318.
- McNulty H, Pentieva K. Folate bioavailability. *Proc Nutr Soc*. 2004; 63(4):529-36.
- Fernández O, Carreras O, Murillo ML. Intestinal absorption and enterohepatic circulation of folic acid: effect of ethanol. *Digestion*. 1998;59(2):130-3.
- Cylwik B, Chrostek L. Disturbances of folic acid and homocysteine metabolism in alcohol abuse. *Pol Merkur Lekarski*. 2011;0(178):95-9.
- Stanger O, Fowler B, Piertz K, Huemer M, Haschke-Becher E, Semmler A, Lorenz S, Linnebank M. Homocysteine, folate and vitamin B12 in neuropsychiatric diseases: review and treatment recommendations. *Expert Rev Neurother*. 2006;9(9):1393-412.
- Kaferle J, Strzoda CE. Evaluation of macrocytosis. *Am Fam Physician*. 2009;79(3):203-8.
- Oosterhuis WP, Niessen RW, Bossuyt PM, Sanders GT, Sturk A. Diagnostic value of the mean corpuscular volume in the detection of vitamin B12 deficiency. *Scand J Clin Lab Invest*. 2000;60(1):9-18.
- Carmel R, Green R, Jacobsen DW, Rasmussen K, Florea M, Azen C. Serum cobalamin, homocysteine, and methylmalonic acid concentrations in a multiethnic elderly population: ethnic and sex differences in cobalamin and metabolite abnormalities. *Am J Clin Nutr*. 1999;70(5):904-10.
- Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem*. 2000;46(8 Pt 2):1277-83.
- Bjorke Monsen AL, Ueland PM. Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. *Am J Clin Nutr*. 2003;78(1):7-21.
- Lamers Y. Indicators and methods for folate, vitamin B12, and vitamin B6 status assessment in humans. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2011;14(5):445-54.
- Herrmann W, Obeid R. Homocysteine: a biomarker in neurodegenerative diseases. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(3):435-41.
- Oh R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician*. 2003; 67(5):979-86.
- Celik T, Kardesoglu E, Iyisoy A, Ozcan O, Killic S, Yaman H. Urinary methylmalonic acid in patients with acute myocardial infarction. *Med Princ Pract*. 2009;18(3):217-22.
- Clarke R, Birks J, Ueland PM, Schneede J, Scott J, Molloy A, Evans JG. Low vitamin B12 status and risk of cognitive decline in older adults. *Am J Clin Nutr*. 2007;86(5):1384-91.
- Stabler SP, Allen RH. Vitamin B12 deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr*. 2004;24:299-326.
- Pennypacker LC, Allen RH, Kelly JP, Mattheus LM, Grigsby J, Kaye K, Lindenbaum J, Stabler SP. High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J Am Geriatr Soc*. 1992;40(12):1197-204.
- Carmel R. Biomarkers of cobalamin (vitamin B-12) status in the epidemiologic setting: a critical overview of context, applications, and performance characteristics of cobalamin, methylmalonic acid, and holotranscobalamin II. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):348S-358S.

Correspondência

Caroline Pereira Domingueti

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais
Av. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha
31270-901 – Belo Horizonte, MG
Telefone: (31)3409-6902
caroldomingueti@yahoo.com.br

Diagnóstico laboratorial do mieloma múltiplo

Laboratory diagnosis of multiple myeloma

Bruna Teza Salvador¹

Carine Muniz Ribeiro Franzon²

Resumo

O mieloma múltiplo é uma neoplasia hematológica caracterizada pela proliferação monoclonal de plasmócitos na medula óssea, cujas principais manifestações clínicas são a anemia, as infecções recorrentes, as lesões ósseas e a insuficiência renal. Os critérios diagnósticos utilizados são: proteína monoclonal no soro e/ou na urina, presença de mais de 10% de plasmócitos clonais na medula óssea e complicações devido a algum dano em tecido ou órgão. O presente trabalho tem como objetivo relatar um estudo de caso sobre o diagnóstico de mieloma múltiplo, utilizando a investigação laboratorial e sua associação com as manifestações clínicas. Para isso, utilizou-se o prontuário de uma paciente diagnosticada com mieloma múltiplo, fornecido pela médica hematologista do caso. Trata-se de uma mulher de 47 anos que apresentava emagrecimento, anemia, presença de proteína monoclonal no soro e na urina, 60% de plasmócitos na medula óssea, lesões óssea e renal. Obteve-se o diagnóstico de mieloma múltiplo em estágio II e anorexia nervosa. A importância deste relato de caso consiste em alertar principalmente os clínicos para um diagnóstico precoce, para, assim, evitar a evolução e complicações dessa patologia.

Palavras-chave

Mieloma múltiplo; Neoplasia; Diagnóstico laboratorial

INTRODUÇÃO

O mieloma múltiplo é uma neoplasia caracterizada pela expansão monoclonal de plasmócitos na medula óssea, os quais secretam imunoglobulinas monoclonais ou uma cadeia leve denominada paraproteína.⁽¹⁾

A etiologia é desconhecida, mas sabe-se que o estímulo antigênico a infecções ou outras doenças crônicas, bem como a exposição a radiações, benzeno e outros solventes orgânicos, inseticidas e herbicidas, estão associados com o aumento da incidência dessa patologia.^(2,3)

Responsável por 10%-15% das neoplasias hematológicas, essa doença ocorre em todas as raças e localizações geográficas, sendo mais frequente no sexo masculino e na raça negra.⁽¹⁾ É raro antes dos 40 anos e mais de 70% dos pacientes são diagnosticados acima dos 60 anos. Em idosos, corresponde a 10% das neoplasias hematológicas e é responsável por aproximadamente 1% da mortalidade por câncer em geral. Até os dias de hoje é considerada uma doença incurável, mesmo após a introdução de algumas medidas terapêuticas que aumentam a taxa de remissão e a sobrevida.^(4,5)

A doença possui um amplo espectro clínico, desde a forma assintomática até a forma agressiva e manifestações devido à deposição de cadeias de imunoglobulinas nos tecidos. A manifestação primária do mieloma múltiplo pode ocorrer através dos plasmocitomas, os quais são tumores de células plasmáticas ósseas (medulares) ou extramedulares. Os primeiros costumam atingir o esqueleto axial, principalmente a coluna torácica, e os segundos são mais comumente encontrados na região da cabeça e pescoço.⁽⁶⁾

Anemia grave, lesões ósseas, insuficiência renal e infecções recorrentes são as principais manifestações clínicas observadas nos pacientes com mieloma múltiplo. Essa sintomatologia surge em decorrência da infiltração nos órgãos, principalmente nos ossos, dos plasmócitos neoplásicos, da produção de imunoglobulinas em excesso e da supressão da imunidade humoral normal.⁽¹⁾

O presente trabalho tem como objetivo relatar um estudo de caso sobre o diagnóstico de mieloma múltiplo, sua investigação laboratorial com as principais alterações que levam ao diagnóstico conclusivo da doença e sua associação com manifestações clínicas.

¹Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório Edgar Rudi da Silva Mattos – Orleans, SC e pós-graduada em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial – Universidade do Sul de Santa Catarina – Unisul – Tubarão - SC, Brasil.

²Farmacêutica-Bioquímica do Laboratório Médico Santa Luzia, Florianópolis, SC, mestre em Farmácia-Análises Clínicas, UFSC e professora da Especialização em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial – Universidade do Sul de Santa Catarina – Unisul – Tubarão - SC, Brasil.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, da Universidade do Sul de Santa Catarina (Unisul), conforme o protocolo número 11.664.4.03 III.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho trata de um relato de caso de uma paciente com mieloma múltiplo diagnosticada por uma médica hematologista na região sul de Santa Catarina.

Foram utilizados como instrumento de pesquisa os exames laboratoriais, o prontuário clínico da paciente, fornecido pela médica hematologista responsável, levantamento literário em biblioteca e em artigos científicos obtidos em banco de dados do SciELO.

Para a aquisição do prontuário, a médica hematologista assinou o termo de autorização para uso de mesmo e a justificativa para não utilização do termo de consentimento livre e esclarecido em casos de pesquisa com prontuários, de acordo com as normas do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Sul de Santa Catarina (Unisul).

Através do prontuário, foram elucidados os sintomas da paciente, os exames laboratoriais utilizados no diagnóstico, assim como aqueles usados para o acompanhamento da doença. Ainda foram correlacionados esses dados com a literatura.

Utilizou-se um modelo de pesquisa aplicada do tipo exploratória transversal e de abordagem qualitativa.

RELATO DO CASO

Mulher de 47 anos, residente na região sul de Santa Catarina, é atendida pelo Serviço de Hematologia Clínica no Hospital de Clínicas em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, com história de anemia desde a adolescência. Refere dores ósseas em braços e membros inferiores e emagrecimento, pesando 40 Kg.

A Tabela 1 demonstra os principais resultados dos exames laboratoriais solicitados pela médica hematologista no diagnóstico da doença, em junho de 2006. A paciente foi encaminhada a uma hematologista da região sul de Santa Catarina para dar continuidade ao tratamento. A Tabela também demonstra os últimos exames requisitados.

A biópsia de medula óssea apresentou uma celularidade de 70% sendo composta predominantemente por plasmócitos (60%), achado compatível com mieloma múltiplo.

Além dos exames mencionados acima, a paciente apresentou os testes de Coombs Direto e Indireto negativos, hormônios tireoidianos, eletroforese de hemoglobina, ferro e ferritina normais.

A radiografia evidenciou lesões líticas ao longo da medula óssea dos braços e fêmur direito e esquerdo. A

Tabela 1 - Exames requisitados

Exames	Junho/2006	Março/2010
Hemoglobina (g/dL)	6,9	13,0
Hematócrito (%)	20,1	41,1
VCM (fL)	91,8	94,3
HCM (pg)	31,5	29,8
RDW (%)	13,4	15,1
Leucócitos (/mm ³)	7.100	6.580
Neutrófilos (%)	69	46
Linfócitos (%)	20	40
Plaquetas (/mm ³)	251.000	110.000
VHS (mmHg - 1 ^a hora)	110	16
Imunoglobulina IgG (mg/dL)	3.159	1.450
Imunoglobulina IgM (mg/dL)	54	75
Imunoglobulina IgA (mg/dL)	31	42
Proteínas totais (g/dL)	10,99	6,5
Gamaglobulinas (g/dL)	5,51	1,37
Beta-2-microglobulina (mg/L)	4,49	2,5
Imunofixação sérica	IgG - <i>lambda</i>	Sem alteração
Imunofixação urinária	IgG - <i>lambda</i>	<i>Lambda</i>
Creatinina (mg/dL)	1,1	4,5
Ureia (mg/dL)	43	97
Proteinúria (mg/24horas)	4.790	245
Albumina sérica (g/dL)	3,79	4,5

Fonte: Dados da pesquisa, 2011

densitometria óssea mostrou perda de densidade mineral óssea em fêmur direito e coluna vertebral, sugerindo osteopenia.

A paciente foi diagnosticada como portadora de meloma múltiplo tipo cadeia leve lambda, em estágio II e anorexia nervosa. Desde o diagnóstico, a paciente realizou ciclos de quimioterapia. Dois anos após o diagnóstico, a mesma realizou transplante de medula óssea, atingindo resposta quase completa, com uma hemoglobina de 13 g/dL, e com apenas imunofixação urinária positiva. O transplante foi alogênico aparentado, tendo como doador um irmão. No decorrer da doença ocorreu insuficiência renal crônica e, no momento, a paciente realiza hemodiálise, verificando-se a possibilidade de um transplante renal.

DISCUSSÃO

O Quadro 1 demonstra os critérios utilizados para diagnóstico de mieloma múltiplo assintomático e sintomático de acordo com a classificação descrita na 4^a edição do livro Classificação de Tumores dos Tecidos Hematológicos e Linfóides, da Organização Mundial da Saúde.⁽³⁾

A paciente em questão apresentava todos os critérios descritos pela Organização Mundial da Saúde para o diagnóstico de mieloma múltiplo. Evidenciou-se proteína

monoclonal no soro e na urina do tipo IgG-lambda, presença de 60% de plasmócitos em medula óssea, além de manifestações clínicas como anemia, lesões líticas em fêmur e braços e insuficiência renal. Apresentava desde a adolescência uma anemia normocítica e normocrômica. Este tipo de anemia é a manifestação clínica presente em aproximadamente 70% dos pacientes com mieloma múltiplo, originada devido à infiltração neoplásica de plasmócitos na medula óssea ou ao efeito mielossupressor e nefrotóxico das drogas utilizadas no tratamento. No entanto, o principal mecanismo patofisiológico responsável pela anemia no mieloma múltiplo é a condição denominada anemia de doença crônica, que se caracteriza pelo surgimento de anemia em pacientes que apresentam doença infecciosa crônica, inflamatória ou neoplásica.⁽⁷⁾

Quadro 1 - Critérios diagnósticos para mieloma múltiplo

<p>Sintomático</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fração proteica monoclonal presente, sérica e/ou urinária 2. Plasmócitos clonais presentes na medula óssea e/ou em plasmocitoma (acima de 10%). 3. Comprometimento relacionado a algum tecido ou órgão (hipercalcemia, insuficiência renal, anemia, lesões ósseas) <p>Assintomático</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Fração proteica monoclonal (IgM acima de 30 g/L), e ou 2. Mínimo de 10% de plasmócitos clonais na medula óssea. 3. Nenhum comprometimento tecidual relacionado ao mieloma 4. Ausência de critérios para gamopatia monoclonal de significado indeterminado, mieloma múltiplo sintomático ou plasmocitoma solitário de osso ou extramedular

A eletroforese de proteínas em gel de agarose é utilizada para detectar a proteína monoclonal, e a imunofixação permite caracterizar as cadeias pesada e leve da imunoglobulina.⁽²⁾ Os exames citados demonstraram uma eletroforese de proteínas com aumento nas proteínas totais com pico monoclonal nas gamaglobulinas (Figuras 1 e 2), além da presença de uma proteína monoclonal composta por cadeia pesada do tipo IgG e cadeia leve do tipo *lambda*, demonstrada pela imunofixação sérica e urinária (Figura 3).

A cadeia leve monoclonal (*kappa* ou *lambda*) da imunoglobulina, chamada de proteína de Bence Jones, apresenta um baixo peso molecular, sendo excretada pela urina. Sua deposição nos túbulos renais leva ao desenvolvimento da insuficiência renal crônica.⁽⁹⁾ Esse achado clínico é muito frequente em pacientes com mieloma múltiplo, sendo demonstrado, pelo caso citado, onde houve um aumento considerável e persistente na creatinina e na ureia. A paciente cursou com insuficiência renal crônica, o que a levou a realizar hemodiálise, havendo a necessidade de um transplante renal. O fato de a paciente possuir mieloma múltiplo não a impede de realizar o transplante renal caso sua equipe de nefrologia julgue a indicação adequada.

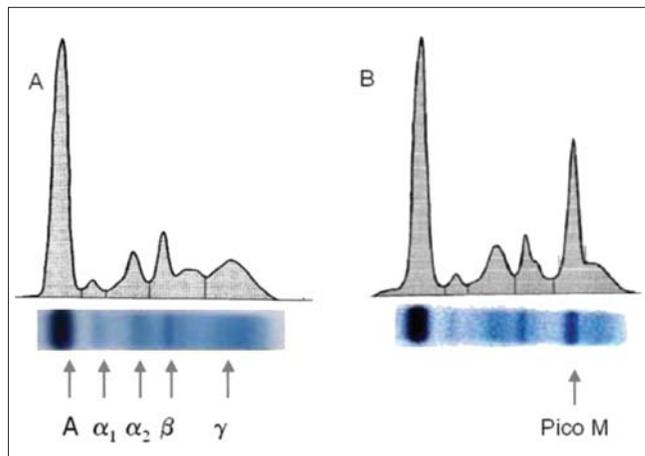


Figura 1. Eletroforese em gel de agarose. A: perfil normal. B: mieloma múltiplo.

Fonte: Bottini⁽⁸⁾

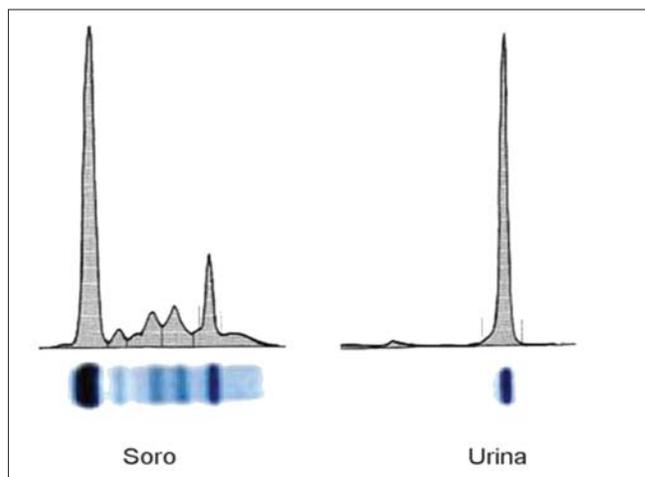


Figura 2. Eletroforese em gel de agarose do paciente com mieloma múltiplo.

Fonte: Bottini⁽⁸⁾

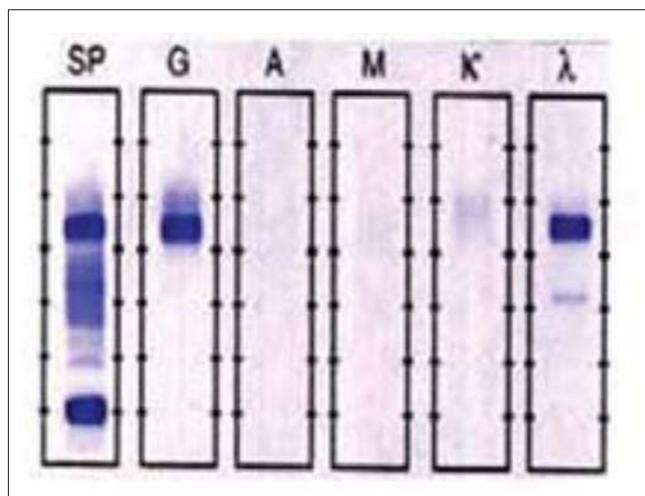


Figura 3. Imunofixação sérica de paciente portador de mieloma múltiplo tipo IgG-lambda

Fonte: Bottini⁽⁸⁾

As lesões ósseas frequentes no mieloma múltiplo são decorrentes da secreção de citocinas pelas células plasmocitárias ou pelas células estromais da medula óssea, as quais ativam a atividade osteoclástica sem uma compensação proporcional na ação dos osteoblastos, levando a um aumento na reabsorção óssea.⁽¹⁰⁾ No presente caso, a paciente referia dores em braços e fêmur, justificada pela presença de lesões líticas nesses membros e osteopenia demonstradas pela radiografia e densitometria óssea, respectivamente.

Cabe salientar que 15% a 30% dos pacientes com mieloma múltiplo podem apresentar manifestações hemorrágicas que variam de acordo com o tipo desta neoplasia (15% para IgG). Uma das causas responsáveis por esses sangramentos é a plaquetopenia secundária à infiltração medular ou ao tratamento realizado;⁽⁵⁾ Como se pôde observar, ao longo da doença, a paciente cursou com queda nas plaquetas. No prontuário não havia nenhum relato de sangramento, o que pode ser explicado pelo número de plaquetas não ter reduzido a ponto de provocar processos hemorrágicos. Deste modo, pacientes com mieloma múltiplo também devem ser monitorados quanto à hemostasia.

A velocidade de hemossedimentação e beta-2-microglobulina estão geralmente muito aumentados no mieloma múltiplo e são marcadores importantes no acompanhamento do curso clínico da doença. No caso citado, os valores estavam muito elevados, mostrando uma atividade inflamatória e neoplásica intensa.

O aumento da concentração plasmática de proteínas reflete em uma alteração na velocidade de hemossedimentação. A sedimentação depende da agregação das hemácias. Devido a suas cargas negativas, elas tendem a se repelir, porém a presença de outras moléculas carregadas positivamente pode neutralizar a repulsão e permitir a formação do *rouleaux*, o qual consiste em uma agregação eritrocitária. Observou-se que, nos hemogramas encontrados no prontuário da paciente, não houve relato de *rouleaux*. Dentre as proteínas plasmáticas, a que tem maior efeito agregante é o fibrinogênio, seguido das globulinas e da albumina.⁽¹¹⁾ Nesse caso, a paciente apresentou uma elevação nas proteínas totais, à custa da gamaglobulina do tipo IgG, o que resultou em um aumento na velocidade de hemossedimentação e que só retornou a valores próximos dos normais após o transplante de medula óssea, acompanhado de uma redução na gamaglobulina e consequentemente nas proteínas totais.

A beta-2-microglobulina é uma proteína de baixo peso molecular encontrada em todas as células nucleadas. Seus valores encontram-se aumentados quando ocorre uma intensa proliferação celular. tratando-se, portanto, de um importante marcador tumoral. No mieloma múltiplo, devido à intensa proliferação neoplásica dos plasmócitos na medula

óssea, ocorre um aumento significativo de beta-2-microglobulina.⁽⁴⁾ Além disso, é utilizada para determinar o estadiamento dessa patologia e estabelecer o prognóstico do paciente, sendo que quanto mais elevado pior o prognóstico.⁽³⁾ Como mostraram os exames, os níveis de beta-2-microglobulina da paciente apresentavam-se elevados até a realização do transplante de medula óssea.

O Quadro 2 mostra o estadiamento do mieloma múltiplo de acordo com o Sistema Internacional de Estadiamento (ISS) descrito na 4ª edição do livro Classificação de tumores dos tecidos hematológicos e linfoides, da Organização Mundial da Saúde.⁽³⁾

Estádio I	beta-2-microglobulina sérica < 3,5 mg/L Albumina > 3,5 g/dL
Estádio II	Nem I nem III
Estádio III	beta-2-microglobulina sérica > 5,5mg/L
Existem duas categorias para o estágio II: beta-2-microglobulina sérica < 3,5 mg/L, mas albumina sérica < 3,5 g/dL beta-2-microglobulina sérica 3,5 mg/L a 5,5 mg/L, i i independentemente dos níveis séricos	

Ao diagnóstico, a paciente apresentou uma beta-2-microglobulina de 4,49 mg/L, o que a enquadrava no estágio II do Sistema Internacional de Estadiamento, mostrando um estágio clínico avançado ao diagnóstico, com importante repercussão em sua sobrevida.

O transplante de medula óssea foi muito eficaz, atingindo uma resposta quase completa, apenas com uma imunofixação urinária positiva. A paciente realizou um transplante alogênico aparentado, tendo como doador seu irmão. Este tipo de transplante não é muito utilizado devido ao limitado número de doadores compatíveis, à pequena fração de pacientes que alcançam a cura e ao baixo índice de sobrevida global, que fica em torno de cinco anos, além de não ser recomendado para pacientes com idade avançada, pelo alto risco de morbidade e mortalidade.⁽¹²⁾

Por ser uma pessoa jovem e apresentar um irmão compatível, justificou-se a realização do transplante alogênico aparentado neste caso. O transplante em que o doador é irmão mostrou-se o mais indicado, com até 15 anos de sobrevida.⁽¹²⁾

Após o diagnóstico de mieloma múltiplo, passaram-se dois anos até a realização do transplante de medula óssea. Durante o curso da doença, as proteínas de baixo peso molecular do tipo *lambda*, evidenciadas pela imunofixação sérica e urinária, podem ter se depositado nos glomérulos e túbulos renais, levando ao desenvolvimento da insuficiência renal crônica.

A insuficiência renal está presente em 20% a 35% dos pacientes com mieloma múltiplo ao diagnóstico e esse nú-

mero pode subir até 50%, considerando toda a evolução da doença. O dano tubular é o mais comum, gerando obstrução local e insuficiência renal progressiva. Este dano é intensificado por vários fatores presentes na fisiopatologia do mieloma múltiplo, como hipercalemia, desidratação e uso de drogas nefrotóxicas.⁽¹³⁾

A excreção de cadeias leves causa o dano tubular, gerando uma nefropatia obstrutiva conhecida como "rim do mieloma", caracterizado por atrofia tubular renal, formação de cilindros eosinofílicos no túbulo distal e inflamação com fibrose intersticial. Nestes casos, pode-se detectar na urina a proteína de Tamm-Horsfall, que é sintetizada pelas células tubulares distais. Em contrapartida, pode ocorrer depósito de cadeia leve nos glomérulos renais, a qual frequentemente se manifesta como uma síndrome nefrótica com rápida evolução para insuficiência renal. Por fim, o dano renal pode também ocorrer devido à hipercalemia relacionada à hipercalemiúria, que acarreta um aumento na diurese por osmose e, conseqüentemente, depleção volêmica e insuficiência renal pré-renal.⁽¹³⁾ No entanto, não foram encontrados no prontuário da paciente exames que demonstrassem hipercalemia.

Devido ao grande número de pacientes com mieloma múltiplo que cursam com insuficiência renal, é de grande importância um diagnóstico precoce, um tratamento adequado e um monitoramento da função renal.

Quando ocorre uma lesão renal, a creatinina eleva-se mais lentamente que a ureia. A concentração de creatinina somente torna-se anormal quando aproximadamente metade ou mais de néfrons tenham sido comprometidos. Apesar de a ureia ser mais sensível, a vantagem em se dosar a creatinina é a sua maior especificidade, já que a ureia sofre grande influência da dieta.⁽¹⁴⁾

A proteinúria de 24 horas determina a quantidade exata de proteína excretada na urina em um período de 24 horas e determina a presença e grau da lesão renal, uma vez que as proteínas de alto peso molecular, como a albumina, não passam pelos glomérulos renais saudáveis.⁽¹⁴⁾

CONCLUSÃO

Grande parte dos pacientes diagnosticados com mieloma múltiplo apresenta insuficiência renal ao diagnóstico ou com a evolução da doença, e a maioria deles encontra-se em estágio clínico avançado ao confirmar esta patologia. A elaboração de projetos de educação continuada aos profissionais de saúde, discutindo as manifestações clínicas e os exames laboratoriais utilizados no diagnóstico, poderia contribuir de maneira significativa para a redução das complicações observadas no mieloma múltiplo, além de diminuir a progressão da doença, garantindo, assim, uma melhor sobrevida aos pacientes. Estes estudos devem ser direcionados principalmente para a população médica que

atua na Atenção Primária do Sistema Único de Saúde do Brasil, auxiliando no diagnóstico precoce e garantindo um encaminhamento adequado aos pacientes com mieloma múltiplo.

Agradecimentos

Agradecemos à Dra. Mirna Íris Philippi, médica hematologista, pela disponibilização do prontuário clínico utilizado no estudo de caso.

Abstract

Plasma cell myeloma is a hematologic malignancy characterized by monoclonal proliferation of plasma cells in the bone marrow, which the mainly clinical manifestations are anemia, recurrent infections, bone lesions and renal failure. The diagnostic criteria used are: monoclonal protein in the serum and/or urine, presence of more than 10% of clonal plasma cells in the bone marrow and complications because of any damage on the tissue or organ. The present work has the aim of report a case report about the diagnosis of plasma cell myeloma, using the laboratorial investigation and its association with the clinical manifestations. For this, it was used the medical records of a patient diagnosed with plasma cell myeloma, provided by the hematologist doctor of the case. It is about a 47 years-old woman to demonstrate weight loss, anemia and presence of monoclonal protein in the serum and urine, 60% of plasma cells in the bone marrow, bone and renal lesions. The diagnosis was plasma cell myeloma at stage II and nervous anorexia. The importance of this case report is to alert physician for the early diagnosis, thus avoid the progress and complications of this disease.

Keywords

Multiple myeloma; Neoplasm; Laboratorial diagnosis

REFERÊNCIAS

1. Silva RO, Brandão KM, Pinto PV, Faria RM, Clementino NC, Silva CM, et al. Mieloma múltiplo: características clínicas e laboratoriais ao diagnóstico e estudo prognóstico. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(2): 63-8. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v31n2/aop1309.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2011.
2. Faria RMD, Silva ROP. Gamopatias monoclonais: critérios diagnósticos e diagnósticos diferenciais. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007;49(1):17-22, jan./mar. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000100005>. Acesso em: 20 jul. 2011.
3. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. WHO series on histological and genetic typing of human tumours. 4ª ed., v. 2, nº 2, 2008.
4. Failace R. Hemograma: manual de interpretação. 5a. ed. Porto Alegre, Artmed, 2009.
5. D'Amico EA, Villaça PR. Mieloma múltiplo e distúrbios da hemostasia. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007;29(1):92-7. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n1/v29n1a17.pdf>>. Acesso em: 30 jul. 2011.
6. Pimenta A. Mieloma múltiplo: diagnóstico e manejo inicial. Prática Hospitalar, 52: 137-141, jul./ago. 2007. Disponível em: <<http://www.praticahospitalar.com.br/pratica%2052/pdfs/mat%2023.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2011.
7. Cançado RD. Mieloma múltiplo e anemia. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 jan./mar; 29(1) 67-76. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842007000100014&script=sci_arttext>. Acesso em: 05 ago. 2011.

8. Bottini PV. Testes Laboratoriais para avaliação do componente monoclonal. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. Lab. 2007, jan./mar.;29(1):23-6. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000100006>. Acesso em: 12 dez. 2011.
9. Bain BJ. Células sanguíneas: um guia prático. 4ª ed. Porto Alegre, Artmed, 2007.
10. Hungria VTM. Doença óssea e mieloma múltiplo. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007;29(1): 60-6. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n1/v29n1a13.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2011.
11. Rosa Neto NS, Carvalho JF. O uso de provas de atividade inflamatória em reumatologia. Rev. Bras. Reumatol. 2009 jul./ago.;49(4):413-30. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042009000400008&script=sci_arttext>. Acesso em: 08 dez. 2011.
12. Sucro LV, Silva JCML, Gehlen GW, Eldin JFS, Amaral GA, Santana MAP. Mieloma múltiplo: diagnóstico e tratamento. Rev. Med. Minas Gerais. 2009;19(1):58-62. Disponível em: <<http://www.medicina.ufmg.br/rmmg/index.php/rmmg/article/viewFile/85/51>>. Acesso em: 10 ago. 2011.
13. Maiolino A, Magalhães RJP. Mieloma Múltiplo e insuficiência renal. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007;29(1):86-91. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n1/v29n1a16.pdf>>. Acesso em: 20 nov. 2011.
14. Sodré FL, Costa JCB, Lima JCC. Avalia o da fun o e da lesão renal: um desafio laboratorial. J Bras Patol Med Lab. 2007;43:329-37. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v43n5/a05v43n5.pdf>>. Acesso em: 12 dez. 2011.

Correspondência

Bruna Teza Salvador

Rua Valentin Ceolin, Santista

88870-000. – Orleans, SC

Tel.: (48) 3466-2707 / (48) 9618-3446.

E-mail: brunateza@hotmail.com



Sociedade Brasileira de Análises Clínicas

REVISTA BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS
Brazilian Journal of Clinical Analyses

ISSN 2448-3877 – Versão Online
ISSN 0370-369-x – Versão Impressa

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC], criada em 1969, é o órgão oficial de divulgação científica da Sociedade Brasileira de Análises Clínicas [SBAC]. A RBAC tem circulação trimestral e seus artigos estão indexados no LILACS [Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde].

NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* [RBAC] é publicada em português e inglês e é dedicada à divulgação de pesquisa científica de qualidade metodológica reconhecida, relacionada às várias áreas das análises clínicas e da patologia clínica veterinária.

Ao submeter o original do manuscrito, os autores assumem a responsabilidade do manuscrito não ter sido previamente publicado e nem estar sendo simultaneamente analisado por outro periódico, quer na íntegra ou parcialmente, excetuando-se resumos ou relatórios preliminares publicados em anais de reuniões científicas. Todos os autores deverão assinar e encaminhar a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais, assumindo formalmente a autoria pelo manuscrito e oficializando a cessão do copyright. A declaração assinada deverá ser remetida sob a forma de documento em ".pdf". As opiniões, asserções e conclusões emitidas nos manuscritos, bem como a veracidade das informações e citações bibliográficas são de responsabilidade exclusiva do(s) autor(es).

Os autores deverão declarar no manuscrito qualquer potencial conflito de interesse, incluindo aqueles de natureza política e financeira. O documento formal de conflito de interesse é a Declaração de Responsabilidade, Conflito de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais mencionada acima.

Os autores deverão declarar todas as fontes de financiamento ou suporte público ou privado recebidas para a realização do estudo. No caso de estudos realizados sem recursos financeiros, da mesma forma, os autores deverão declarar que a pesquisa não recebeu financiamento para a sua realização.

Quando a investigação envolver seres humanos, a publicação do manuscrito estará condicionada ao cumprimento irrestrito das diretrizes normativas do Conselho Nacional de Saúde [CNS] e Comissão Nacional de Ética em Pesquisa [CONEP]. A declaração de que os procedimentos seguidos nos experimentos estão em consonância com os princípios éticos aceitos pelas normativas nacional (Resolução CNS 466/2012) e internacional (Declaração de Helsinki/ World Medical Association) deverá ser explicitamente firmada no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética em Pesquisa [CEP] da instituição responsável pela investigação deverá ser também aí declarado. Uma cópia em ".pdf" da autorização do CEP deverá ser encaminhada juntamente com o manuscrito. Quando se tratar de pesquisa com animais, as normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal [CONCEA] e Colégio Brasileiro de Experimentação Animal [COBEA], bem como do Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [Institute for Laboratory Animal Research/ National Academy of Science - USA] deverão ser incondicionalmente respeitadas e seu cumprimento também deverá ser declarado, explicitamente, no último parágrafo da seção Material e Métodos. O número do parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais [CEUA] da instituição responsável pela pesquisa deverá ser igualmente declarado e uma cópia em ".pdf" da autorização do CEUA deverá ser, da mesma forma, encaminhada com o manuscrito. Quando os autores forem filiados a instituições não brasileiras, estes deverão declarar no manuscrito o cumprimento de diretrizes normativas e remeter documentação local de mesmo efeito legal.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* apoia as políticas para registro de ensaios clínicos da Organização Mundial de Saúde [OMS], do International Committee of Medical Journal Editor [ICMJE] e do Workshop ICTRP. Desse modo, somente serão aceitos para publicação os artigos de ensaios clínico-laboratoriais que tenham recebido um número de identificação em um dos registros de ensaios clínicos validados pelos critérios estabelecidos pela OMS e ICMJE. Entidades que registram ensaios clínicos segundo os critérios do ICMJE são: Australian New Zealand Clinical Trials Registry [ANZCTR], International Standard Randomised Controlled Trail Number [SRCTN], Netherlands Trial Register [NTR], UMIN Clinical Trials Registry [UMIN-CTR], WHO International Clinical Trials Registry Platform [ICTRP]. No entanto, o número de identificação obtido no Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos - ReBEC (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br>) do Ministério da Saúde [DECIT/MS], Organização Panamericana de Saúde [OPAS] e Fundação Oswaldo Cruz [Fiocruz]

é igualmente aceito pela RBAC. O número de identificação/ identificador primário deverá ser declarado ao final da seção Material e Métodos.

Apenas serão recebidos manuscritos que estejam rigorosamente de acordo com as normas aqui especificadas. Os manuscritos serão avaliados por pareceristas/ revisores indicados pelo Conselho Editorial e/ou, eventualmente, pelos autores. Quando indicados pelos autores, deverá ser informado nome completo dos pareceristas/ revisores, e-mail e instituição de origem. O Conselho Editorial se reserva o direito, no entanto, de acatar ou não a sugestão de pareceristas/ revisores por parte dos autores. A aceitação dos manuscritos será feita em função da originalidade, importância e contribuição científica para o desenvolvimento da área. Manuscritos aprovados poderão sofrer alterações de ordem editorial, desde que não alterem o mérito do trabalho. Manuscritos recusados pelos pareceristas/ revisores serão informados imediatamente aos autores.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* está estruturada em 15 seções ou áreas temáticas, cuja indicação deverá ser feita pelos autores, no momento da submissão do manuscrito, sendo elas:

1. Bacteriologia Clínica
2. Virologia Clínica
3. Micologia Clínica
4. Parasitologia Clínica
5. Imunologia Clínica
6. Bioquímica Clínica e Biologia Molecular
7. Hematologia Clínica e Imunohematologia
8. Citologia Clínica e Anatomia Patológica
9. Boas Práticas de Laboratório Clínico e Biossegurança
10. Gestão e Controle da Qualidade no Laboratório Clínico
11. Bioética e Ética em Pesquisa
12. História da Saúde e Ensino das Análises Clínicas
13. Microbiologia de Alimentos
14. Patologia Clínica Veterinária/ Medicina Veterinária Laboratorial
15. Toxicologia Clínica e Biologia Forense

Os manuscritos poderão ser submetidos dentro das categoriais de comunicação científica designadas abaixo:

ARTIGOS ORIGINAIS: trabalhos nos quais são informados os resultados obtidos em pesquisas de natureza empírica ou experimental original, cujos resultados possam ser replicados e/ou generalizados. Deverão atender aos princípios de objetividade e clareza da questão norteadora. Os artigos originais deverão ser estruturados de maneira a conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 250 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

ARTIGOS DE REVISÃO: trabalhos com avaliações críticas e sistematizadas da literatura sobre um determinado assunto que deverá dar ao leitor uma cobertura geral acerca do tema apresentado. Os artigos de revisão deverão conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract não estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), texto ordenado (títulos e subtítulos), opiniões e conclusões (quando couber) e referências bibliográficas (até 30 referências). O trabalho não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências. Estes trabalhos são escritos a convite do editor.

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO: trabalhos descritivos e interpretativos com base em literatura recente sobre o estado atual de determinado assunto. Os critérios técnicos que deverão ser utilizados são os mesmos definidos para os Artigos de Revisão. Estes trabalhos são também escritos a convite do editor.

COMUNICAÇÃO BREVE: trabalhos originais cuja relevância para o conhecimento de determinado tema justifica a apresentação científica de dados iniciais de pequenas séries ou dados parciais de ensaios clínico-laboratoriais. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/ abstract estruturado (até 200 palavras), palavras-chaves/ keywords (3 a 6 termos), introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RELATO DE CASO: trabalhos com descrição detalhada e análise crítica de casos clínico-laboratoriais atípicos que, pela sua raridade na literatura ou apresentação não usual, merecem uma divulgação e discussão científica. Os relatos de casos deverão conter: título (até 200 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract com contexto e relato contendo descrição, discussão e conclusão (até 200 palavras), introdução, apresentação e relato do caso, discussão, conclusão e referências bibliográficas (até 25 referências). O texto não deverá exceder 3000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

NOTA TÉCNICA: Descrição/validação de instrumentos, métodos e técnicas. Sua estruturação deverá conter: título (até 250 caracteres entre letras e espaço), título corrido (até 40 caracteres entre letras e espaço), resumo/abstract estruturado (até 200 palavras), introdução, metodologia e referências bibliográficas (até 30 referências). O texto ordenado (títulos e subtítulos) não deverá exceder 5000 palavras, excluindo-se tabelas, quadros, figuras e referências.

RESENHA: Revisão crítica de obra recém publicada (até 3 anos), orientando o leitor quanto a suas características e usos potenciais. É fundamental que não se trate apenas de um sumário ou revisão dos capítulos da obra, mas efetivamente uma crítica. Este tipo de contribuição está limitado a 6 páginas, incluindo todos os seus elementos. Não há resumo/abstract.

IMAGENS EM ANÁLISES CLÍNICAS: máximo de duas figuras com qualidade de 300 dpi gravadas em ".jpg" ou ".tif" e até 3 autores e três referências que não deverão ser citadas no texto. As imagens deverão conter título descritivo. O texto deverá conter um máximo de 300 palavras com ênfase na caracterização das figuras. Agradecimentos não deverão ser declarados.

CARTA AO EDITOR: correspondências de conteúdo científico com comentários, discussões ou críticas a artigos recentes (dois números anteriores) publicados na *Revista Brasileira de Análises Clínicas* ou ainda com relatos de pesquisas originais, achados técnico-científicos significativos, opiniões qualificadas sobre um tema específico das análises clínicas, bem como menções ou obituários de personalidades da área da saúde e análises clínicas onde deverá ser destacado seu perfil científico e sua contribuição acadêmica e profissional. Os autores de artigos originais citados por terceiros serão convidados a responder aos comentários e críticas a eles dirigidos. Nesta categoria, o texto tem formato livre, mas não deverá exceder 500 palavras e 5 referências.

EDITORIAIS: escritos a convite do editor, sob tema específico, mas considerando a área de enfoque da *Revista Brasileira de Análises Clínicas*. Deverão conter um máximo de 2000 palavras e até 10 referências bibliográficas. Não serão aceitos editoriais enviados espontaneamente.

A *Revista Brasileira de Análises Clínicas* avalia manuscritos para publicação em português e inglês. Manuscritos em português devem estar em consonância com a norma culta. A submissão de manuscritos em inglês é **enfaticamente** estimulada pelo Conselho Editorial. Quando neste idioma, recomenda-se a revisão por profissional que tenha o inglês como primeira língua e de preferência, familiarizado com a área do trabalho. O Conselho Editorial, caso considere necessário, poderá enviar os manuscritos submetidos em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos. em inglês para um revisor do idioma, repassando os custos aos autores, após a autorização expressa dos mesmos.

A estrutura geral do manuscrito deverá acompanhar a normalização técnica conforme o quadro abaixo.

ESTRUTURA DOS ARTIGOS	
Português	Inglês
Título Completo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Complete Title <i>Incluir versão em Português</i>
Título Corrido <i>Incluir versão em Inglês</i>	Running Title <i>Incluir versão em Português</i>
Autores	Authors
Resumo <i>Incluir versão em Inglês</i>	Abstract <i>Incluir versão em Português</i>
Palavras-Chave <i>Incluir versão em Inglês</i>	Keywords <i>Incluir versão em Português</i>
Introdução	Introduction
Material e Métodos	Material and Methods
Ética	Ethics
Resultados	Results
Discussão	Discussion
Conclusão	Conclusion
Conflito de interesse	Conflicts of Interests
Suporte Financeiro	Funding Sources
Agradecimentos	Acknowledgements
Referências	References

TÍTULO COMPLETO: Deverá ser breve e indicativo da exata finalidade do trabalho. Recomenda-se iniciar pelo termo que representa o aspecto mais relevante da pesquisa com os demais termos em ordem decrescente de importância. O título não deverá conter nenhuma abreviatura e os nomes das espécies ou palavras em latim deverão vir em letras minúsculas (exceto quando for o caso, a primeira letra da palavra) e em itálico.

TÍTULO CORRIDO: Deverá ser resumido e conter a ideia central do trabalho.

AUTORES: Os nomes completos dos autores por extenso, graus acadêmicos e filiação institucional deverão ser mencionados. O nome completo, endereço profissional, telefone e e-mail do autor responsável pelo manuscrito deverá ser especificado.

RESUMO: Deverá ser redigido de forma impessoal, bem como ser conciso e claro, pondo em relevo, de forma precisa, os fatos de maior importância encontrados e as conclusões obtidas. Deverá ser elaborado ainda de forma estruturada, contendo introdução, objetivos, material e métodos, resultados, discussão e conclusões. Referências não deverão ser citadas e o emprego de acrônimos e abreviaturas deverá ser limitado.

PALAVRAS-CHAVE: Deverão ser indicados termos que permitam a identificação do assunto tratado no trabalho. As palavras-chaves deverão ser extraídas do vocabulário DeCS [Descritores em Ciências da Saúde], elaborado pela Bireme, e/ou MeSH [Medical Subject Headings], elaborado pelo NLM [National Library of Medicine]. Os vocabulários DeCS (<http://decs.bvs.br/>) e MeSH (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/>) deverão ser consultados, pois nenhuma outra palavra-chave será aceita.

INTRODUÇÃO: Deverá apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto. Nesta seção, as citações deverão ser restringidas ao mínimo necessário. A introdução não deverá incluir ainda dados ou conclusões do trabalho em referência. O último parágrafo deverá expressar o objetivo de forma coerente com o descrito no início do resumo.

MATERIAL E MÉTODOS: Deverão ser apresentados de forma breve, porém suficiente para possibilitar a reprodução e replicação do trabalho. Nesta seção, deverão ser informados o desenho experimental e o material envolvido, bem como deverá ser feita a descrição dos métodos utilizados. Métodos já publicados, a menos que tenham sido extensamente modificados, deverão ser referidos apenas por citação. Fontes de reagentes e equipamentos (empresa, cidade, estado e país) deverão ser mencionados. Nomes que são marcas registradas deverão ser também, claramente, indicados. Para melhor leitura e compreensão, subtítulos poderão ser estabelecidos.

ÉTICA: Nesta seção, deverá ser declarado, textualmente, o cumprimento da legislação, quando estudos com seres humanos ou animais forem procedidos. Deverá ser mencionado também a aprovação do Comitê de Ética correspondente da instituição a qual pertencem os autores responsáveis pelos experimentos, inclusive, informando, claramente, o número do parecer. O Corpo Editorial da Revista poderá recusar artigos que não cumpram rigorosamente os preceitos éticos da pesquisa.

RESULTADOS: Deverão ser apresentados em sequência lógica e com o mínimo possível de discussão ou interpretação pessoal e acompanhados de gráficos, tabelas, quadros e ilustrações. Os dados constantes nesses elementos gráficos, no entanto, não deverão ser repetidos integralmente no texto, evitando-se, desse modo, superposições. Apenas as informações mais relevantes deverão ser transcritas e enfatizadas.

DISCUSSÃO: Deverá ficar restrita ao significado dos dados obtidos e resultados alcançados, procurando, sempre que possível, uma correlação com a literatura da área. Não deverá ser incluída uma revisão geral sobre o assunto. A repetição de resultados ou informações já apresentadas em outras seções, bem como especulações que não encontram justificativa para os dados obtidos deverão ser evitadas.

CONCLUSÕES: Deverão ser concisas, fundamentadas nos resultados e na discussão, contendo deduções lógicas e correspondentes aos objetivos propostos. Em alguns casos, poderá ser incluída no item discussão, não havendo necessidade de repeti-la em item a parte.

CONFLITOS DE INTERESSE: Deverá ser informada, de maneira explícita, por todos os autores, a existência ou não de conflitos de interesse que podem derivar do trabalho. Não havendo conflitos de interesse, deverá ser escrito "Não há conflitos de interesse".

SUPORTE FINANCEIRO: Deverão ser informados todos os tipos de apoio, fomento ou financiamento obtidos para a realização do projeto de pesquisa.

AGRADECIMENTOS: Deverão ser curtos, concisos e restritos àquelas pessoas e/ou instituições que colaboraram com auxílio técnico e/ou recursos. No caso de órgãos de fomento, não deverão ser utilizadas siglas.

TABELAS: O título deverá ser breve e descritivo, apresentando de maneira precisa seu conteúdo e o contexto (ou amostra) a partir do qual a informação foi obtida. Deverá estar ainda inserido na parte superior da ilustração e ser precedido pela palavra "Tabela", seguida por um número identificador em algarismos arábicos. A numeração das tabelas deverá ser feita consecutivamente, a partir da ordem de citação no texto. Serão permitidas notas explicativas

de rodapé (legendas), indicadas por asteriscos e dispostas ao final da tabela. Para notas de rodapé, deverá ser utilizado algarismos romanos. As tabelas deverão ser elaboradas com linhas horizontais de separação no cabeçalho e em sua parte inferior e sem linhas verticais. Não deverão ser utilizadas também linhas horizontais internas. Os dados das tabelas deverão ser digitados em tamanho 10 e com minúsculas, excetuando-se as letras do início das palavras e as siglas. Nas tabelas, deverá ser empregado espaçamento entrelinhas 1,5, sem qualquer forma de tabulação ou recuos de parágrafos. O comprimento da tabela não deverá exceder 55 linhas, incluindo título, e apresentar largura máxima de 17cm. Os dados apresentados em tabelas não deverão ser repetidos em gráficos. As tabelas deverão ser compostas em programa Word ou MS-Excel e enviadas em arquivo separado. Deverá ser evitado um número excessivo de tabelas.

FIGURAS: Todas as ilustrações que não se enquadram no conceito de tabela são consideradas figuras, portanto: quadros, gráficos, desenhos, imagens e fotografias. Deverão ter um título breve e descritivo, disposto em sua parte inferior. Deverão ainda ser numeradas com algarismos arábicos, consecutivamente, na ordem de aparecimento no texto e citadas como figuras. As figuras deverão ter boa resolução (mínimo de 300 dpi), ser gravadas em formato ".jpg" ou ".tif" e medir no mínimo 12 x 17cm e no máximo 20 x 25cm. As escalas deverão ser indicadas por uma linha ou barra na figura e referenciadas, se necessário, na legenda. Os gráficos deverão ser preparados nos programas Microsoft Word ou MS-Excel em formato ".doc", ".docx" ou ".xls" e não como imagem. Imagens produzidas em software estatístico devem ser convertidas para formato MS-Excel, caso não seja possível converter para formato ".tif". Ilustrações coloridas somente poderão ser aceitas se os autores assumirem os custos. Os dados apresentados nas figuras não deverão repetir aqueles já descritos nas tabelas. Os locais aproximados onde as ilustrações serão colocadas deverão ser determinados no texto. As figuras deverão ser enviadas em arquivos separados. Não deverão ser enviados um número excessivo de figuras.

REFERÊNCIAS: As referências, em todas as categorias de trabalho científico, deverão ser normalizadas de acordo com o estilo Vancouver publicado em *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals* [Normas para Uniformização de Manuscritos Submetidos às Revistas Biomédicas] pelo *International Committee of Medical Journal Editors [ICMJE]* (<http://www.icmje.org>) e que pode ser consultado em www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2600891/ (Versão em Português) ou em www.icmje.org/urm_full.pdf (Versão em Inglês). A abreviação dos títulos dos periódicos deverá seguir o recomendado em *List of Journals Indexed in Index Medicus [National Library For Medicine]* (<http://www.nlm.gov/tsd/serials/lji.html>) ou no Portal de Revistas Científicas em Ciências da Saúde [Biblioteca Virtual em Saúde] (<http://portal.revistas.bvs.br/index.php?lang=pt>). Sugere-se incluir aquelas referências estritamente pertinentes à problemática abordada e evitar a inclusão de número excessivo de referências numa mesma citação. **A lista das referências deverá ser numerada de acordo com a ordem em que os autores foram citados no texto e não em ordem alfabética.** Deverão ser listados somente os trabalhos consultados e citados no texto. Citações de "resumo", "dados não publicados", "comunicações pessoais" ou "no prelo" poderão ser adequadamente mencionados no texto, mas não serão aceitos como referências bibliográficas. A exatidão das referências será de responsabilidade exclusiva dos autores.

As citações e menções no texto de informações colhidas em outras fontes, bem como as referências bibliográficas deverão seguir o exposto abaixo:

TEXTO: Deverá ser utilizado em todo o manuscrito o Sistema de Chama-da Numérico. Neste sistema, as citações dos documentos deverão ter numeração única e consecutiva, indicada pelo número da referência em expoente e entre parênteses. Os autores serão numerados por ordem de sua citação no texto, independentemente da ordem alfabética. As referências citadas em legendas de tabelas e figuras deverão manter a sequência com as referências citadas no texto. O mesmo trabalho mencionado mais de uma vez deverá manter, sempre que aparecer, o primeiro número a ele atribuído.

Observações Gerais:

- Quando houver dois autores, deverá ser utilizada a partícula "e" entre os sobrenomes;
 - Quando houver 3 ou mais autores, deverá ser indicado apenas o primeiro sobrenome seguido da expressão latina "et al.";
 - Quando uma entidade, corporação, editores ou projetos editoriais assumirem a responsabilidade integral pelo documento deverão ser indicados/ tratados como autores;
 - Nomes contendo mais de um sobrenome deverão ser indicado o último sobrenome, sem partículas de ligação como "de" ou "da";
 - Sobrenomes duplos, com hífens ou apóstrofes ou que formem uma expressão deverão ser indicados em seu conjunto;
 - Termos relacionados a graus de parentesco (filho, júnior, neto, sobrinho), deverão ser indicados após os sobrenomes e por extenso.
- Alguns exemplos de citações:
- **Um/duos autores:** No mesmo ano, Nishimura e Miyaji⁽²⁶⁾ mudaram a denominação do fungo para *Hortaea werneckii*, em homenagem a Parreiras Horta.

- **Mais de dois autores:** Giannopoulos et al.⁽³²⁾ também observaram maior prevalência de NIC 1 em mulheres na faixa etária de 20 a 30 anos enquanto NIC 3 foi mais frequente em mulheres com mais de 50 anos.

- **Autores corporativos:** De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes,⁽¹⁷⁾ os sinais e sintomas de hiperglicemia incluem: polidipsia, poliúria, perda de peso, fome exagerada, visão embaçada, infecções repetidas na pele e mucosas, dificuldade na cicatrização de ferimentos, fadiga e dores nas pernas (má circulação).

- **Editores/ Projetos editoriais:** Conforme o Dicionário de Especialidades Farmacêuticas,⁽⁵⁾ a meia-vida inicial da anfotericina B é de 24-48 horas e sua meia-vida terminal é de 15 dias.

- **Sem indicação de nome de autor:** O diagnóstico de hipertireoidismo, por sua vez, é dado a partir de resultados baixos de T4 livre e elevados de TSH.⁽¹⁴⁾

AUTORES: Os autores deverão ser referenciados por seu sobrenome, tendo apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do(s) nome(s) abreviado(s) e sem vírgulas e pontos. **Todos os autores** deverão ser referenciados e separados por vírgulas (o mesmo é válido para livros), apesar do estilo Vancouver recomendar que apenas sejam indicados os 6 primeiros autores, quando o número de autores for maior. Deverão ser dados espaços após as vírgulas.

Observações Gerais:

- Quando o documento consultado possuir apenas editores ou compiladores, esta condição deverá ser indicada logo após os nomes dos autores;
- Quando a autoria do documento for de uma organização, a referência deverá ser iniciada diretamente pelo nome da entidade. Se houver mais de uma entidade com subordinação entre elas, estas deverão entrar em ordem decrescente de hierarquia e serem separadas por pontos. Se as entidades não apresentarem subordinação, estas deverão ser separadas por ponto e vírgula;
- Quando o documento consultado não possuir autoria, a referência deverá ser iniciada por seu título;
- Quando o documento consultado for tese, dissertação ou monografia deverá ser empregada a seguinte correspondência entre tipo e grau: tese: doutorado, tese: livre-docência, tese: PhD, dissertação: mestrado, monografia: especialização, monografia: graduação;
- Quando o documento consultado for de natureza jurídica (Constituição Federal ou Estadual, Emenda Constitucional, Medida Provisória, Leis, Decretos, Portarias, Resoluções e Códigos), deverão ser seguidos os padrões de autoria/ emissão recomendados pela NBR 6023 da Associação Brasileira de Normas e Técnicas (ABNT, 2002), com a apresentação gráfica adaptada ao estilo de Vancouver.

- Toda informação adicionada à referência que for encontrada em alguma fonte que não o documento consultado ou informação complementar à referência como suporte do documento ou tradução de alguma expressão deve ser adicionada entre [colchetes].

TÍTULO DE ARTIGOS/ DOCUMENTOS: Os títulos dos artigos/ documentos consultados deverão ser referenciados em letras minúsculas, no entanto, a primeira palavra deverá ser iniciada por letra maiúscula. O texto do título não deverá vir nem em negrito e nem em itálico e deverá ser finalizado por ponto.

TÍTULO DE PERIÓDICOS/ REVISTAS E ANO: Os títulos de periódicos/ revistas consultados deverão ser referenciados abreviados e finalizados com ponto. Importante considerar que todos os pontos da abreviatura do título deverão ser eliminados, com exceção do último, empregado para separar o título do ano. Um espaço deverá ser dado entre o ponto colocado ao final do título e o ano. A separação entre ano e volume deverá ser feita com a utilização de ponto e vírgula.

MÊS, VOLUME, NÚMERO E PÁGINAS: O estilo Vancouver recomenda que os meses sejam referenciados em inglês e de forma abreviada, independente da língua do texto: *Jan, Feb, Mar, Apr, May, Jun, Jul, Aug, Sep, Oct, Nov, Dec*. No entanto, a RBAC aceita a abreviação em português daqueles manuscritos nesse idioma. Quando o periódico apresentar paginação contínua ao longo de um volume, o mês e o número poderão ser omitidos. Ano, volume, número e páginas deverão ser escritos sem qualquer espaço entre eles. Quando as páginas do artigo consultado exibirem números coincidentes, deverão ser eliminados os números iguais (445-449, utilizar: 445-9).

EDIÇÃO E LOCAL DE PUBLICAÇÃO: As edições de documentos consultados deverão ser referenciadas após o título, em algarismos arábicos, seguidas de ponto e da palavra "edição" no idioma que figura na publicação original e de forma abreviada. Quando for a primeira edição, essa não deverá ser indicada. Quando houver a definição do local de publicação, este deverá ser indicado em seguida à edição.

PARÁGRAFOS: Quando a referência ocupar mais de uma linha, esta deverá ser reiniciada na primeira posição na linha inferior, sem recuos.

Alguns exemplos de referências:

Periódicos:

- **Um Autor:** Marques SA. Paracoccidiodomycosis. *Clin Dermatol*. 2012 Nov;30(6):610-5.
- **Mais de um autor:** Lee MY, Telisinghe PU, Ramasamy R. Cervical cancer in Brunei Darussalam. *Singapore Med J*. 2012 Sep;53(9):604-7.
- **Até seis autores:** Okita Y, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Nagai S, Shibui

S. Management of cytomegalovirus infection in a patient with malignant glioma treated with temozolomide and steroids. *Intern Med.* 2012;51(20):2967-71.

• **Mais de seis autores:** Espinel-Ingroff A, Aller AI, Canton E, Castañón-Olivares LR, Chowdhary A, Cordoba S, et al. *Cryptococcus neoformans-Cryptococcus gattii Species Complex: an International Study of Wild-Type Susceptibility Endpoint Distributions and Epidemiological Cutoff Values for Fluconazole, Itraconazole, Posaconazole, and Voriconazole.* *Antimicrob Agents Chemother.* 2012 Nov;56(11):5898-906.

• **Autores pessoais e corporativos:** Darragh TM, Colgan TJ, Cox JT, Heller DS, Henry MR, Luff RD, et al; Members of LAST Project Work Groups. The Lower Anogenital Squamous Terminology Standardization Project for HPV-Associated Lesions: background and consensus recommendations from the College of American Pathologists and the American Society for Colposcopy and Cervical Pathology. *J Low Genit Tract Dis.* 2012;16(3):205-42.

• **Volume com suplemento:** Maljaars J, Peters HP, Masclee AM. The gastrointestinal tract: neuroendocrine regulation of satiety and food intake. *Aliment Pharmacol Ther.* 2007 Dec;26 Suppl 2:241-50.

• **Número com suplemento:** Komrokji RS, Verstovsek S, Padron E, List AF. Advances in the management of myelofibrosis. *Cancer Control.* 2012; 19(4 Suppl):4-15.

• **Editorial com indicação de autoria:** Tamaoki J, Saito H. Diagnosis, evaluation and monitoring of asthma [editorial]. *Allergol Int.* 2012;61(3):351-2.

• **Editorial sem indicação de título:** Bartels PD. Editorial. *Ugeskr Laeger.* 2012;174(42):2518.

• **Artigo/ Editorial sem indicação de autoria:** Improved and Emerging Gel-free Separation and Detection Methods for Proteomics [editorial]. *Proteomics.* 2012;12(19-20):2902-3.

• **Carta ao editor:** Dettlenkofer M, Conrad A. Hand hygiene prevents MRSA transmission [letter]. *Dtsch Arztebl Int.* 2010;107(8):139.

• **Artigo com DOI:** Newman TB, Pletcher MJ, Hulley SB. Overly aggressive new guidelines for lipid screening in children: evidence of a broken process. *Pediatrics.* 2012 Aug;130(2):349-52. doi: 10.1542/peds.2012-0481.

• **Autor corporativo:** Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Multistate outbreak of fungal infection associated with injection of methylprednisolone acetate solution from a single compounding pharmacy - United States, 2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2012 Oct 19;61:839-42.

Livros:

• **Um autor/ mais de um autor:** Stockham SL, Scott MA. *Fundamentos da Patologia Clínica Veterinária.* 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2011.

• **Autor de obra e de capítulo:** Rey L. *Bases da parasitologia médica.* 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

• **Capítulo:** Rodrigues RMMS, Nogueira MD. Fiscalização de alimentos por análise microscópica. In: Almeida-Muradian LB, Camargo Penteado MV. *Vigilância Sanitária: tópicos sobre legislação e análise de alimentos.* Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2007. p. 72-80.

• **Responsabilidade intelectual destacada:** Diniz D, Sugai A, Guilhem D, Squinca F, organizadores. *Ética em pesquisa: temas globais.* Brasília: Editora UNB; 2008.

Teses, Dissertações e Monografias:

• **Autor e indicação de grau:** Maranhão FCA. *Análise da expressão gênica no dermatófito Trichophyton rubrum mimetizando a infecção in vitro: pH e diferentes fontes de carbono regulando genes.* São Paulo. Tese [Doutorado em Genética] – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 2008.

Eventos Científicos:

• **Anais com indicação de título:** Anais do 5º Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007.

• **Anais com indicação de autoria, trabalho e título:** Neufeld PM, Melhem M, Szescs MW, Santos LH, Dornelas-Ribeiro M, Maia S, et al. *Espécies de Candida isoladas de pacientes leucêmicos.* In: Anais do 5. Congresso Brasileiro de Micologia; 2007 nov. 12-16; Recife, Brasil. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia; 2007. p. 314.

Órgãos/ Instituições:

• **Um autor corporativo:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes.* Brasília: Ministério da Saúde; 2002.

• **Mais de um autor corporativo:** Fundação Oswaldo Cruz; Fundação Carlos Chagas de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro. *Relatório de atividades: 2006.* Rio de Janeiro: Fiocruz; 2007.

Referências Legislativas:

• **Leis:** Brasil. Lei no. 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 20 set 1990; seção 1.

• **Decretos:** Brasil. Decreto no. 7.580, de 28 de junho de 2011. Regulamenta a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990, para dispor sobre a organização do Sistema Único de Saúde - SUS, o planejamento da saúde, a assistência à saúde e a articulação interfederativa, e dá outras providências. *Diário Oficial da União* 29 jun 2011; seção 1.

• **Portarias:** Ministério da Saúde (Brasil). Portaria no. 2.616, de 12 de maio de 1998. Expede diretrizes e normas para a prevenção e o controle da infecção hospitalar. *Diário Oficial da União* 13 mai 1998; seção 1.

• **Resoluções:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 302, de 13 de outubro de 2005. Dispõe sobre Regulamento Técnico para Funcionamento de Laboratórios Clínicos. *Diário Oficial da União* 14 out 2005; seção 1.

Meios Eletrônicos:

• **Periódicos:** Mondelli AL, Niêro-Melo L, Bagagli E, Camargo CH, Bruder-Nascimento A, Sugizaki MF, Carneiro MV, Villas Boas PJF. *Candida spp.: manual identification (reference method) and automated identification (Vitek system platform).* *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis [periódicos na internet].* 2012 set [acesso em 29 de out 2012]; 18(3). Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jvatitd/v18n3/a11v18n3.pdf>.

• **Referências legislativas:** Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). RDC no. 306, de 13 de dezembro de 2004. Dispõe sobre Regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de saúde [resolução RDC na internet]. *Diário Oficial da União* 10 dez 2004 [acesso em 28 out 2012]. Disponível em: <http://www.unesp.br/pgp/pdf/rdc30604anvisa.pdf>.

• **Eventos Científicos:** Albuquerque P, Kyaw CM, Saldanha RR, Brigido MM, Felipe MSS, Silva-Pereira I. Identification and Characterization of Phase-Specific cDNAs Encoding for Two Hydrophobins in the Fungus *Paracoccidioides brasiliensis*. In: 4o. Congresso Virtual de Micologia de Hongos Patógenos em América Latina [evento na internet]. 2003 27jun-14jul; Caracas, Venezuela [acesso em 10 jul 2003]. Disponível em: <http://congresomicologia.ucv.ve>.

A tramitação de manuscritos será feita exclusivamente online pelo **Sistema de Gestão de Publicações (SGP)**, no endereço: www.sgponline.com.br/rbac/sgp. Outras formas de submissão, não serão aceitas.

Observações Gerais:

• A comunicação entre os diferentes participantes do processo editorial de avaliação e publicação (autores, revisores e editor) será feita apenas de forma eletrônica pelo SGP, sendo o autor responsável pelo manuscrito informado automaticamente, por e-mail, sobre qualquer mudança de status;

• Apenas o autor responsável pelo manuscrito deverá preencher a ficha de submissão, sendo necessário o cadastro do mesmo no Sistema e posterior acesso por meio de *login* e senha;

• A RBAC comunicará individualmente, por e-mail, a cada autor a sua participação no manuscrito. Caso um dos autores não concorde com sua participação, o manuscrito será recusado;

• O SGP atribuirá a cada manuscrito um número de registro e o autor principal será notificado de que o manuscrito está completo e apropriado para iniciar o processo de revisão;

• Pedidos de *fast-track* poderão ser considerados desde que justificados e solicitados por orientadores e/ou coordenadores de programas de pós-graduação ou responsáveis por departamentos, laboratórios, setores ou serviços de instituições públicas ou privadas ou ainda se rigorosamente fundamentados por seus autores. Os pedidos de *fast-track* deverão vir endereçados ao editor da RBAC em documento em papel timbrado da instituição e carimbado por seus superiores hierárquicos.

MODELO DE DECLARAÇÃO

Declaração de Responsabilidade, Conflitos de Interesse, Concordância e Transmissão de Direitos Autorais

Os autores abaixo assinados vimos submeter o artigo intitulado "Título do Artigo" à apreciação do Corpo Editorial da *Revista Brasileira de Análises Clínicas* - RBAC para sua publicação. Nesta oportunidade, declaramos estar de acordo com que os direitos autorais referentes ao artigo em tela tornem-se propriedade exclusiva da RBAC desde sua submissão, sendo vedada a reprodução total ou parcial, em qualquer meio de divulgação, sem que a prévia e necessária autorização seja solicitada e concedida pela editoria da RBAC. Declaramos também que o artigo não infringe os direitos autorais ou qualquer outro direito de propriedade de terceiros e que seu conteúdo é de inteira responsabilidade dos autores. Declaramos ainda que este é um trabalho original e que não foi publicado anteriormente e nem está sendo considerado para publicação em outro periódico, tanto no formato impresso quanto no eletrônico. Os autores confirmam estar cientes e concordantes com a publicação do artigo na RBAC e afirmam não haver qualquer tipo de conflito de interesse do tema abordado no artigo com pessoas, entidades ou instituições.

Nomes dos autores e assinaturas:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____

Data: ____/____/____.