

## ANEMIA FALCIFORME: ABORDAGEM DIAGNÓSTICA LABORATORIAL

Anne Kelly Bezerra de Figueiredo<sup>40</sup>  
Francisco Antônio Vieira dos Santos<sup>41</sup>  
Luiz Halley Soares e Sá<sup>42</sup>  
Natália Daiana Lopes de Sousa<sup>43</sup>

### RESUMO

A anemia falciforme é uma doença causada por um distúrbio genético hereditário, devido a uma mutação do gene que codifica o aminoácido valina, passando a transcrever uma hemoglobina alterada. O objetivo do estudo é estabelecer os principais meios usados para o diagnóstico laboratorial da anemia falciforme e dos portadores destes traços, enfermidade esta que acomete todas as raças e gêneros, baseando-se em revisão bibliográfica atualizada por meio da pesquisa exploratória com abordagem qualitativa. Deste modo, pôde-se observar que, para definir tal quadro, existem inúmeros exames que auxiliam o clínico, desde exames simples, como o hemograma com a contagem da série vermelha, até exames mais sofisticados como resistência osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%, eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose, análise da morfologia eritrocitária, pesquisa de corpos de Heinz e agregados de hemoglobina H, entre outros. Os exames de triagem fornecem subsídios para o norteamiento do pensamento clínico. Porém, são nos exames eletroforéticos que ocorre a confirmação diagnóstica. Logo, definimos nesse trabalho que o exame padrão-ouro, para definição diagnóstica da anemia falciforme, continua sendo a eletroforese de hemoglobina.

**Palavras-Chave:** Anemia falciforme. Diagnóstico. Testes genéticos.

---

<sup>40</sup> Biomédica do Banco de Leite Humano do Hospital e Maternidade São Lucas. End.: Rua São Miguel, 191, Juazeiro do Norte. CEP: 63.000-00. E-mail: annekellybezerra@hotmail.com.

<sup>41</sup> Professor de Epidemiologia do Curso de Biomedicina Faculdade de Ciências Aplicadas Dr. Leão Sampaio. Rua Padre Cícero, 995 CEP 63.010-020 Juazeiro do Norte-CE. E-mail: santosfa@yahoo.com.br.

<sup>42</sup> Médico Residente em Cirurgia Geral no Hospital Regional do Agreste, Av. Cícero José Dutra, 305, Caruaru-PE. CEP 55030-580. E-mail: luizhalley@hotmail.com.

<sup>43</sup> Enfermeira Graduada pela Universidade Regional do Cariri – CE, atuante no Banco de Leite Humano do Hospital e Maternidade São Lucas. End.: Rua São Miguel, 191, Juazeiro do Norte. CEP: 63.000-00. E-mail: nataliadaiana88@hotmail.com.

## INTRODUÇÃO

A Anemia Falciforme (AF) é uma anemia hemolítica hereditária, caracterizada pela presença de células vermelhas com formato anormal (forma de foice), que são removidas da circulação e destruídas. A alteração de base nas células vermelhas é a presença de uma hemoglobina anormal que, quando desoxigenada, torna-se relativamente insolúvel, formando agregados que distorcem sua forma e impedem seu fluxo no interior dos vasos sanguíneos<sup>1</sup>.

É a doença hereditária de maior prevalência no país, afetando cerca de 0,1% a 0,3% da população negra, sendo observada, também, em decorrência da alta taxa de miscigenação, em parcela cada vez mais significativa da população caucasiana brasileira<sup>2</sup>. Estimativas indicam que 5-6% da população carregam o gene da Hemoglobina S (HbS), e que a incidência fica em torno de 700 – 1000 novos casos por ano<sup>3</sup>.

Trata-se, portanto, de uma doença crônica, incurável, embora tratável, e que geralmente traz alto grau de sofrimento aos seus portadores, que merecem atenção especial do ponto de vista médico, genético e psicossocial<sup>2</sup>.

A triagem neonatal para as síndromes falciformes, especialmente para a anemia falciforme, é devido à elevada mortalidade causada à septicemia por bactérias encapsuladas nos primeiros cinco anos de vida<sup>4</sup>.

No caso da anemia falciforme, para que o atendimento precoce ocorra, é preciso que as pessoas estejam informadas sobre a existência da doença e consigam identificá-la. Além da crescente difusão do aconselhamento genético, o governo federal empenhou-se também em

políticas nacionais educativas e, nos anos 90, na formação de um grupo de trabalho para a elaboração do Programa Anemia Falciforme<sup>5</sup>.

Esse estudo tem por objetivo estabelecer os principais meios usados para o diagnóstico laboratorial da anemia falciforme e dos portadores do traço falciforme.

## METODOLOGIA

Para estabelecer os principais meios usados para o diagnóstico laboratorial da anemia falciforme e dos portadores destes traços, classificamos a realização deste trabalho como uma pesquisa exploratória do tipo revisão de literatura, com uma abordagem qualitativa. A pesquisa exploratória tem por objetivo proporcionar maior familiaridade com o problema, com vistas a torná-lo mais explícito ou a constituir hipóteses<sup>6</sup>.

As fontes selecionadas para este estudo compreenderam, prioritariamente, artigos dos últimos 5 (cinco) anos, tendo em vista o caráter atual fornecido ao trabalho. Fontes bibliográficas das últimas décadas, por serem considerados “clássicos” e rotineiramente usados em artigos mais atuais, também foram utilizadas.

Foram utilizados artigos extraídos de sites de coleção de artigos científicos como *MEDLINE*, *LILACS*, *BIREME*, *SCIELO E BIBLIOTECA COCHRANE*, e publicados em revistas científicas como a *Revista Brasileira de Hematologia*; assim como livros e anais publicados em congressos de educação médica.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O diagnóstico das hemoglobinopatias é complexo e envolve uma análise que deve considerar, além dos dados clínicos e herança genética, vários fatores como idade, ocasião da coleta, tempo de estocagem e condições de armazenamento da amostra (desnaturação da hemoglobina), entre outras. O diagnóstico laboratorial da doença falciforme baseia-se na detecção da hemoglobina S e deve seguir as normas estabelecidas no PNTN<sup>7</sup>.

A Hemoglobina S é a mais comum das alterações hematológicas hereditárias conhecidas no homem. É causada por mutação no gene beta da globina, produzindo alteração estrutural na molécula, onde há troca de uma base nitrogenada do códon GAG para GTG, resultando na substituição do Ácido Glutâmico pela Valina na posição de número 6. Os eritrócitos com a variante de hemoglobina S (HbS) sofrem processo de falcização, fisiologicamente provocado pela baixa tensão de oxigênio, acidose e desidratação<sup>8</sup>.

As células falcizadas passam, então, a apresentar a forma de foice ou de lua crescente, com consequências variáveis em seu portador, dependentes da quantidade de hemoglobina S. A presença de hemoglobina fetal no eritrócito com hemoglobina S oferece proteção a esta célula contra o processo de falcização, pois não interage com hemoglobina S quando esta se precipita<sup>9</sup>.

Nas síndromes falciformes, os eritrócitos apresentam concentração de HbS superior a 50%. Dentre estas, destaca-se a anemia falciforme, definida pela homozigose (HbSS), em função de sua maior prevalência e gravidade clínica. O indivíduo heterozigoto é

portador do traço falcêmico e não apresenta, portanto, alterações eritrocitárias, tampouco, manifestações clínicas importantes<sup>10</sup>.

De todos esses quadros, o mais importante é a homozigose para o gene HbS ou anemia falciforme que, além de ser a forma mais prevalente entre as síndromes falciformes é, em geral, a que revela maior gravidade clínica e hematológica, tanto que seus pacientes apresentam danos orgânicos desde a infância, resultantes dos episódios vaso-oclusivos repetidos<sup>11</sup>.

Efeitos ambientais podem também ter papel fundamental na expressão fenotípica da anemia falciforme. Temperaturas baixas podem induzir à dactilite e às crises de dor. A desnutrição, comumente encontrada nesses indivíduos, pode interferir na expressão fenotípica da doença<sup>12</sup>.

A doença falciforme distribui-se de forma heterogênea, devido à miscigenação racial, apresentando maior prevalência onde a proporção da população negra é maior, cujas frequências do gene variam de 2% a 3% em todo o país, aumentando para 6% a 10% entre afrodescendentes. Por este fato, essa doença é comumente encontrada nas regiões norte e nordeste, as quais sofreram maior influência da raça negra na sua constituição étnica<sup>13</sup>.

Os portadores de anemia falciforme são assintomáticos nos primeiros seis meses de vida, devido à presença de hemoglobina fetal (HbF), em concentrações superiores às encontradas nos adultos, que é de 1%-2%. Após este período, a síntese das cadeias gama, formadoras da HbF, é substituída pela das cadeias beta, ocorrendo a estabilização na produção de globinas. Com isso, a HbS passa a ser produzida em maior quantidade, e o

indivíduo perde a propriedade protetora da HbF<sup>12</sup>.

Para a grande maioria dos pacientes, as complicações vaso-oclusivas são muito mais problemáticas do que a anemia em si, que normalmente é bem tolerada. Pois, as crises vaso-oclusivas são bastante dolorosas. Outras intercorrências de relevância clínica são a síndrome torácica aguda, as infecções bacterianas, as úlceras de perna, os acidentes vascular-cerebrais e as complicações cardíacas, que, juntamente com as crises dolorosas, levam a internações hospitalares, morbidade e morte<sup>11</sup>.

É importante ressaltar que o quadro clínico varia de acordo com o acometimento genético individual e com os hábitos relacionados à profilaxia dos fatores predisponentes às crises (evitar desidratação, infecção, acidose, etc). Logo, os indivíduos recessivos homozigóticos possuem sintomatologia mais exuberante em relação aos portadores do traço falcêmico<sup>11</sup>.

### **Meios de Diagnósticos Laboratoriais na Anemia Falciforme**

Existem diversos métodos utilizados para a pesquisa diagnóstica de alguma hemoglobinopatia. Dentre os métodos utilizados para triagem de hemoglobinas anormais, destacam-se: Resistência Osmótica em solução de Cloreto de Sódio a 0,36%; Eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose; Análise da morfologia eritrocitária. Para confirmação diagnóstica, utiliza-se: Pesquisa de Corpos de Heinz e Agregados de Hemoglobina H; Eletroforese em pH ácido; Dosagem de Hemoglobina A2; Dosagem de Hemoglobina Fetal. A eletroforese em pH ácido foi realizada também com o

gel de Agar para hemoglobina ácida da CELM, com excelentes resultados<sup>8</sup>.

Os testes de falcização (pesquisa de drepanócitos) e de solubilidade são inadequados para o recém-nascido por levarem a resultados falso-negativos, devido aos altos níveis de hemoglobina fetal (HbF) e aos baixos níveis da hemoglobina S presentes nesta ocasião<sup>8</sup>.

Esses testes, se feitos em um recém-nascido, devem ser repetidos por até um ano após o nascimento. Em virtude dos níveis de HbF só começarem a declinarem por volta do 6º mês de vida e, a partir dessa época, é iniciada a produção de hemoglobinas normais do adulto (HbA)<sup>8</sup>.

A triagem neonatal para a HbS é de fundamental importância para o diagnóstico da anemia falciforme, possibilitando a instituição de tratamento preventivo, no sentido de diminuir a morbidade e mortalidade na infância. Embora o diagnóstico precoce através do "Teste do Pezinho" esteja ocorrendo, praticamente, em todo o país, deve-se seguir medidas após a confirmação do diagnóstico<sup>10</sup>.

Alterações no volume eritrocitário levam ao desbalanço da relação desidratação/hidratação do eritrócito. Células com concentração de hemoglobina corpuscular média elevada, ou células densas, apresentam baixa afinidade pelo oxigênio, pouca deformabilidade, alta viscosidade, alta propensão à formação de polímeros de HbS na desoxigenação e menor sobrevivência. A concentração de HbS é fator determinante do início e da progressão da falcização, a habilidade do eritrócito é de manter sua hidratação, e conseqüente volume intracelular, sendo importante na fisiopatologia da AF<sup>12</sup>.

A caracterização molecular das

variantes Rh deve ser recomendada em pacientes falciformes dependentes de transfusão, pois permite a seleção correta do sangue a ser transfundido. Auxilia ainda na prevenção da aloimunização, podendo diminuir os efeitos de potenciais reações hemolíticas<sup>14</sup>.

A inclusão da eletroforese de hemoglobina, nos testes de triagem neonatal, representou um passo importante no reconhecimento da relevância das hemoglobinopatias, como problema de Saúde Pública no Brasil, e também o início da mudança da história natural da doença em nosso país<sup>9</sup>.

Atualmente, a maioria dos programas de triagem neonatal substituiu os métodos convencionais pela eletroforese, por focalização isoelétrica e/ou pela cromatografia líquida de alta resolução. Qualquer uma dessas técnicas pode ser utilizada de forma isolada para a triagem inicial, pois constituem métodos de elevada precisão, devendo todo resultado positivo ser repetido em mesma amostra para confirmação<sup>15</sup>.

Um teste simples como a pesquisa de drepanócitos, embora incapaz de diferenciar os vários genótipos, pode confirmar a presença da Hb S. A repetição da eletroforese confirma o perfil hemoglobínico num melhor momento, ocasião em que se aproxima do perfil do adulto<sup>15</sup>.

As contagens de reticulócitos e os valores do Índice Médio de Fluorescência (MFI) são, significativamente, mais elevados nos pacientes com anemia falciforme, quando comparados aos controles, mas não diferem entre os grupos de anemia<sup>16</sup>.

Os exames de imagem também têm um papel complementar no

diagnóstico da anemia falciforme, pois a radiografia simples pode mostrar aspectos característicos da doença, como o crânio com estriações perpendiculares e a vértebra “em H”, e contribui para a detecção de infartos ósseos em fases mais avançadas. A ressonância magnética é de grande valia na detecção precoce das alterações osteoarticulares, além de contribuir para monitoramento e acompanhamento das infecções, podendo também detectar alterações em partes moles, como infartos musculares<sup>1</sup>.

Tanto na anemia falciforme quanto na talassemia maior, a disfunção hepática que, habitualmente, está presente nessas situações, reduz a produção endógena de colesterol e amplifica as alterações no perfil lipídico desses pacientes. Além disso, o estresse oxidativo crônico, gerado pelo estado hemolítico e sobrecarga de ferro decorrente de terapia transfusional, torna a partícula de LDL mais susceptível à oxidação. Com isso, na anemia falciforme, são evidenciados baixos valores de colesterol total, LDL e HDL, quando comparados aos de indivíduos saudáveis<sup>17</sup>.

A HbS pode ser confirmada por procedimentos eletroforéticos em pH ácido, em que as hemoglobinas que apresentam migração semelhante em Ph alcalino podem ser diferenciadas<sup>20</sup>. O perfil de hemoglobinas normais no adulto é de HbA: 96%-98% e HbA2: 2,5%-3,5% e HbF de 0%-1%. Todas essas hemoglobinas normais no adulto, bem como as variantes estruturais como a HbS e tantas outras, podem ser identificadas por meio de eletroforese em pH alcalino ou ácido<sup>18</sup>.

Os indivíduos homocigotos diagnosticados deverão ser devidamente encaminhados à

orientação médica para tratamento precoce, minimizando as manifestações clínicas<sup>19</sup>.

A detecção precoce de portadores do traço falciforme permite o aconselhamento e/ou orientação genética aos portadores e, conseqüentemente, pode funcionar como meio para evitar custos para o sistema de saúde. Na medida em que casais de risco têm chance de optarem ou não por uma gestação, custos com pacientes falciformes, tais como tratamento de infecções e crises álgicas, profilaxia anti-infecciosa, sobrecarga de ferro, custo transfusional, entre outros, podem ser evitados<sup>20</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

As hemoglobinopatias estão entre as doenças monogênicas mais comumente encontradas nas populações. A complexidade de seus processos fisiopatológicos e a gravidade e diversidade de manifestações clínicas a elas associadas fazem das doenças falciformes um desafio para a medicina e para a ciência.

Para o diagnóstico da anemia falciforme, os resultados encontrados na literatura demonstram que existem inúmeros exames que auxiliam o clínico, desde exames mais sofisticados como: resistência osmótica em solução de cloreto de sódio a 0,36%; análise da morfologia eritrocitária, pesquisa de corpos de Heinz e agregados de hemoglobina H; dosagem de hemoglobina A2; dosagem de hemoglobina fetal; eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose e eletroforese em pH ácido com o gel de Agar para hemoglobina ácida da CELM, com excelentes resultados, até exames mais simples como o hemograma com a

contagem da série vermelha. Os exames de triagem fornecem subsídios para o norteamento do pensamento clínico, porém, são nos exames eletroforéticos que ocorre a confirmação diagnóstica. Logo, definimos nesse trabalho que o exame padrão-ouro para definição diagnóstica da anemia falciforme continua sendo a eletroforese de hemoglobina.

O maior conhecimento da base biológica dessas doenças, ainda associadas à elevada morbimortalidade, tem propiciado importantes avanços nas abordagens terapêuticas e na prevenção de novos casos e pode, em um futuro próximo, oferecer possibilidades mais concretas de cura.

## SICKLE CELL DISEASE: LABORATORY DIAGNOSTIC APPROACH

### ABSTRACT

Sickle cell anemia is a disease caused by a heritable genetic disorder due to a mutation of the gene that encodes the amino acid valine, passing transcribing an altered hemoglobin. The objective of the study is to establish the main means used for the laboratory diagnosis of sickle cell anemia patients and these traits, this illness that affects all races and genders, based on literature review updated through exploratory qualitative research. Thus it was observed that to define such a framework, there are numerous tests that assist the clinician from simple tests such as complete blood count with red blood count, to more sophisticated tests such as osmotic strength solution of sodium chloride at 0, 36 %, electrophoresis at alkaline pH on cellulose acetate, erythrocyte morphology analysis, research Heinz bodies and aggregates of hemoglobin H , among others. The screening tests provide subsidies for the guid of clinical thought. However, the electrophoretic examinations are occurring diagnostic confirmation. Therefore, in this work we define the gold standard test for diagnosis of sickle cell anemia definition remains hemoglobin electrophoresis.

**Key-words:** Sickle cell disease. Diagnosis. Genetic testing.

### REFERÊNCIAS

1. Yanaguizawa M, Taberner GS, Cardoso FNC, Natour J, Fernandes ARC. Diagnóstico por imagem na avaliação da anemia falciforme. Rev. Bras. Reumatol. 2008 Apr; 48(2):102-5.
2. Silva RBP, Ramalho AS, Cassorla RMS. A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil. Rev. Saúde Pública. 1993 Fev;27(1):54-8.
3. Lyra IM, Gonçalves MS, Braga JAP, Gesteira MF, Carvalho MH, Saad STO, et al. Clinical, hematological, and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brazil. Cad. Saúde Pública. 2005 Aug ; 21(4):1287-90.
4. Bandeira FMGC, Santos MNN, Bezerra MAM, Gomes YM, Araújo AS, Braga MC, et al . Triagem familiar para o gene HBB\*S e detecção de novos casos de traço falciforme em Pernambuco. Rev. Saúde Pública. 2008 Apr; 42(2):234-41.
5. Diniz D, Guedes C. Anemia Falciforme: Um Problema nosso. uma abordagem bioética sobre a nova genética. Cad. Saúde Pública . 2003 Dez; 19(6):1761-70.
6. Gil AC. Como elaborar projetos de pesquisa. 4. ed. São Paulo: Atlas; 2002.
7. Ramalho AS, Magna LA, Paiva-e-Silva RB. A portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. Cad Saúde Pública. 2003;19:1195-9.
8. Tomé-Alves R, Marchi-Salvador DP, Orlando GM, Palharini LA, Imperial RE, Naoum Paulo C, et al. Hemoglobinas AS/alfa talassemia: importância diagnóstica. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2000 Dez; 22(3):388-94.

9. Ruiz MA. Anemia falciforme: objetivos e resultados no tratamento de uma doença de saúde pública no Brasil. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 Set; 29(3):203-4.
10. Mendonça AC, Garcia JL, Almeida CM, Megid TBC, Fabron JA. Muito além do "Teste do Pezinho". Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009 Abr; 31(2):88-93.
11. Mousinho R, Rita C, Cardoso G L, Sousa IEL, Martins PKC. Importância da avaliação da hemoglobina fetal na clínica da anemia falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008 Abr; 30(2):136-41.
12. Figueiredo MS. Fatores moduladores da gravidade da evolução clínica da anemia falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 Set; 29(3):215-7.
13. Cançado R D, Jesus J A. A doença falciforme no Brasil. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. [Internet]. 2007 Sep [acesso em 2012 Ago 16]; 29(3): 204-6. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n3/v29n3a02.pdf>.
14. Rodrigues A. Caracterização molecular das variantes do sistema Rh em pacientes portadores de anemia falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2002 Abr; 24(2):151-2.
15. Ferraz MHC, Murao M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 Set; 29(3):218-22.
16. Cortellazzi LC, Teixeira SM, Borba R, Gervásio S, Cintra CS, Grotto HZW. Reticulocyte parameters in hemoglobinopathies and iron deficiency anemia. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2003 Jun; 25(2):97-102.
17. Naoum FA. Alterações do perfil lipídico nas anemias. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2005 Set; 27(3):223-6.
18. Costa PJMS, Vilela RQB, Cipolotti R, Figueiredo MS. Diversidade clínica e laboratorial no haplótipo bantu da anemia falciforme. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2006 Mar; 28(1):40-4.
19. Orlando GM, Naoum PC, Siqueira FAM, Bonini D, Cláudia R. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2000 Ago; 22(2):111-21.
20. Bandeira FMGC, Bezerra MAC, Santos MNN, Gomes YM, Araújo AS, Abath FGC. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2007 Jun; 29(2):179-84.

<b>Recebido em: 17.10.13</b> <b>Aceito em: 15.04.14</b>
--