



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO GRAU DE MESTRE
NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA**

PEDRO MIGUEL DOS SANTOS TEIXEIRA

***HEMOGLOBINOPATIAS:
CLÍNICA, DIAGNÓSTICO E TERAPÊUTICA***

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO RIBEIRO
DR. JOSÉ PEDRO CARDA**

MARÇO/2014

Resumo

As hemoglobinopatias, ou doenças da hemoglobina, são condições hereditárias caracterizadas por mutações dos genes das globinas humanas, levando a alterações quantitativas da sua síntese ou à formação de hemoglobinas estruturalmente anormais, comprometendo a sua vital função. São as doenças genéticas mais comuns na espécie humana, atingindo 7% da população mundial. As talassemias e a anemia de células falciformes são as mais relevantes. A implementação de programas de rastreio e de aconselhamento genético tem desempenhado um papel fulcral na prevenção de novos casos e no diagnóstico precoce e a melhoria das terapêuticas tem permitido aumentar a sobrevivência e a qualidade de vida dos afectados. A melhoria do contexto higio-sanitário populacional e das condições dos cuidados de saúde estão também na base do previsível aumento da sua prevalência no futuro. Sendo síndromes de gravidade muito variável com um curso clínico muitas vezes imprevisível apesar da caracterização genética, torna-se necessária na formação médica a obtenção de conhecimento clinico-científico nesta área. Nesta revisão, são abordadas as principais classes de hemoglobinopatias, com especial enfoque nas manifestações clínicas e achados laboratoriais, principais métodos de diagnóstico e modalidades terapêuticas básicas, sendo também fornecidos complementos sobre a sua base genética e fisiopatológica que permitem a aquisição de competências para a formulação de um raciocínio clínico adequado e perspicaz. É também feita uma pequena antevisão das terapias com grande potencial no futuro e das necessidades face ao panorama epidemiológico, sendo referidos alguns dos alvos da investigação científica actual. No futuro, o controlo e prevenção destas doenças, aliados à educação para a saúde, à sensibilização das populações para esta temática e à estimulação da investigação científica, permitirão melhorar os cuidados aos afectados, modificando o curso clínico, quiçá alcançando curas, e atenuando o impacto que se prevê estas condições terem no futuro da sociedade moderna.

Palavras-chave: hemoglobinopatias; talassemia; anemia falciforme; manifestações clínicas; diagnóstico; tratamento; futuro.

Abstract

Hemoglobinopathies are defined as hereditary conditions characterized by mutations in the human globin genes, leading to quantitative modifications to globin synthesis or the production of structurally abnormal hemoglobin molecules, thereby compromising its vital function. As a group, they are the most prevalent genetic diseases in the human species, affecting 7% of the world's population. The most relevant of these diseases are thalassemia and sickle-cell anemia. The implementation of screening programs and genetic counseling has played a key role in improving prevention of new occurrences and timely diagnosis. Advances in treatment have also allowed for increased survival and better quality of life for patients affected by these conditions, whose prevalence is likely to see an increase in the foreseeable future due to improved sanitary conditions and better healthcare. Considering the highly variable severity of these syndromes and the unpredictability of their clinical course, this is an area of knowledge where the acquisition of clinical and scientific information is a vital element for adequate medical training. This review concerns the main classes of hemoglobinopathies, with particular detail given to their clinical manifestations and laboratory findings, main methods of diagnostic and basic therapeutic options, along with information regarding their genetic and pathophysiological bases, the understanding of which is essential for accurate clinical reasoning. Also included is a brief preview of promising therapeutic modalities currently being developed, a mention of the current epidemiological panorama, as well as a few current targets of research in this area. In the future, the control and prevention of these conditions, in conjunction with better health education and further scientific investigation, should allow for improved assistance towards affected individuals, modifying the natural history of the disease and possibly even making cures available, thereby diminishing the impact that hemoglobinopathies are expected to have on the future of modern society.

Keywords: hemoglobinopathies; thalassemia; sickle cell disease; clinical manifestations; diagnosis; treatment; future.

Índice

1	Introdução	9
2	Nota histórica	11
3	A Hemoglobina	12
3.1	Estrutura.....	13
3.2	Função	14
3.3	Genética e Ontogenia.....	16
4	Hemoglobinopatias	19
4.1	Abordagem clínica à anemia	21
4.2	Classificação	24
4.2.1	α -talassemia.....	24
4.2.1.1	Genética e Fisiopatologia	26
4.2.1.2	Manifestações Clínicas	30
4.2.1.2.1	α^+ -talassemia	31
4.2.1.2.2	α^0 -talassemia	31
4.2.1.2.3	Doença da Hemoglobina H	31
4.2.1.2.4	Hidrósia Fetal por Hemoglobina Bart	33
4.2.1.3	Diagnóstico Clínico e Laboratorial.....	35
4.2.1.4	Tratamento e Acompanhamento.....	36
4.2.2	β -talassemia.....	38
4.2.2.1	Genética e Fisiopatologia	39
4.2.2.2	Manifestações Clínicas	41
4.2.2.2.1	β -talassemia <i>minor</i>	42
4.2.2.2.2	β -talassemia <i>intermedia</i>	42
4.2.2.2.3	β -talassemia <i>major</i>	44

4.2.2.3	Diagnóstico Clínico e Laboratorial.....	46
4.2.2.4	Tratamento e Acompanhamento.....	47
4.2.3	Anemia de células falciformes	51
4.2.3.1	Genética e Fisiopatologia	51
4.2.3.2	Manifestações Clínicas	53
4.2.3.3	Diagnóstico Clínico e Laboratorial.....	55
4.2.3.4	Tratamento e Acompanhamento.....	56
4.2.4	Outras variantes.....	60
4.2.4.1	Hemoglobinas instáveis.....	61
4.2.4.2	Hemoglobinas com alta afinidade pelo oxigênio	62
4.2.4.3	Hemoglobinas com baixa afinidade pelo oxigênio.....	63
4.2.4.4	Metahemoglobinemias.....	64
4.2.4.5	Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF).....	66
4.2.4.6	Variantes Estruturais Talassémicas	67
5	Perspectivas futuras	68
6	Conclusão.....	73
	Agradecimentos.....	75
	Referências Bibliográficas	76

Índice de Figuras

Figura 1: Estrutura quaternária da Hemoglobina	14
Figura 2: Padrão de troca (<i>switching</i>) de hemoglobinas ao longo do desenvolvimento	19
Figura 3: Abordagem ao diagnóstico diferencial de anemia.....	23
Figura 4: Mecanismos envolvidos na eritropoiese ineficaz e na hemólise na talassémia.....	27
Figura 5: Principais genótipos associados a β -talassémia <i>intermedia</i>	43
Figura 6: Criança com <i>facies</i> talassémico	45

Índice de Tabelas

Tabela 1: Classificação das hemoglobinopatias	25
Tabela 2: Principais manifestações clínicas e índices laboratoriais da doença da HbH e comparação entre as formas deleccionais e não-deleccionais.....	33
Tabela 3: Novos agentes terapêuticos em hemoglobinopatias.....	72

Lista de Abreviaturas

2,3-BPG	2,3-bifosfoglicerato
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Difosfato de adenosina
AHSP	Proteína estabilizadora da globina alfa
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensageiro
ATMDS	Síndrome relacionada com mutação do gene ATR associada a síndrome mielodisplásica
ATP	Trifosfato de adenosina
ATR	Síndrome relacionada com mutação do gene ATR
AVC	Acidente vascular cerebral
CEH	Célula estaminal hematopoiética
CLAR	Cromatografia líquida de alta resolução
CMV	Citomegalovírus
CO	Monóxido de carbono
CO ₂	Dióxido de carbono
DCF	Doença de células falciformes
Fe ²⁺	Ião ferro no estado ferroso
Fe ³⁺	Ião ferro no estado férrico
- ^{FIL}	Mutação filipina com deleção dos dois genes α do mesmo cromossoma
fL	Fentolitro
g/dL	Gramas por decilitro
H ⁺	Ião hidrogénio
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina adulta
HBA _{1c}	Hemoglobina adulta tipo 1c

HbA ₂	Hemoglobina adulta tipo 2
HbBart	Hemoglobina Bart
HbCS	Hemoglobina Constant Spring
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina fetal
HbH	Hemoglobina H
HbKöln	Hemoglobina Köln
HbLepore	Hemoglobina Lepore
HbS	Hemoglobina S
HbSC	Hemoglobina SC – heterozigotia composta de Hb S e Hb C
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HCO ₃ ⁻	Bicarbonato
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HLA	Antigénio leucocitário humano
iNKT	Célula <i>natural killer</i> induzida
iPSC	Célula estaminal pluripotente induzida
JAK-2	Tirosina-cinase JAK-2
LCR	<i>locus control region</i> ou região de controlo do <i>locus</i>
– ^{MED}	Mutação mediterrânica com deleção dos dois genes α do mesmo cromossoma
metHb	Metahemoglobina
mg/g,p.s.	Miligrama por grama, em peso seco
NADPH	Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reduzida
NF-kB	Factor nuclear amplificador da cadeia leve kapa das células B
NO	Óxido nítrico
O ₂	Oxigénio
PCR	Reacção de polimerase em cadeia
pg	Picograma

PHHF	Persistência hereditária de hemoglobina fetal
pO ₂	Pressão parcial de oxigénio
RDW	Coefficiente de distribuição eritrocitária – <i>random distribution width</i>
RM	Ressonância magnética
– _{SEA}	Mutação do sudeste asiático com deleção dos dois genes α do mesmo cromossoma
TCC	Transplante de células do cordão umbilical
TEP	Tromboembolismo pulmonar
– _{THAI}	Mutação tailandesa com deleção dos dois genes α do mesmo cromossoma
TVP	Trombose venosa profunda
VCAM	Molécula de adesão à célula vascular – <i>vascular cell adhesion molecule</i>
VCM	Volume corpuscular médio
VHB	Vírus da hepatite B
VHC	Vírus da hepatite C
α	Alfa
α -thal-1	Alfa-talassémia 1
α -thal-2	Alfa-talassémia 2
β	Beta
γ	Gama
δ	Delta
ϵ	Épsilon
ζ	Zeta

1 Introdução

A hemoglobina (Hb) é uma das proteínas mais abundantes e importantes do organismo humano, e também uma das mais estudadas, tendo proporcionado grande parte do conhecimento que hoje temos sobre as doenças genéticas e as interações genótipo/fenótipo.

É o transportador primordial do oxigénio na corrente sanguínea, permitindo assegurar as necessidades metabólicas das células, e exerce também funções importantes no transporte do CO₂ e na manutenção do equilíbrio ácido-base. A sua estrutura molecular, determinada geneticamente, e o equilíbrio da síntese das globinas que a constituem desempenham um papel fulcral na manutenção da sua função, devendo estar preservadas.

As hemoglobinopatias, ou doenças da hemoglobina, são condições hereditárias que levam a alterações quantitativas da síntese globínica ou à formação de uma hemoglobina mutante, estruturalmente diferente, ou ainda ambas. As mais reconhecidas são as talassémias e a anemia de células falciformes.

São doenças que afectam milhões de pessoas no mundo, constituindo um problema de saúde de grande proporção em muitos países, muitos dos quais em vias de desenvolvimento. As repercussões fazem-se sentir a nível social e económico, com a diminuição da esperança de vida e o aumento da morbilidade dos afectados.

A identificação precoce destas condições, através de programas de rastreio e de aconselhamento genético, e a melhoria do contexto higio-sanitário e dos cuidados de saúde observada nas sociedades actuais, têm permitido a estes doentes, contudo, viver mais anos e com melhor qualidade de vida.

Com um curso clínico nem sempre fácil de prever pela caracterização genética, o acompanhamento e o tratamento dos indivíduos com estes distúrbios colocam desafios aos profissionais de saúde cuja resolução exige equipas multidisciplinares. O reconhecimento das

principais síndromes clínicas e das suas manifestações comuns deve por isso fazer parte do saber de qualquer médico, tal como os principais métodos de confirmação do diagnóstico.

Neste trabalho, após uma breve introdução à hemoglobina, é feita uma revisão das hemoglobinopatias mais relevantes, com especial enfoque na sua caracterização clínica e laboratorial, de modo a permitir uma abordagem diagnóstica e um diagnóstico diferencial correctos, não olvidando as modalidades terapêuticas básicas e algumas que se perspectivam prometedoras no futuro. Numa sucinta secção final, são abordadas hemoglobinopatias que se associam a clínica característica e mutações específicas que, apesar de mais raras, não devem ser negligenciadas.

2 Nota histórica

Hoje, sabemos mais sobre a hemoglobina e as suas funções do que sobre qualquer outra proteína. A inovação tecnológica sem precedentes do último século e a grande investigação neste campo são sem dúvida os grandes responsáveis.

A noção de respiração é talvez tão velha quanto nós próprios. No entanto, o modo como o fazemos, ou seja, o modo como o ar se dissolve no sangue e chega às nossas células, apenas foi esclarecido em 1840, quando Friedrich Hünefeld e colegas descobriram que o oxigénio se ligava à proteína que hoje conhecemos como hemoglobina. Ainda assim, demoraria mais de um século até que, em 1959, Max Perutz conseguisse determinar a estrutura molecular desta com a cristalografia de Raio-X, o que lhe valeu, a ele e ao seu colega John Kendrew, o Prémio Nobel da Química em 1962. Este foi o passo decisivo para que nos anos seguintes se pudesse descortinar o funcionamento da hemoglobina e o seu modo de interacção com o oxigénio, pelo que Perutz é hoje considerado um dos pais da biologia molecular. Várias revisões recentes têm permitido constantemente melhor definir a estrutura molecular da hemoglobina e a sua correlação funcional, além das consequências das mutações nas cadeias globínicas [1].

No que concerne às hemoglobinopatias, os primeiros passos são dados no início do século passado, quando James Herrick descreve em 1910 a presença de células alongadas e com forma de foice numa amostra sanguínea. Mais tarde, em 1925, Thomas Cooley e Pearl Lee descrevem numa série de crianças a síndrome clínica talassémica – anemia grave, icterícia e hepatoesplenomegalia. As primeiras teorias acerca dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes à doença de células falciformes surgem nos anos 30 e nos anos 50 desenvolvem-se os primeiros testes diagnósticos para as variantes da hemoglobina, nomeadamente o teste de falciformação, usado ainda hoje. No caso das talassémias, nos anos 40 já se reconhecia o seu padrão hereditário mendeliano, mas tardaria até aos anos 60 a

possibilidade de separação das diferentes globinas e a demonstração do desequilíbrio quantitativo das cadeias para melhor compreender a fisiopatologia dessa classe de doenças.

Os anos seguintes primaram pelo surgimento das técnicas de biologia molecular – o estudo do ARNm, as técnicas de ADN complementar e a PCR – que nos permitiram chegar ao século XXI com um conhecimento muito maior do espectro das mutações da hemoglobina e das correspondentes síndromes clínicas [2].

No decorrer do novo milénio, o advento da terapia génica e de outras novas modalidades terapêuticas é a grande esperança no que toca às hemoglobinopatias, que se prevê virem a ser um problema de cada vez maior peso nos sistemas de saúde globais [3].

Em retrospectiva e em suma, o estudo da hemoglobina e das suas variantes no último século estabeleceu as bases dos princípios das interacções genótipo/fenótipo hoje aplicadas a inúmeras doenças, aprofundando o nosso entendimento da complexidade das supostas doenças monogénicas. Tornou-se também o paradigma dos estudos de regulação genómica e de interacção estrutura-função das macromoléculas [2,4–6].

3 A Hemoglobina

A Hemoglobina é a proteína transportadora do oxigénio na corrente sanguínea, facilitando o seu acesso às células do organismo. Exerce ainda funções no transporte do dióxido de carbono e na regulação do equilíbrio ácido-base.

A hemoglobina livre na circulação é metabolizada e excretada pelo rim em minutos, pelo que a sua inclusão nos eritrócitos é de vital importância para a sua preservação ao longo dos 120 dias de semi-vida expectável destes. Na realidade, uma das funções fundamentais do eritrócito é essa mesma – proteger a hemoglobina.

De igual modo, devem também estar em circulação quantidades suficientes de hemoglobina para o desempenho das suas funções. No entanto, a existência de muitos eritrócitos em circulação aumenta a viscosidade sanguínea, comprometendo a hemodinâmica, o que obriga a que, para assegurar o transporte de oxigénio sem aumentar a viscosidade, cada célula possua um alto teor de hemoglobina – 32 a 35g por 100ml de citoplasma, um valor próximo do limiar de solubilidade da proteína. Estima-se que um indivíduo adulto razoavelmente constituído possa ter, em termos brutos, até quase 900g de hemoglobina em circulação [7].

3.1 Estrutura

A hemoglobina é uma proteína tetramérica com cerca de 64.000 Da, formada por dois pares de cadeias globínicas α (ou α -like) e não- α (β -like), cada uma associada a um grupo heme (anel tetrapirrólico com um átomo de ferro, responsável pela ligação ao oxigénio). As cadeias α contêm 141 aminoácidos e as cadeias não- α 146, existindo entre elas uma considerável homologia. Verifica-se mesmo que alguns dos aminoácidos das globinas têm sido preservados ao longo da evolução, sendo considerados invariáveis. Estes situam-se em zonas da molécula com particular importância, contribuindo decisivamente para a sua estabilidade e funcionalidade: as de ligação ao grupo heme; as que participam na formação da bolsa hidrofóbica que o rodeia no interior da molécula e outras responsáveis pela ligação não-covalente entre as 4 cadeias [7].

No que concerne à sua estrutura secundária, aproximadamente 75% da cadeia globínica forma uma hélice- α , existindo no total oito segmentos helicoidais, separados por pequenos segmentos nos quais essa formação é interrompida para permitir o enrolamento da cadeia polipeptídica sobre ela própria. Este fenómeno, que se pensava ocorrer espontaneamente e se sabe agora advir da intervenção de proteínas *chaperones*, coloca os

aminoácidos polares na parte externa da molécula e permite a criação de uma bolsa hidrofóbica apolar no interior, onde o grupo heme se irá ligar. Isto mantém a água fora desse espaço, impedindo que esta oxide o ferro, o que impossibilitaria a sua ligação ao oxigénio, comprometendo toda a função da proteína [7].

É também através das interações do ferro com o oxigénio e com os resíduos da histidina proximal (posição 87 na cadeia α e 92 na β) e da histidina distal (posição 58 da cadeia α e 63 da β) que a hemoglobina sofre alterações estruturais, alternando entre duas conformações – uma desoxigenada (forma T, de *tense*) e uma oxigenada (forma R, de *relaxed*) [7]. Uma melhor conceptualização da estrutura da hemoglobina pode ser obtida através da visualização da Figura 1.

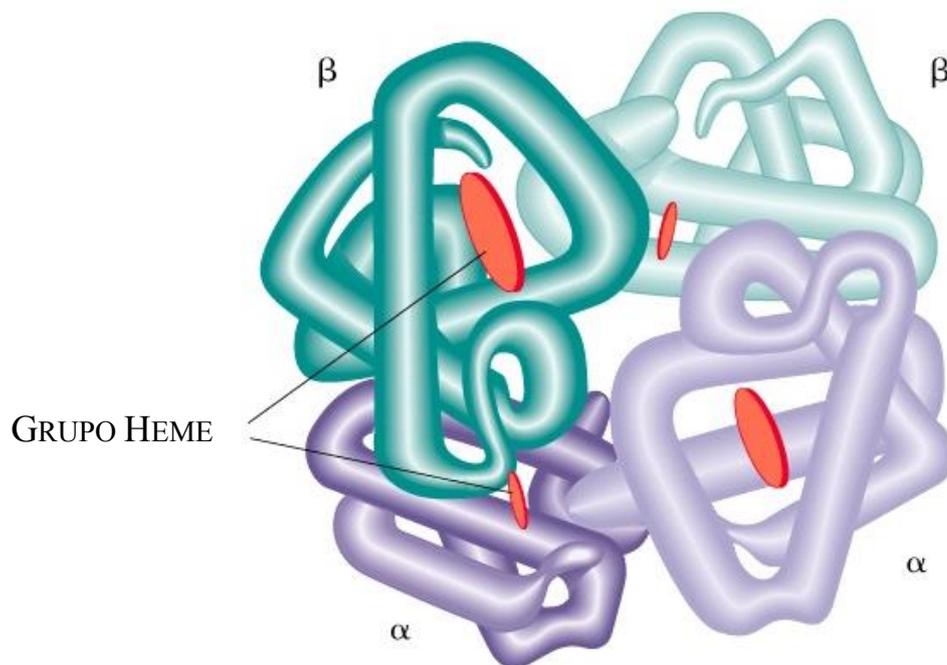


Figura 1: Estrutura quaternária da Hemoglobina [adaptado de 8]

3.2 Função

A função primordial da hemoglobina é, como já foi dito, transportar oxigénio através da corrente sanguínea e disponibilizá-lo às células de todo o organismo. Ao mesmo tempo,

remove o dióxido de carbono resultante do catabolismo, colaborando na manutenção do equilíbrio ácido-base. O modo como o faz e como a sua estrutura torna possível essa tarefa ainda hoje fascina as comunidades científicas.

Conforme já referido, a ligação do oxigénio ao átomo de ferro do grupo heme da hemoglobina altera drasticamente a sua conformação – passando da sua forma desoxigenada (forma T) para a sua forma oxigenada (forma R). Além de uma rotação dos dímeros $\alpha\beta$ ao longo das regiões de contacto $\alpha_1\text{-}\beta_2$, as pontes salinas que estabilizam a proteína na forma T são quebradas, resultando numa maior compactação da proteína na forma R. Esta interacção entre as subunidades globínicas tem repercussão directa sobre a função da hemoglobina, condicionando o seu padrão de afinidade pelo oxigénio [7,9].

Em termos práticos, verifica-se que a ligação do oxigénio a um dos grupos heme da proteína facilita a ligação ao seguinte até que todos estejam associados a oxigénio (ligação cooperativa). O mesmo ocorre na altura em que o oxigénio se dissocia do heme para ser cedido às células, o que torna a libertação pelos restantes mais rápida e fácil. Este efeito cooperativo na ligação ao oxigénio é verificado objectivamente através da análise da curva de dissociação do oxigénio da hemoglobina (que descreve a percentagem de saturação da proteína a diferentes pO_2), que segue uma forma sigmoideal, o que acarreta importantes consequências fisiológicas – a hemoglobina consegue fornecer às células cerca de 10 vezes mais oxigénio do que a mioglobina e cerca de 1,7 vezes mais do que qualquer outra proteína de ligação não cooperativa [9].

No entanto, a afinidade pelo oxigénio não depende apenas de factores estruturais da molécula, havendo mecanismos de controlo e regulação externos, dos quais os mais importantes são o pH, a pCO_2 e, sobretudo, o 2,3-BPG [2,3-bifosfoglicerato] (um produto intermediário da glicólise). A interacção do 2,3-BPG com a hemoglobina ocorre numa zona específica da molécula e a ligação, apenas possível quando esta se encontra desoxigenada,

estabiliza a sua estrutura T, resultando numa diminuição da afinidade pelo oxigénio. A importância deste mecanismo é salientada pela existência de variantes hemoglobínicas com mutações nas regiões codificantes dessa zona de ligação, que as torna insensíveis à regulação do 2,3-BPG, conferindo-lhes uma afinidade anormalmente elevada pelo oxigénio [7]. Este aspecto será abordado nas secções seguintes deste trabalho.

Os iões hidrogénio, cuja concentração se relaciona inversamente com o pH, e o CO_2 , diminuem a afinidade pelo oxigénio através do fortalecimento das pontes salinas existentes na forma T da hemoglobina.

A ligação dos iões H^+ à hemoglobina é também a forma através da qual a maioria do dióxido de carbono é retirado da circulação – a hemoglobina desoxigenada liga-se ao H^+ resultante da reacção do CO_2 com a água, deixando o HCO_3^- livre; nos pulmões, com a ligação ao O_2 , a hemoglobina liberta o H^+ , que volta a reagir com o bicarbonato, formando de novo CO_2 e água, tornando possível a sua libertação através da respiração. Pelo mesmo mecanismo, a hemoglobina desempenha um papel muito importante na manutenção do equilíbrio ácido-base. Apenas uma pequena fracção do CO_2 resultante do catabolismo é transportado directamente ligado ao heme, na forma de carbaminohemoglobina [7,9,10].

Em suma, é a estrutura quaternária da hemoglobina, a sua ligação cooperativa ao O_2 e a sua interacção complexa com os iões H^+ , o CO_2 e o 2,3-BPG que a tornam capaz de assegurar o transporte rápido e eficaz do oxigénio e do dióxido de carbono e fazem dela uma peça essencial na regulação do equilíbrio ácido-base.

3.3 Genética e Ontogenia

A hemoglobina não é toda igual. Na realidade, ao longo do desenvolvimento, em virtude da expressão selectiva dos genes que codificam as diferentes globinas, o organismo humano sintetiza quantidades variáveis de vários tipos de hemoglobina. A maior parte dos

eventos que compõem este processo ocorrem desde o início da gestação até aos 6 meses de idade, altura em que o padrão de síntese da hemoglobina é praticamente igual ao do adulto.

Os genes das globinas humanas são encontrados em dois *clusters* bem localizados, orientados de 5' para 3' – as globinas α -like no cromossoma 16 (entre p13.2 e o telómero) e as β -like no cromossoma 11 (porção terminal do pequeno braço – p15.5). Ambos possuem uma organização semelhante – três exões separados por dois intrões, sendo que o segundo exão codifica as zonas de ligação ao heme, incluindo a bolsa apolar, e o terceiro as zonas responsáveis pelos contactos α e não- α – e ambos estão sujeitos ao controlo de sequências reguladoras, localizadas a alguma distância na direcção 5' da sequência, designadas por LCR (*locus control region* ou regiões de controlo do *locus*).

Sucintamente e seguindo a orientação de 5' para 3', o *cluster* de genes α -like alberga o gene da globina ζ [zeta], expressa apenas nos estádios iniciais da embriogénese, onde participa na formação de hemoglobinas embrionárias, e dois genes α (α_2 e α_1). O *cluster* β -like contém o gene da globina ϵ [épsilon], dois genes γ [gama] ($^G\gamma$ e $^A\gamma$), o gene δ [delta] e o gene β [6,7,11].

A expressão desses genes é regulada de forma bastante complexa ao longo de todo o desenvolvimento – as globinas são apenas produzidas pelas células eritróides e apenas durante o curto período de 5 a 7 dias que decorre entre o estado de proeritroblasto e a enucleação do reticulócito, chegando a ocupar 90 a 95% de toda a síntese proteica dessas células [7]. O seu estudo tem fornecido a base para o desenvolvimento de novos agentes e novas estratégias terapêuticas para as hemoglobinopatias cada vez mais adaptadas ao indivíduo e à sua informação genética [2].

Assim, na fase inicial do primeiro trimestre da gestação, a formação da hemoglobina é assegurada pelos eritrócitos primitivos formados nas ilhas sanguíneas do saco vitelino, usando as globinas α , ζ e ϵ para formar as hemoglobinas embrionárias Gower-1 ($\zeta_2\epsilon_2$), Gower-2 ($\alpha_2\epsilon_2$)

e Portland ($\zeta_2\gamma_2$) [12]. A partir desta altura, a expressão de globina α não mais cessará, mantendo-se durante toda a vida do indivíduo (Figura 2) [7].

Pouco a pouco, formar-se-ão na parede ventral da aorta dorsal células estaminais hematopoiéticas (CEH's) que irão migrar para o fígado fetal e que, aos 60 dias de gestação, serão capazes de libertar para a corrente sanguínea os primeiros eritrócitos fetais [12]. Nesta altura, a principal globina produzida será a γ [13], o que condicionará uma diminuição gradual das hemoglobinas embrionárias e um aumento da percentagem da hemoglobina fetal (HbF) ($\alpha_2\gamma_2$), que atingirá um pico a meio da gestação (Figura 2) [7].

Ao longo do desenvolvimento fetal, as CEH's migram para a medula óssea, o local preferencial da eritropoiese para o resto da vida do indivíduo e, após o nascimento, os eritrócitos fetais começam progressivamente a ser substituídos por glóbulos vermelhas em tudo semelhantes aos de um adulto [12]. Deste modo, a percentagem de HbF, que se mantém estática nas primeiras duas semanas de vida, começa a diminuir a um ritmo de aproximadamente 3% por semana, sendo que, por volta dos 3 meses de idade, a hemoglobina adulta (HbA) ($\alpha_2\beta_2$) é já a hemoglobina predominante e aos seis meses, a HbF constitui apenas 2 a 3% da hemoglobina total (Figura 2) [14].

Isto acontece porque nas CEH's há uma troca (*switch*) de expressão de globina γ por globina β [13] que só ao fim de alguns meses após o nascimento estará completa, mantendo-se para toda a vida, como representado na Figura 2 [7].

É através do conhecimento deste processo que se consegue perceber porque é que as mutações afectando os genes α ou γ se manifestam no período pré-natal e à altura do nascimento e as mutações relativas ao gene β apenas são notadas alguns meses após o nascimento [1].

No adulto, verifica-se também a presença de baixos níveis – menos de 3.5% [7] – de um segundo tipo de hemoglobina adulta, a HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$), que é hoje um elemento fundamental

na identificação de portadores (indivíduos heterozigóticos) de β -talassémia [15], sem outra relevância clínica [7].

A Figura 2 apresenta graficamente o processo descrito acima.

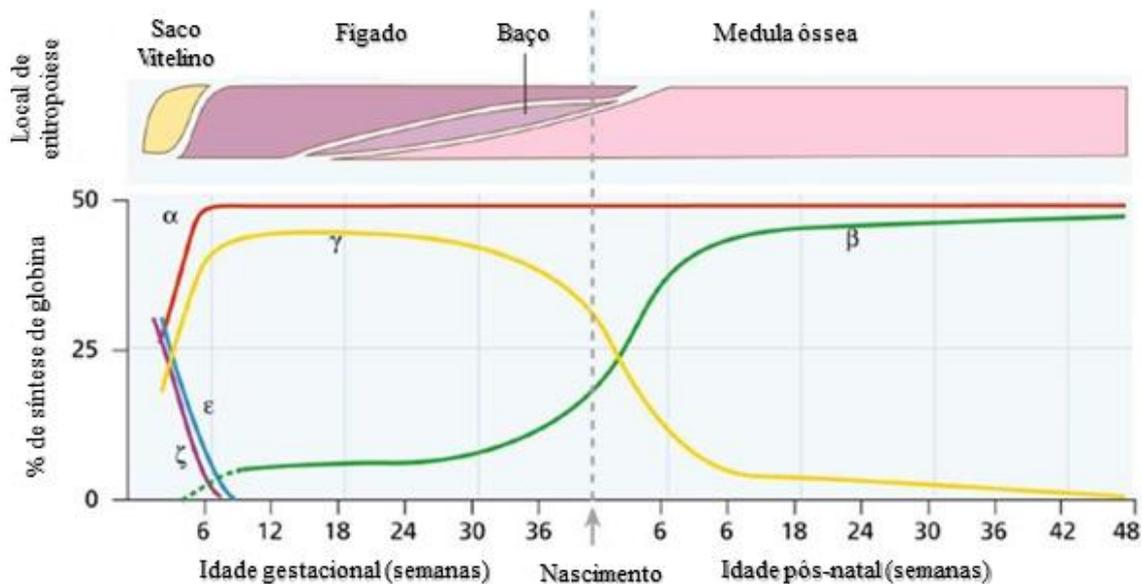


Figura 2: Padrão de troca (*switching*) de hemoglobinas ao longo do desenvolvimento [adaptado de 16]

4 Hemoglobinopatias

O termo hemoglobinopatias refere-se às doenças hereditárias relacionadas com a síntese das cadeias globínicas da hemoglobina. Abarca as doenças que cursam com uma alteração quantitativa da síntese de alguma globina (talassémias) e as doenças em que a síntese de uma globina estruturalmente diferente leva à formação de uma hemoglobina anormal – uma variante hemoglobínica (alterações qualitativas) [17]. Até à data, estão descritas perto de 1200 variantes, embora nem todas tenham tradução clínica.

Constituem hoje as doenças monogénicas mais comuns no mundo [3] e estima-se que possam afectar até cerca de 7% da população mundial [1,18]. A sua distribuição mundial é extremamente heterogénea, havendo grandes diferenças entre países e até entre regiões

próximas geograficamente. São mais comuns nos países tropicais, mas devido aos fenómenos migratórios ao longo dos séculos, existem hoje em todo o mundo [3]. Em Portugal, estima-se que a frequência de portadores ronde os 0.5-1% da população total, chegando aos 5% na de imigrantes [19].

São vários os factores que nos permitem hoje compreender as altas frequências dos genes das hemoglobinas mutantes em certas regiões do planeta. Em primeiro lugar, e seguindo a teoria primeiro proposta por Haldane em 1949, as variantes hemoglobínicas parecem conferir protecção contra os estádios graves da infecção pelo agente da malária (*Plasmodium*) ao portador heterozigótico, sendo mantidas na população devido a mecanismos de selecção natural. Este é verdadeiramente o facto biologicamente mais importante no que toca a este fenómeno e a sua influência faz-se sentir na distribuição global de todas as hemoglobinopatias. A evidência que suporta esta teoria advém da análise e comparação dos padrões de distribuição geográfica da malária e das várias hemoglobinopatias, de ensaios clínicos levados a cabo em áreas em que a malária é endémica e de estudos realizados *in vivo* e *ex vivo* com o *Plasmodium*. Posto isto, não podemos, ainda assim, ignorar a importância da grande frequência de casamentos consanguíneos em muitos dos países com alta frequência de portadores; as melhorias na saúde pública e nas condições nutricionais das populações mais pobres que têm permitido a sobrevivência de bebés afectados por estas condições até idades em que se torna necessário o diagnóstico, o tratamento e o acompanhamento devidos; e a influência de efeitos fundadores em alguns povos [3].

Alguns dos estudos mais recentes sugerem que entre 300.000 a 400.000 bebés nascem todos os anos com uma doença grave da hemoglobina, sendo que cerca de 90% destes nascimentos ocorre em países de médio e baixo rendimento [3].

4.1 Abordagem clínica à anemia

Pela estreita relação que a hemoglobina mantém com o glóbulo vermelho, não é de espantar que os seus distúrbios afectem sobremaneira o funcionamento destas células nem que as suas manifestações clínicas estejam inexoravelmente ligadas a alterações laboratoriais e sinais clínicos associados à linhagem vermelha.

Uma das repercussões mais frequentes das hemoglobinopatias é a anemia, definida pela Organização Mundial de Saúde como Hb inferior a 120mg/dL, no sexo feminino, e inferior a 130mg/dL, no sexo masculino [20]. Tenha-se em conta, no entanto, que os índices sanguíneos variam ligeiramente consoante a idade, pelo que a interpretação dos valores do hemograma deve ser feita de acordo com os valores de referência adaptados à idade [21].

Até recentemente, as anemias eram classificadas de acordo com o volume corpuscular médio (VCM – que reflecte o tamanho médio das células em fentolitros, fL) em macrocíticas, normocíticas e microcíticas. Hoje, essa classificação adquire maior utilidade no diagnóstico diferencial, em conjunto com o RDW (índice que avalia a variação de tamanho entre as células), utilizando-se antes uma classificação baseada na contagem de reticulócitos, que as divide em anemias hiperregenerativas, com valor absoluto destes superior a $100 \times 10^9/L$, e hiporregenerativas, com contagem inferior a $50 \times 10^9/L$ [20,21]. Isto permite distinguir se a anemia se deve a um défice de produção de glóbulos vermelhos na medula (que é o que acontece, em todos os casos, nas hiporregenerativas), ou se o problema reside num aumento da destruição eritrocitária (por hemólise) [20]. A ocorrência de hemorragias, detectáveis pelo doente ou ocultas, deve ser sempre averiguada *ab initio*, uma vez que é também uma importante causa de anemia.

As deficiências nutricionais estão na base das anemias mais vulgarmente encontradas, sendo a de ferro a causa mais frequente de anemia no mundo [20], seguida pela anemia da doença crónica e pela anemia da doença renal (por défice de produção de EPO) [21].

A avaliação da anemia não se limita ao diagnóstico laboratorial (com hemograma completo, contagem de reticulócitos e plaquetas, leucograma), devendo ser complementada com dados da história clínica e do exame físico do doente, que fornecem comumente pistas importantes para a etiologia do problema e permitem orientar mais eficientemente o diagnóstico. Parâmetros como a história familiar (algumas causas de anemia têm carácter hereditário), os antecedentes pessoais (doenças crónicas, transfusões, hemorragias recentes), os hábitos alimentares, medicamentosos, tabágicos e alcoólicos, a história social (consumo de drogas e infecção por HIV ou vírus da hepatite C podem cursar com anemia) e ocupacional (exposições tóxicas) não devem ser menosprezados. O estudo do metabolismo do ferro a nível sanguíneo [11,22] e o esfregaço de sangue periférico – informativo, acessível e de fácil realização, além de verdadeiramente o único exame que revela alterações morfológicas características de alguns distúrbios hemolíticos – são também essenciais, especialmente no campo das hemoglobinopatias [11,21].

Os doentes referem habitualmente cansaço fácil e dispneia (o que obriga, por serem sintomas inespecíficos, à exclusão de doenças infecciosas, inflamatórias ou neoplásicas) e apresentam-se pálidos e/ou com mucosas descoradas. Podem ainda apresentar taquicardia ou hipotensão arterial. Sinais como a queilite angular ou a coiloníquia (associados a anemias ferropénicas), a esplenomegalia (comum em anemias hemolíticas congénitas, em crianças, e em doenças linfoproliferativas ou anemias auto-imunes em adultos, por exemplo) ou a icterícia (que ocorre em anemias hemolíticas) são especialmente úteis ao diagnóstico [21].

A Figura 3 organiza esquematicamente o diagnóstico, o diagnóstico diferencial e a classificação das anemias e das suas causas principais.

Posto isto, a existência de uma variante hemoglobínica deve ser investigada sempre que se verifique alguma das seguintes situações: suspeita clínica, ou necessidade de exclusão, de hemoglobinopatia; microcitose inexplicada; anemia hemolítica inexplicada; cianose

inexplicada; policitemia inexplicada; ou suspeita de hemoglobina mutante em doente diabético quando realizada cromatografia líquida de alta resolução (CLAR) para quantificação de HBA_{1c} [17].

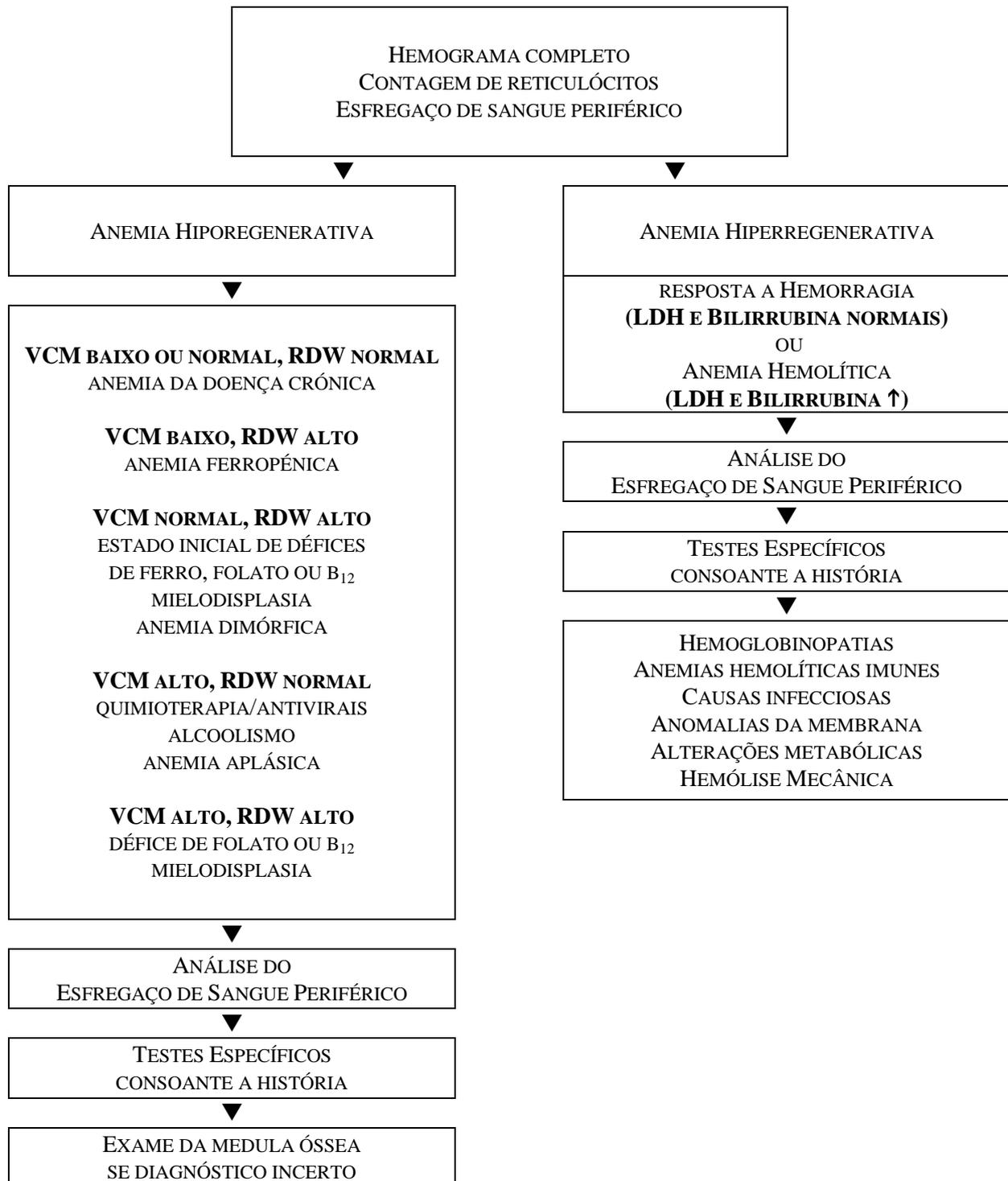


Figura 3: Abordagem ao diagnóstico diferencial de anemia [adaptado de 21]

Tendo em conta a especificidade clínica de cada hemoglobinopatia, uma melhor caracterização das manifestações clínicas associadas a cada uma é feita na secção que lhe corresponde.

4.2 Classificação

As hemoglobinopatias classificam-se genericamente em duas categorias: aquelas que cursam com ausência ou marcada redução quantitativa de subunidades globínicas; e aquelas em que existe um defeito estrutural qualitativo em alguma das globinas.

Dentro destes dois grupos, e apesar de a maioria das hemoglobinas mutantes ter sido descoberta acidentalmente e sem associação clínica distinta, agrupam-se variantes que se associam a fenótipos clínicos característicos. Constituem, desse modo, as síndromes talassémicas (α e β), as síndromes falciformes, as hemoglobinas instáveis (anemias hemolíticas congénitas com corpos de Heinz), as hemoglobinas com alta afinidade pelo oxigénio (cursando com eritrocitose), as hemoglobinas com baixa afinidade pelo oxigénio e as metahemoglobinas (originando cianose) [23].

A Tabela 1 pretende esquematizar e simplificar a classificação acima apresentada.

4.2.1 α -talassémia

Originando-se do grego *thalassa* (mar) e de *haema* (sangue), o termo talassémia foi primeiro utilizado para descrever as anemias frequentemente encontradas em habitantes da zona do Mediterrâneo, nomeadamente das costas grega e italiana e das ilhas circundantes [24–26]. Actualmente, refere-se ao conjunto de doenças hematológicas de hereditariedade autossómica recessiva associado a mutações dos genes das globinas humanas que resultam na diminuição ou total ausência de síntese da globina em causa [25]. Quando essas mutações se localizam no

Tabela 1: Classificação das hemoglobinopatias [adaptado de 23]

DISTÚRBIOS QUANTITATIVOS	DISTÚRBIOS QUALITATIVOS (VARIANTES ESTRUTURAIS)
<p>Síndromes talassémicas</p> <p>1) α-talassémia</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Hereditária</p> <p style="padding-left: 40px;">Formas deleccionais</p> <p style="padding-left: 40px;">Formas não-deleccionais</p> <p style="padding-left: 20px;">B. Adquirida</p> <p style="padding-left: 40px;">ATR</p> <p style="padding-left: 40px;">ATMDS</p> <p>2) β-talassémia</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Classificação clínica</p> <p style="padding-left: 40px;">β-talassémia <i>minor</i></p> <p style="padding-left: 40px;">β-talassémia <i>intermedia</i></p> <p style="padding-left: 40px;">β-talassémia <i>major</i></p> <p style="padding-left: 20px;">B. Classificação genética</p> <p style="padding-left: 40px;">β^0-talassémia</p> <p style="padding-left: 40px;">β^+-talassémia</p> <p style="padding-left: 40px;">β-talassémias “dominantes”</p> <p style="padding-left: 40px;">Outras</p> <p style="padding-left: 20px;">C. Com outras variantes</p> <p style="padding-left: 40px;">HbE/β-talassémia</p> <p style="padding-left: 40px;">Outras</p>	<p>Síndromes Falciformes</p> <p>1) Traço falciforme, SA</p> <p>2) Anemia falciforme, SS</p> <p>3) Com outras variantes</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Doença da HbSC</p> <p style="padding-left: 20px;">B. HbS/β-talassémia</p> <p style="padding-left: 20px;">C. Outras</p> <p>Hemoglobinas Instáveis</p> <p>1) Hereditária</p> <p>2) Adquirida/tóxica</p> <p>Hemoglobinas com alta afinidade pelo O₂</p> <p>1) Variantes estruturais</p> <p>2) Carboxihemoglobinemia</p> <p>Hemoglobinas com baixa afinidade pelo O₂</p> <p>Metahemoglobinemia</p> <p>1) Hereditária</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Variantes estruturais</p> <p style="padding-left: 20px;">B. Deficiência enzimática de met-Hb redutase</p> <p>2) Adquirida/tóxica</p>

ATR: síndrome de α -talassémia associada a atraso mental, por mutação do gene ATR; ATMDS: síndrome com mutação do gene ATR associada a síndrome mielodisplásica.

cluster das α globinas do cromossoma 16 ou no das β globinas do cromossoma 11, referimo-nos a α -talassémia e β -talassémia, respectivamente.

Estima-se que a prevalência das mutações talassémicas possa chegar a 5% da população mundial, com a taxa de portadores a atingir 40% nalgumas regiões da China e do Sudeste Asiático [27] e 80% no norte da Índia e na Papua Nova Guiné [3].

4.2.1.1 Genética e Fisiopatologia

O nosso organismo, apesar do diferente número de genes codificantes de globinas, produz quantidades quase idênticas de globinas α e não- α . Este facto, e o emparelhamento destas em dímeros, directamente dependente da carga relativa de cada uma, são parâmetros de grande importância para a manutenção da homeostase eritrocitária e da função da hemoglobina. Isto é assim porque, apesar de o tetrâmero de hemoglobina ser hidrossolúvel, os seus constituintes isolados (globinas, protoporfirina, ferro) não o são e a sua precipitação tem efeitos deletérios para a vida do glóbulo vermelho.

Assim, de modo a regular estes processos, existe grande coordenação entre a síntese de cadeias e de heme, sendo as globinas não emparelhadas e as variantes mutantes removidas das células por proteases dependentes de ATP. No entanto, quando se verifica a presença de uma mutação em algum dos genes globínicos que condicione significativamente a sua expressão, o excesso de globinas não emparelhadas (as correspondentes aos genes não afectados) torna este sistema insuficiente, ocorrendo precipitação destas [24]. Em virtude deste fenómeno, quando a produção de uma globina é reduzida até menos de 25% dos valores normais, os doentes acabam por desenvolver uma anemia hemolítica moderadamente grave [4]. A Figura 4 esquematiza graficamente este processo.

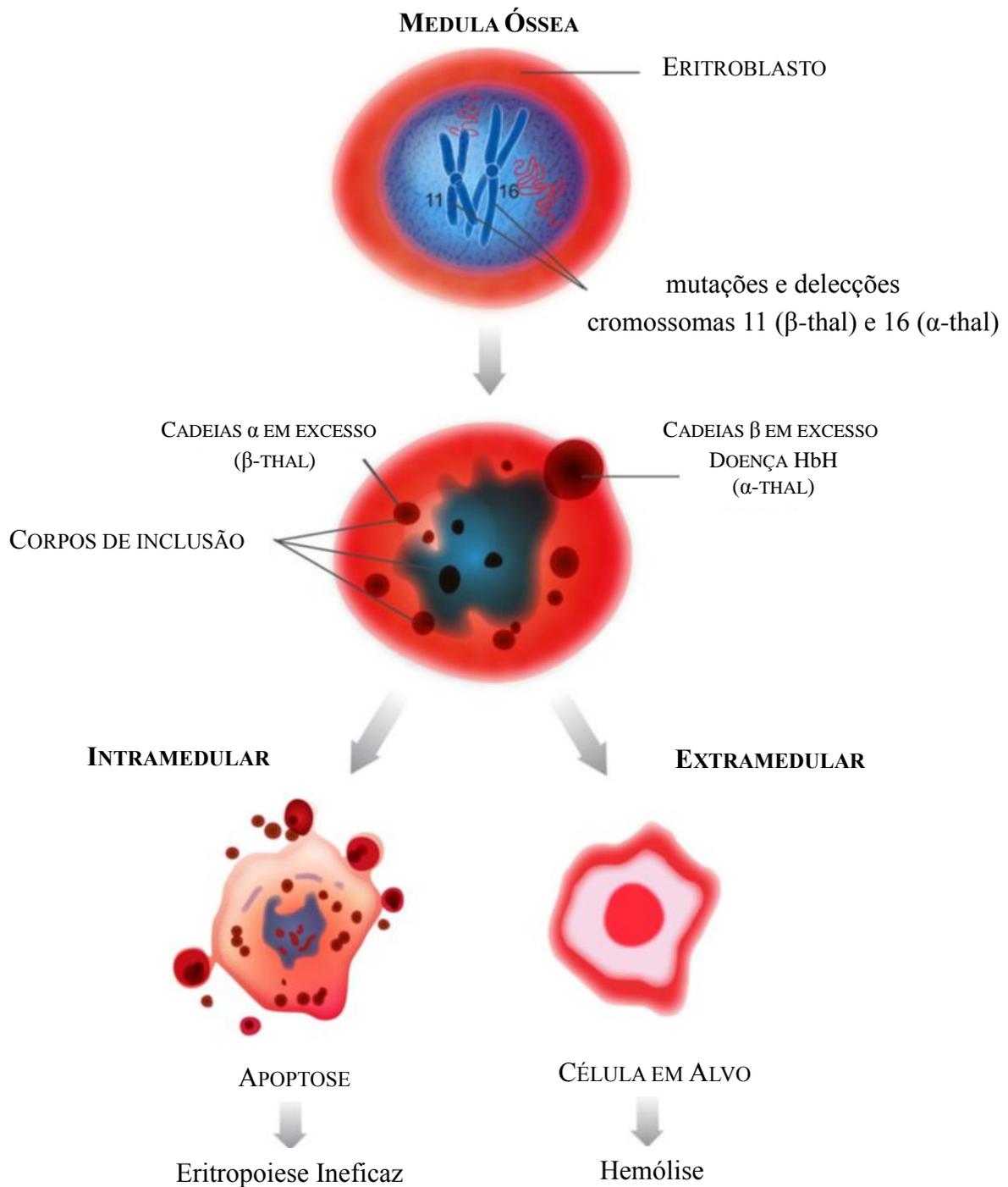


Figura 4: Mecanismos envolvidos na eritropoiese ineficaz e na hemólise na talassémia [adaptado de 26]

A ocorrência destas mutações tem ainda outra consequência mais imediata – a diminuição de tetrâmeros de hemoglobina funcionantes, que, no caso dos genes α , condiciona desde cedo no desenvolvimento a formação de HbF e, posteriormente, de HbA e HbA₂ [4,24].

São estes dois eventos que definem o processo fisiopatológico e vêm a ditar, em conjugação com diversos factores modificadores da doença, as manifestações clínicas das síndromes talassémicas [24].

Consoante o número de genes α afectados, definem-se genericamente quatro síndromes α -talassémicas – a α^+ -talassémia, ou traço silencioso ($\alpha\alpha/\alpha^-$); a α^0 -talassémia, ou traço talassémico ($\alpha\alpha/--$ ou α^-/α^-); a doença da Hemoglobina H ($\alpha^-/--$); e a hidrósia fetal por Hemoglobina Bart ($--/--$). A α^0 -talassémia é ainda dividida em α -talassémia-1 (heterozigotia para o *locus* α -thal-1, com dois genes α deletados – deleção *cis*- α^0) e α -talassémia-2 (homozigotia para o *locus* α -thal-2, com deleção de um gene α – deleção *trans*- α^0), sendo que a primeira é mais comum nas populações da Ásia e do Mediterrâneo e a segunda em afro-americanos [24,28]. Assim se compreende o facto de a doença da HbH ser rara e a hidrósia fetal (HbBart) nunca ter sido reportada em populações de raça negra, apesar de o traço silencioso α^+ e a α -talassémia-2 serem muitos comuns nesta população [24].

A Figura 5 apresenta uma simplificação gráfica destas síndromes.

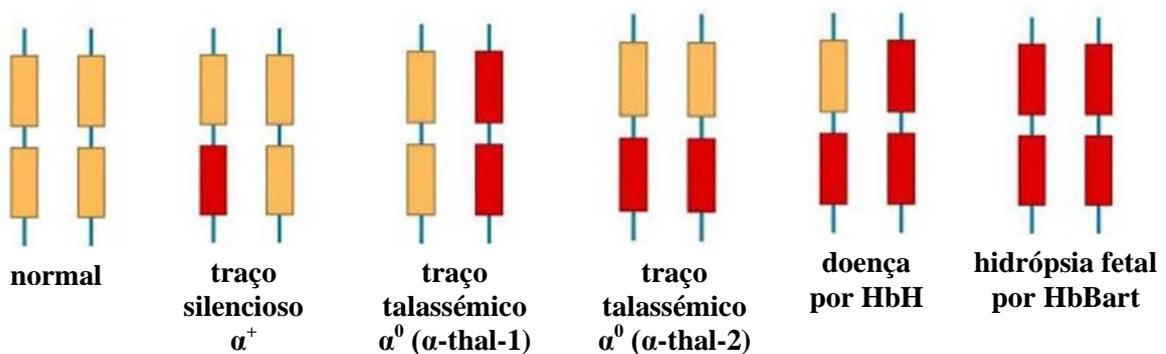


Figura 5: Síndromes genéticas da α -talassémia [adaptado de 16]

Podemos ainda agrupar as talassémias em formas delecionais e não-delecionais – as primeiras causadas por deleção do gene globínico em causa e as segundas originadas pela presença de mutações pontuais ou variações nucleotídicas nos genes, impedindo desse modo a sua expressão correcta [4,27].

Ainda hoje se continuam a descobrir novas variantes genéticas talassémicas, a grande maioria bastante restritas e raras [4] mas até ao momento estão descritas 69 mutações associadas a formas não deleccionais de α -talassémia (denotadas genericamente como $\alpha^T\alpha$ ou $\alpha\alpha^T$, consoante é o gene α_2 ou o α_1 afectado, respectivamente) [27]. Estas afectam apenas cerca de 15 a 20% dos doentes com α -talassémia mas podem, em alguns casos, conduzir a formas mais graves de doença do que as formas deleccionais [24].

O caso mais paradigmático é o da hemoglobina Constant Spring (HbCS), resultante do alelo α^{CS} . Este, por produzir uma globina α com mais 31 aminoácidos que o normal devido a uma mutação que altera o codão stop, traduz-se em ARNm instável, levando a uma expressão genética que ronda valores de aproximadamente 1% do normal, sendo por isso considerado severamente talassémico [24,27,29]. Atinge frequências que variam entre os 1 e 8% nas populações do Sudeste Asiático, sendo o alelo α -talassémico não-deleccional mais prevalente no mundo [29] mas foi sempre identificado ligado a um alelo α normal ($\alpha\alpha^{CS}$), pelo que nunca foi observada hidrósia fetal devido a alelos α^{CS} , sendo, no entanto, comuns nestas populações o traço α^+ ($\alpha\alpha/\alpha\alpha^{CS}$) e a doença da HbH-Constant Spring ($--/\alpha\alpha^{CS}$) [24].

É de referir que a hidrósia fetal pode também ocorrer com mutações não-deleccionais, bastando a afecção de 3 genes ($\alpha^T\alpha^T/\alpha^T\alpha$, por exemplo), se associados a hiperinstabilidade ou a mutações com grave comprometimento da expressão [27].

No que concerne às formas deleccionais da doença, existem perto de 50 mutações hoje conhecidas [4]. As mutações associadas a α^+ -talassémia, afectando apenas um dos genes α , são conhecidas pela extensão da deleção, sendo as variantes mais comuns a $-\alpha^{3,7}$ e a $-\alpha^{4,2}$, com deleções de 3,7 e 4,2kb, respectivamente [27,28]. As que se associam a α^0 -talassémia, ou seja, que abrangem os dois genes α , são, na sua maioria, nomeadas de acordo com o seu local de descoberta, sendo as mais comuns a do Sudeste Asiático ($-\alpha^{SEA}$) e a do Mediterrâneo ($-\alpha^{MED}$), que mantêm intactos os genes das globinas embrionárias [4,27]. O mesmo não

acontece, por exemplo, com a deleção tailandesa ($-\text{THAI}$) [27] ou com a filipina ($-\text{FIL}$), mais longas, que, por abrangerem também os genes ζ , quando herdadas em homozigotia, impossibilitam desde logo a formação de HbPortland ($\zeta_2\gamma_2$) no primeiro trimestre da gravidez, levando a uma hidrósia fetal por HbBart (γ_4) agravada, culminando na morte fetal e em abortamento mais precoce do que o habitual [28].

As altas prevalências de portadores em algumas das regiões já anteriormente referidas, o facto de a conjugação das suas mutações poder originar facilmente síndromes de considerável gravidade – a doença da HbH ou a hidrósia fetal por HbBart, através da homozigotia para α^0 ou da combinação destas com α^+ – e o grande impacto que estes problemas têm em termos de saúde pública nesses países são factores de grande importância neste campo e que tornam imperativa uma melhor caracterização destas variações genéticas e a melhoria dos programas de rastreio e dos cuidados de saúde [28].

4.2.1.2 Manifestações Clínicas

O espectro clínico da α -talassémia vai desde uma condição assintomática até uma doença fatal *in utero* [27]. A gravidade das síndromes, directamente influenciada pelo número de genes afectados e pelo tipo de mutações, correlaciona-se com a presença de tetrâmeros de alta afinidade pelo oxigénio β_4 (HbH) e γ_4 (HbBart) e com a extensão em que estes reduzem a eficiência da eritropoiese e a sobrevivência dos glóbulos vermelhos [28].

A investigação de outros factores modificadores de doença, particularmente da doença da HbH, e ao contrário dos relacionados com as β -talassémias, tem visto pouco progresso. Polimorfismos funcionais do gene ATR podem, no entanto, entre outros, desempenhar um papel importante [29].

4.2.1.2.1 α^+ -talassémia

Também denominado traço silencioso α^+ , ou estado do portador silencioso, esta forma de α -talassémia praticamente não tem consequências para os doentes. Clinicamente, são assintomáticos [28], com índices sanguíneos muitas vezes normais ou limítrofes [27], apresentando por vezes anemia hipocrômica ($< 27\text{pg}$) muito ligeira, que é assumida como ferropénica [19,28]. Podem ser detectadas pequenas quantidades de HbBart ($\leq 3\%$) à nascença [24].

4.2.1.2.2 α^0 -talassémia

Tal como o estado α^+ , a afecção de dois genes nos traços talassémicos α^0 tem pouco significado clínico. São ambos reconhecidos principalmente pelo efeito modificador de doença que possuem quando herdados em conjunto com formas graves de β -talassémias e de doença de células falciformes (DCF) [27]. Os doentes apresentam uma anemia microcítica e hipocrômica moderada, com níveis significativamente reduzidos de VCM e HCM ($< 24\text{pg}$) e com níveis elevados de HbBart detectáveis à nascença [19,27]. A microcitose é ocasionalmente atribuída a deficiências de ferro, o que pode fazer com que haja suplementações orais deste elemento potencialmente prejudiciais [28].

4.2.1.2.3 Doença da Hemoglobina H

É a forma não-fatal mais grave de α -talassémia [29]. Pela afecção de três genes, a síntese de globina α fica severamente afectada, dando origem à formação de grandes quantidades de HbH ($\approx 10\text{-}20\%$) [19], que é instável [24,27,28], o que leva à morte intramedular dos eritroblastos, resultando em eritropoiese ineficaz [27], anemia ligeira a moderada com marcada microcitose e hipocromia [28,30].

No entanto, é considerada uma doença relativamente leve, já que a maioria dos doentes tem um crescimento e desenvolvimento normais e raramente requer transfusões (exceptuando em episódios hemolíticos agudos), esplenectomia ou terapia de quelação do ferro [29].

A relação genótipo/fenótipo da doença não é clara e as formas originadas por mutações não-deleccionais têm normalmente um curso clínico agravado. Os doentes com HbH-Constant Spring, por exemplo, são mais anémicos e têm níveis maiores de HbH do que os com mutações deleccionais, sendo a dependência de transfusões também maior [29].

Há uma grande variação dos índices sanguíneos entre doentes, por vezes até entre alguns com o mesmo genótipo, mas a base fisiopatológica deste fenómeno continua por esclarecer, o que dificulta o estabelecimento de prognósticos precisos [29].

Clinicamente, os portadores de doença da HbH são particularmente sensíveis a processos hemolíticos, graves e súbitos, despoletados por doença febril e/ou infecciosa ou ingestão de agentes oxidantes [27,30] e muitos dos doentes com formas deleccionais acabam por ser diagnosticados nesses episódios [29]. Cerca de 20% correspondem mesmo a crises hipoplásicas agudas secundárias a infecções por parvovírus ou outros [27].

A hemólise pode levar também à formação de cálculos biliares (estima-se que até 38% dos doentes tenham litíase silenciosa) [29] e colelitíase, aguda ou crónica [27,29]. Têm também um risco aumentado de trombose [27]. A esplenomegalia, cujo grau se pode correlacionar bem com a gravidade da síndrome, e, menos frequentemente, a hepatomegalia são também descritas [28]. A sobrecarga de ferro, causada pelo aumento da absorção intestinal de ferro secundário à hemólise exacerbada e à eritropoiese ineficaz [29], é também um problema comum e subdiagnosticado nas doenças por HbH [27]. As mulheres com doença da HbH podem ver agravada a sua anemia durante a gravidez e são relatadas altas taxas de partos prematuros, pré-eclâmpsia e insuficiência cardíaca congestiva durante o terceiro

trimestre [30]. A eritropoiese ineficaz pode ainda levar a uma diminuição da massa óssea [30] e a densidade óssea deve também ser vigiada, por ter tendência a diminuir [27,28,30].

A Tabela 2 sistematiza os principais achados clínicos e laboratoriais e as diferenças entre as formas delecionais e não-delecionais da doença da HbH.

Tabela 2: Principais manifestações clínicas e índices laboratoriais da doença da HbH e comparação entre as formas delecionais e não-delecionais [adaptado de 27,28]

MANIFESTAÇÃO CLÍNICA OU ALTERAÇÃO LABORATORIAL	FORMAS DELECCIONAIS	FORMAS NÃO-DELECCIONAIS
Hb (g/dL)	8.5 (6.9-10.7)	7.2 (3.8-8.7)
VCM (fL)	54.0 (46.0-76.0)	65.2 (48.7-80.7)
HCM (pg)	16.6 (14.3-24.7)	18.6 (14.8-24.8)
ANEMIA	58%	65%
RETICULOCITOSE	+	++
IDADE DA 1ª TRANSFUSÃO (ANOS)	11 ± 5.5	1.5 ± 2.1
HISTÓRIA DE TRANSFUSÕES (%)	3-29	24-80
ICTERÍCIA	24%	27%
ESPLENOMEGALIA	15%	24%
HEPATOMEGALIA	6%	11%
CÁLCULOS BILIARES	10%	28%
ATRASO DE CRESCIMENTO	Raro	Comum
DIMINUIÇÃO DA DENSIDADE ÓSSEA	Raro	Comum

Hb: Hemoglobina; VCM: Volume corpuscular médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular média.

4.2.1.2.4 Hidrópsia Fetal por Hemoglobina Bart

A homozigotia para o alelo $-^{SEA}$ é a causa mais comum da mutação dos quatro genes α [27] que caracteriza a síndrome de hidrópsia fetal por HbBart, de ocorrência praticamente exclusiva em populações asiáticas [24]. Visto essa deleção não envolver os genes das

globinas embrionárias, a gestação progride até perto do fim, permitindo a manifestação da síndrome. As mutações mais extensas, que não permitem a formação de Hb embrionária, acabam por originar abortamentos espontâneos, frequentemente não diagnosticados [17,27].

O problema começa por altura da troca das hemoglobinas embrionárias pela HbF, que não pode ser produzida sem cadeias α . Por isso, formam-se tetrâmeros instáveis β_4 , ou HbBart, que não libertam oxigénio para os tecidos em virtude da sua elevada afinidade por este. O processo eritropoiético é altamente ineficaz e ocorre extensamente em localizações extramedulares, com níveis de Hb a rondar os 6.4g/dL e HCM inferior a 20pg, levando a organomegalias massivas, insuficiência cardíaca, edemas generalizados e, em última instância, morte fetal [19,27].

Os perigos estendem-se também à mãe, já que a gravidez de um feto com estas mutações é considerada de muito alto risco e acarreta riscos bem documentados de pré-eclâmpsia, hipertensão, toxemia, hemorragias anteparto, má apresentação ao nascimento e prematuridade, não ignorando o sofrimento fetal e o risco alto de malformações devido à hipoxia e à placenta tipicamente alargada e friável [27,28].

Apesar da muito elevada mortalidade sem tratamento [19], a existência de 10 a 20% de HbPortland ($\zeta_2\gamma_2$) permite a alguns fetos chegar ao terceiro trimestre da gestação, sobrevivendo [24,28], ainda que com risco elevado de disfunção neurocognitiva severa [27]. São habitualmente bebés pré-termo que apresentam anemia grave (3-8g/dL) em que a maioria apresenta insuficiência cardíaca de alto débito e cardiomegalia, além de efusões pleurais, pericárdicas e edema generalizado (que advém da insuficiência cardíaca e da hipoalbuminemia secundárias à baixa função do fígado, sobrecarregado com a eritropoiese). As malformações descritas incluem, entre outras, defeitos do comprimento dos membros, anomalias genitais, hidrocefalia, microcefalia, aplasia pulmonar, renal e supra-renal [24,28].

4.2.1.3 Diagnóstico Clínico e Laboratorial

O diagnóstico das α -talassémias é clinicamente mais difícil que o das β -talassémias porque não há elevação da HbA₂ (pode até estar baixa) ou da HbF, ainda que as deleções sejam prontamente detectadas por métodos de biologia molecular [24].

Os traços α^+ e α^0 são condições mais frequentemente diagnosticadas quando na descendência de um indivíduo aparentemente normal surgem síndromes talassémicas severas [24]. Sem ser nessas situações, os testes genéticos devem ser feitos no decorrer da investigação etiológica de uma anemia hemolítica ou uma microcitose inexplicadas em doentes de origem étnica sugestiva, sem deficiência de ferro e níveis de HbA₂ normais [17,28]. Os algoritmos de decisão adoptados variam [14]. A identificação desses casos, para aconselhamento genético futuro, é fundamental para o controlo do risco que existe para a descendência dos portadores [27].

A doença da HbH deve ser excluída na presença de uma anemia microcítica com reticulocitose moderada (3-6%), alto RDW e esplenomegalia [17,27,29]. Os índices sanguíneos, apesar de úteis, são, no entanto, inespecíficos [27]. O esfregaço de sangue periférico revela, nas formas deleccionais, anisocitose e poiquilocitose e, raramente, eritroblastos. Entre 5 a 80% dos eritrócitos podem revelar inclusões com a coloração do azul de cresil brilhante [27,30].

A avaliação quantitativa e qualitativa da Hb pode ser feita com recurso à electroforese em acetato de celulose ou à CLAR (um óptimo método de rastreio desta doença) [27], que tipicamente mostra um pico duplo precoce [17]. Contudo, os testes devem ser feitos em amostras frescas, pois, pela instabilidade da HbH, se a amostra for congelada ou forem usados solventes orgânicos na sua preparação para análise, a detecção pode não ser conseguida.

No período neonatal, a CLAR detecta também frequentemente HbBart (níveis superiores a 25% indicam doença da HbH) [27]. Nas formas não-deleccionais (HbH-Constant

Spring, por exemplo), o diagnóstico é complicado pela normocitose frequente e pelo facto de a electroforese poder não detectar a HbH [30]. O diagnóstico definitivo só é obtido com confirmação genético-molecular [27].

Deve suspeitar-se de hidrósia fetal por HbBart quando há uma morte intra-uterina ou neonatal associada a hidrósia, particularmente quando os progenitores são originários, ou têm ascendência, de zonas de alta prevalência de alelos α -talassémicos [17]. No caso das α -talassémias, isto refere-se a pessoas oriundas do sudeste asiático, da Sardenha, chineses, tailandeses, turcos, gregos e cipriotas [14].

Devido à obrigatoriedade de homozigotia α^0 , os pais podem ser testados para averiguar o risco desta síndrome. Nos casais de alto-risco, pode ser oferecido diagnóstico pré-implantatório [28] mas o diagnóstico molecular pode ser obtido precocemente com uma biópsia das vilosidades coriônicas e, a partir das 16 semanas de gestação, a ecografia com Doppler da artéria cerebral média detecta 90% dos casos [27]. A análise dos eritrócitos fetais em circulação materna demonstrou também ser eficaz [28].

4.2.1.4 Tratamento e Acompanhamento

Ao longo dos últimos anos, tem havido grandes progressos no que toca ao controlo e à prevenção das talassémias, assim como no seu tratamento sintomático. O uso de transfusões e a capacidade de controlar a inevitável sobrecarga de ferro e as suas complicações estão na base destes últimos [31].

Os doentes com traços talassémicos α^+ e α^0 , pela natureza da sua síndrome clínica, não exigem tratamento ou acompanhamento, devendo os seus índices sanguíneos ser interpretados como decorrentes da sua condição genética e a suplementação com ferro evitada, a não ser quando absolutamente necessária [19].

O tratamento dos doentes com doença da HbH é essencialmente preventivo e sintomático. Em decorrência da hemólise e do aumento da eritropoiese, a suplementação com ácido fólico (2-5mg/dia), especialmente em idade pediátrica, é recomendada, tal como com um suplemento multivitamínico sem ferro, devido a potenciais défices de cálcio, vitamina D ou antioxidantes. As restantes medidas preventivas incluem a evicção de dietas com alto conteúdo férrico, de tratamentos com ferro sem que haja ferropenia, de compostos ou fármacos com acção oxidante e o tratamento rápido de infecções. Deve também ser dado conhecimento à família, e ao doente se tiver idade para compreender, sobre a possibilidade de ocorrência de episódios de anemia súbita, em que pode ser necessária transfusão, e ser treinado o reconhecimento de sinais de alarme [28,30].

O tratamento da crise hemolítica aguda envolve o restabelecimento com a transfusão de níveis de Hb entre 8 e 9g/dL, não esquecendo a hidratação, o controlo electrolítico, a medição da temperatura corporal e correcção, se necessário. A identificação e o tratamento da causa do episódio devem ser tão rápidos quanto possível [29,30].

O agravamento da situação clínica, anemia grave (inferior a 6,5g/dL), alterações esqueléticas ou diminuição do crescimento constituem situações em que a transfusão regular deve ser estabelecida, mas, exceptuando isso, as indicações baseiam-se na qualidade de vida dos doentes [30]. Ainda assim, pelo aumento da sua capacidade de absorção intestinal do ferro, mais de 70% dos adultos com doença da HbH tem sobrecarga de ferro. A avaliação periódica do ferro hepático (por ressonância magnética), da função cardíaca (por ecocardiografia) e hepática, além da densidade óssea, constitui uma boa prática que permite identificar doentes de alto-risco em quem a intervenção terapêutica pode prevenir maiores complicações e morbilidade [27,28].

Os doentes com grande esplenomegalia podem ser submetidos a esplenectomia, que resulta em melhorias significativas dos parâmetros hematológicos (aumento de cerca de 2g/dL

de Hb) e clínicos, mas em cada caso devem ser avaliados os riscos (que incluem septicemia, TVP e TEP, sendo realizada profilaxia com aspirina) e os benefícios [27,30]. Os doentes esplenectomizados parecem também ter uma sobrecarga de ferro acentuada na idade adulta [28]. A colecistectomia, em doentes com cálculos biliares persistentes, pode também ser efectuada [30].

Em casos de extrema gravidade, o transplante alogénico deve ser considerado [29].

No que concerne à hidrósia fetal por HbBart, a transfusão intra-uterina e os avanços mais recentes têm permitido aos fetos afectados sobreviver mais tempo, mas esses casos ainda são raros. No decorrer da sua vida, irão necessitar frequentemente de transfusões ou de ser submetidos a transplante de CEH's, a única modalidade curativa actual [27].

A prevenção, através de programas de rastreio já implementados em muitos países e de educação para a saúde, é a medida mais eficaz de controlo da doença [27].

4.2.2 β -talassémia

A β -talassémia é caracterizada pela diminuição quantitativa de cadeias β que fazem parte da hemoglobina circulante. É causada por uma enorme variedade de mutações que afectam o *cluster* β do cromossoma 11, tendo sido até hoje descobertas quase 300 variantes [32]. Estima-se que até 1,5% da população mundial seja portadora e que nasçam anualmente 60.000 bebés com doença grave [12].

A associação de defeitos quantitativos β a alterações estruturais origina algumas das variantes estruturais talassémicas, abordadas numa secção posterior deste trabalho.

Há ainda a salientar variantes de tal forma instáveis que não chegam a formar parte de qualquer tetrâmero, mesmo sendo produzidas em quantidades normais. Devido a isso, ocorre uma deficiência funcional de globinas β associada a um fenótipo talassémico. Este tipo de alelos é raro mas origina sintomatologia anémica moderadamente grave mesmo quando

presente em heterozigotia, correspondendo a formas dominantes de β -talassémia, ao contrário das formas comuns, recessivas [32].

4.2.2.1 Genética e Fisiopatologia

A genética das β -talassémias é complexa e a relação com o fenótipo não é linear [33], pelo que é classificada de duas formas – de acordo com a gravidade clínica (β -talassémia *minor*, β -talassémia *intermedia* e β -talassémia *major*) e de acordo com as mutações presentes e com o modo como elas afectam a síntese globínica.

Assim, geneticamente, denominam-se β^0 as mutações que fazem cessar completamente a síntese β e aquelas que permitem alguma expressão do gene são consideradas β^+ ou β^{++} consoante o maior ou menor grau, respectivamente, em que afectam a quantidade de globinas β produzidas [32]. Depois, há que ter em conta que, como herdamos dois genes β – um em cada cromossoma 11 – há a associação destas mutações em heterozigotia (β^T/β), em homozigotia (β^T/β^T) ou ainda em combinações mais complexas, com mais de um tipo de mutação presente – heterozigotia composta [12,32]. A herança de mais do que um tipo de mutação é, aliás, muito frequente, constituindo, por exemplo, a HbE/ β -talassémia ($\beta^E\beta^0$ ou $\beta^E\beta^+$) quase metade dos casos de β -talassémia grave no mundo e a forma mais comumente detectada em alguns dos programas de rastreio neonatal da América do Norte [34].

Tal como a α -talassémia, também a β -talassémia pode ser agrupada em formas delecionais e não-delecionais. Contudo, ao contrário do que ocorre na α -talassémia, as β -talassémias raramente têm na sua génese mutações delecionais, excepto em dois casos – delecções limitadas ao gene β , associadas a β^0 -talassémia e responsáveis por cerca de um terço dos casos de doença na população indiana, e delecções que afectam a LCR (com o gene β intacto – tipo II, ou não – tipo I), que apenas foram descritas em heterozigotia por

presumivelmente causarem $(\epsilon\gamma\delta\beta)^0$ -talassémia em homozigotia – uma condição incompatível com a vida [12,32].

A grande maioria das mutações β -talassémicas constitui, então, formas não-deleccionais e quase todas fazem fisicamente parte do *cluster* β e são segregadas com ele (actuação *cis*), embora tenham sido descobertas recentemente mutações de actuação *trans*, isto é, mutações que influenciam a expressão β mas cuja hereditariedade sugere uma segregação independente do *cluster* β [32].

Posto isso, o defeito da vasta maioria dos alelos β -talassémicos reside em substituições de bases, pequenas inserções, ou deleções pontuais, de um nucleótido ou de um número limitado deles, no gene β propriamente dito ou nas regiões imediatamente circundantes. Estes influenciam a quantidade de globina produzida afectando a transcrição génica, o processamento do ARN ou a tradução do ARNm [32]. Algumas β -talassémias podem ainda ser resultado de duplicações α , que culminam nas mesmas manifestações fisiopatológicas das com as mutações já descritas [35]. Uma caracterização mais extensa destas mutações pode ser obtida consultando as referências.

A classificação clínica baseia-se na gravidade das síndromes, o critério mais importante ao diagnóstico [36] e vai desde a talassémia dependente de transfusões que se apresenta com anemia grave desde o primeiro ano de vida – β -talassémia *major*, até formas clinicamente silenciosas, ou β -talassémias *minor*, abarcando, no meio do espectro, algumas que cursam com anemia mais moderada, que se apresentam mais tardiamente, e que podem nunca requerer transfusões, ou apenas fazê-lo intermitentemente, as β -talassémias *intermedia* [37,38].

A fisiopatologia das β -talassémias assenta no desequilíbrio entre globinas criado pela diminuição quantitativa de cadeias β . O excesso de globinas α desemparelhadas faz com que estas precipitem, levando à formação de espécies reactivas de oxigénio e de hemicromos,

causando lesão na membrana através da agregação da proteína banda 3, um dos maiores constituintes da membrana eritrocitária. Isto tem efeitos prejudiciais directos nos precursores eritróides da medula óssea, comprometendo a eritropoiese e tornando-a ineficaz [37,39]. A razão entre globinas α e não- α é o melhor determinante de gravidade da doença, mais do que a diminuição quantitativa da produção de hemoglobina. O sistema ubiquitina-proteassoma e a proteína estabilizadora da α -globina (AHSP) são alguns dos sistemas celulares que removem cadeias α em excesso cuja capacidade funcional é excedida nestas patologias [37].

A anemia β -talassémica é, em suma, resultado de uma eritropoiese ineficaz e de uma sobrevivência diminuída dos glóbulos vermelhos, em virtude de inclusões de α -globina [26]. Este processo fisiopatológico foi já comparado com a doença de Parkinson e a Coreia de Huntington, também resultantes da acumulação de proteínas instáveis e com tendência para a agregação. É essa mesma anemia que vai depois aumentar a produção de eritropoietina, promovendo a expansão da medula óssea, dando origem às deformidades do esqueleto e à osteopenia observadas nos doentes, e ao aumento da absorção de ferro, condicionando lesões orgânicas por sobrecarga de ferro [37].

4.2.2.2 Manifestações Clínicas

A gravidade do fenótipo β -talassémico é ditada primariamente pelo tipo de mutação e pela forma como é herdada (heterozigotia ou homozigotia) e secundariamente pelos factores modificadores de doença – que, no caso da β -talassémia, são a co-herança de α -talassémia (que reduz a quantidade de cadeias α livres e assim os seus efeitos deletérios para o glóbulo vermelho), a capacidade inata de ter uma expressão aumentada de globina γ (através de mutações de persistência hereditária de hemoglobina fetal [PHHF]) [32,33] e o grau de expressão da AHSP (que se liga às cadeias α livres durante o processo de formação da Hb, prevenindo a sua precipitação nas células) [37,40].

A HbF ($\alpha_2\gamma_2$) é a hemoglobina predominante na vida fetal e começa a ser substituída gradualmente pelas hemoglobinas de cadeias β (HbA e HbA₂) apenas por altura do nascimento. Devido a isto, os doentes afectados por β -talassémias não apresentam anemia até que a expressão γ seja silenciada, permanecendo assintomáticos usualmente até aos 4-6 meses de idade [26,39].

4.2.2.2.1 β -talassémia *minor*

As β -talassémias *minor* resultam de uma herança heterozigótica de alelos talassémicos. Os doentes são normalmente assintomáticos [38] e apresentam anemia ligeira, microcítica e hipocrômica, e valores de Hb entre os 9 e os 13g/dL, sendo mulheres, e entre os 9 e os 15g/dL, sendo homens; o VCM ronda os 50-60fL e a HCM situa-se entre os 14 e os 20pg. A HbA₂ é superior a 3,2% e a HbF situa-se nos 0,5-6% [19].

4.2.2.2.2 β -talassémia *intermedia*

Cerca de 10% dos doentes com β -talassémia têm uma forma *intermedia* [26], cuja definição é por vezes difícil na prática clínica [36]. A avaliação da gravidade do fenótipo clínico, que o permite fazer, deve idealmente ser feita aquando do diagnóstico e ao longo de um período de acompanhamento rigoroso, evitando decisões terapêuticas precipitadas e um diagnóstico definitivo sem terem sido tidos em conta parâmetros como o bem-estar do doente, o seu ritmo de crescimento e desenvolvimento e o aparecimento precoce de deformações esqueléticas ou outras comorbilidades [35].

Na sua origem estão usualmente combinações complexas de mutações, que a Figura 5 representa esquematicamente, e o jogo com os factores modificadores de doença adquire uma importância fulcral [35].

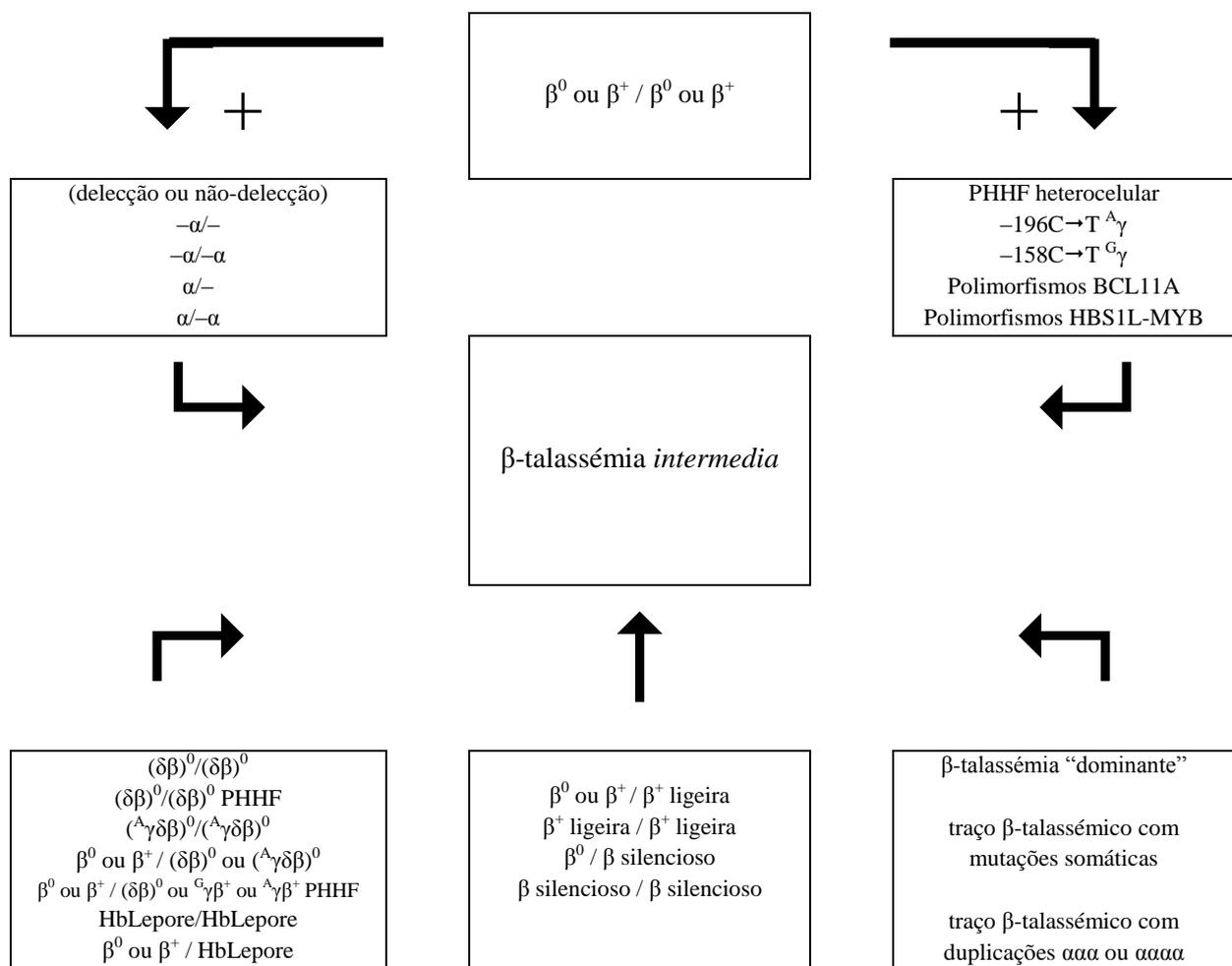


Figura 5: Principais génotipos associados a β -talassémia *intermedia* [adaptado de 35]

O espectro clínico abarca doentes que manifestam a doença entre os 2 os 6 anos e, apesar de não necessitarem de transfusões regulares, têm atrasos de crescimento e do desenvolvimento e doentes que permanecem assintomáticos até apresentarem uma anemia ligeira na idade adulta [38].

A hipertrofia eritróide medular e a eritropoiese extramedular são comuns em resposta à anemia crónica e associam-se a deformidades do esqueleto e da face, osteopenia e osteoporose (que conduz a fracturas dos ossos longos) e massas eritróides que podem afectar o baço, o fígado, o tórax, os gânglios linfáticos e a coluna vertebral (especialmente importante, pois pode originar compressões medulares) [35–38].

A hemólise extravascular, devido à libertação para a circulação de eritrócitos danificados e de precursores eritróides, origina esplenomegalia progressiva e leva, em associação com ativação plaquetar e endotelial, a um estado hipercoagulável, recentemente responsabilizado por complicações graves, como a hipertensão pulmonar e eventos tromboembólicos (trombose venosa profunda, trombose portal, tromboembolismo pulmonar e acidentes vasculares cerebrais) [38,41]. Leva também ao desenvolvimento de cálculos biliares [38]. Ulcerações dos membros inferiores, particularmente na zona dos tornozelos, secundárias à anemia crónica, são também comuns nestes doentes, principalmente nos mais velhos, e habitualmente muito dolorosas [35,37].

Finalmente, em resultado de um aumento da capacidade de absorção intestinal, os doentes têm também maior risco de sobrecarga de ferro, um problema que os predispõe a fibrose hepática, cirrose e, potencialmente, a carcinomas hepatocelulares [35]. Além disso, disfunções endócrinas (hipogonadismo, hipotireoidismo e diabetes) são descritas mas não são frequentes e o envolvimento cardíaco é normalmente secundário a um alto débito associado a hipertensão pulmonar, estando a função ventricular esquerda preservada [38].

Todas estas manifestações clínicas são usualmente mais frequentes em doentes com talassémia *intermedia* não-dependentes de transfusão do que em doentes com talassémia *major* regularmente transfundidos [37].

A nível laboratorial, os doentes apresentam Hb de 6 a 10g/dL, VCM entre 55 e 70fL e HCM de 15 a 23pg, sendo a percentagem de HbA₂ muito variável entre eles [19].

4.2.2.2.3 β -talassémia *major*

A β -talassémia *major*, também conhecida por anemia de Cooley ou de von Jaksch, é a forma mais grave das β -talassémias [26]. Manifesta-se entre os seis meses e os dois anos de idade [38] e era considerada uma doença fatal a curto prazo, mas os doentes têm visto

aumentar a sua esperança de vida nos últimos anos em virtude dos progressos das terapias transfusionais e de quelação do ferro [35,41].

A sintomatologia inicia-se com a presença de anemia microcítica (VCM: 50-60fL) e hipocrômica (HCM: 14-20pg) grave (Hb: 1-7g/dL) [19,26], baixo crescimento ponderal, irritabilidade, recusa alimentar parcial ou total, sonolência, palidez e icterícia, sendo também descrito o alargamento gradual do abdómen devido à hepatoesplenomegalia [26,38]. Sem tratamento, a doença cursa posteriormente com atraso de crescimento, úlceras dos membros inferiores, desenvolvimento de massas decorrentes da eritropoiese extramedular e deformações esqueléticas por expansão da medula óssea. Estas são muito características e incluem a bosseladura do crânio, uma eminência malar proeminente, depressão do septo nasal, presença de epicanto e hipertrofia mandibular (que tende a expor os dentes superiores) (Figura 7). Nestes casos, a esperança de vida não ultrapassa a segunda ou terceira décadas de vida [38].

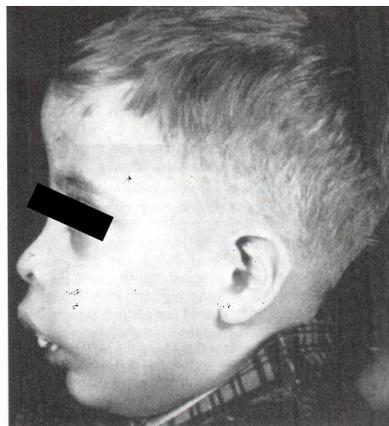


Figura 6: Criança com *facies* talassémico [adaptado de 24]

Quando, ao invés, é instituído um programa de transfusões regulares no primeiro ano de vida e a Hb é mantida entre 9 e 10g/dL, os doentes ultrapassam normalmente os 40 anos. A sobrecarga de ferro, no entanto, pode causar atrasos pubertários e do desenvolvimento, cursando mais tarde com problemas cardíacos (miocardiopatia dilatada e arritmias auriculares e ventriculares), hepáticos (fibrose, cirrose e, quando em conjugação com infecção por VHB

ou VHC, carcinoma hepatocelular) e endócrinos (hipogonadismo, diabetes, hipotireoidismo, hipoparatiroidismo, défices de hormona do crescimento e, menos comumente, da supra-renal). As complicações cardíacas acabam por ser, de facto, a causa de morte de 71% dos doentes com β -talassémia *major*. A osteoporose e um maior risco de eventos tromboembólicos são também descritos [37,38].

4.2.2.3 Diagnóstico Clínico e Laboratorial

Quando um bebé, normalmente de origem étnica sugestiva, desenvolve, entre os 3 e os 6 meses de idade uma anemia microcítica e hipocrômica sem deficiência de ferro, deve suspeitar-se de uma β -talassémia *major*. Se a apresentação for mais tardia e se associar a esplenomegalia, icterícia ou expansão dos ossos do crânio, a suspeita deve recair sobre uma *intermedia* [17].

A realização de um hemograma, de um esfregaço de sangue periférico e de uma técnica diagnóstica de primeira linha (CLAR, electroforese em acetato de celulose ou electroforese capilar) com a quantificação da HbF e da HbA₂ faz parte da abordagem inicial [17].

Frequentemente, a ausência ou muito baixa proporção de HbA, baixas quantidades de HbA₂ e predominância de HbF são os achados característicos da β -talassémia *major*, enquanto na *intermedia* se detecta a presença de HbF e HbA₂ e baixa proporção de HbA [17]. A deficiência de ferro pode normalizar os níveis de HbA₂ (diminui-os até 0,5%), pelo que, em caso de dúvida, deve repetir-se a quantificação após a suplementação com ferro [14,22]. Na grávida, no entanto, a exclusão de hemoglobinopatias não deve ser adiada, pela importância da identificação do risco. [14] A presença de valores muito elevados de HbA₂ ($\geq 10\%$) normalmente indica a co-existência de uma variante de mobilidade electroforética ou cromatográfica semelhante. Os casos mais comuns são a HbE e a HbLepore, clinicamente

relevantes [14,22]. Além disto, e considerando que qualquer valor de HbF acima de 1% deve ser considerado invulgar, deve ter-se em conta que isto pode dever-se a outras situações, como PHHF, diabetes *mellitus* ou gravidez. [22].

A investigação dos pais, para confirmação de heterozigotia de alelos β -talassémicos, é necessária para a confirmação do diagnóstico. Se for encontrada microcitose com HbA₂ alta nos dois, o diagnóstico, consoante a suspeita principal, está praticamente confirmado. Se esta situação se verificar apenas num, tanto amostras dos pais como da criança devem ser submetidas a análise genética [17].

No que concerne os portadores (heterozigotos β^0 , β^+ ou β^{++}), a indicação actual diz que o diagnóstico deve ser excluído quando a HCM é inferior a 27pg e a HbA₂ é de pelo menos 3,5% [14]. No entanto, alguns destes doentes terão valores normais ou *borderline* de um ou de ambos estes parâmetros, pelo que é inevitável falhar o diagnóstico. Ele será eventualmente feito através de análise genética quando, e se, surgir um fenótipo mais grave na família [17].

4.2.2.4 Tratamento e Acompanhamento

Os doentes com β -talassémias *minor* não requerem acompanhamento e os seus índices sanguíneos devem ser encarados como decorrentes da sua condição genética. Suplementação oral com ácido fólico (5mg/dia) pode ser adequada em anemias e o tratamento com ferro só deve ser feito em casos comprovados de ferropenia [19,26]. O aconselhamento genético é importante para o controlo de formas talassémicas agravadas na descendência.

Nas outras formas, como princípios gerais do tratamento, devemos fazer, antes de mais, um diagnóstico preciso, confirmado e caracterizado molecular e clinicamente; realizar um estudo familiar detalhado e assegurar-nos de que a família recebeu informação clara acerca do prognóstico da doença e do potencial risco futuro de descendência afectada, se ainda for esse o caso. Além disso, não se deve estabelecer um programa transfusional regular

sem observar os padrões de crescimento e desenvolvimento, a existência de esplenomegalia e as evidências precoces de deformações esqueléticas (o nível de Hb não deve ser o principal determinante) [26,31]. O seguimento ao longo do tempo incluirá a avaliação dos índices sanguíneos, em conjugação com a idade óssea, as funções cardíaca, endócrina e hepática e a apreciação da sobrecarga de ferro [31].

No caso específico da β -talassémia *intermedia*, um grande aumento da eritropoiese, anemia grave ou Hb inferior a 8g/dL são critérios para realizar transfusão, que devem ser aferidos posteriormente para avaliar a necessidade de um regime mais regular [19]. Tanto esses doentes como os independentes de transfusões devem ser monitorizados de perto, uma vez que ambos acabam por vir a sofrer de complicações associadas com a anemia crónica e a sobrecarga de ferro [26].

A sobrecarga de ferro em doentes com β -talassémia é inevitável porque apenas 1mg de ferro é perdido diariamente pelo nosso organismo e cada mililitro de sangue transfundido contém aproximadamente 1mg de ferro (o que resulta tipicamente num aporte de 200mg de ferro por cada transfusão) [37,42]. Apesar de mais tardia nos doentes sem necessidade de transfusões, a sobrecarga de ferro também ocorre gradualmente pelo aumento da absorção intestinal de ferro [26].

Os valores da ferritina, comumente medida de 6 em 6 meses com o propósito de aferir a sobrecarga de ferro, podem ver a sua interpretação complicada por uma variedade de factores, todos eles comuns em doentes talassémicos – défice de ascorbato, febre, infecção aguda, lesão hepática aguda e crónica, hemólise e eritropoiese ineficaz, por exemplo [31] e, quando são superiores a 500 μ g/dL, deixam de ser bons preditores do risco do doente [26]. Por isso, hoje a avaliação do ferro é também feita através de ressonância magnética (RM) hepática anual, habitualmente desde o início da adolescência, já que a concentração total de ferro no organismo se relaciona bem com a concentração hepática. [26,31].

Valores superiores a 7 miligramas de ferro por grama de fígado, em peso seco (mg/g,p.s.) e 100µg/dL de ferritina justificam início de terapia quelante para prevenir complicações endócrinas (hipogonadismo hipogonadotrófico e diabetes) e cardíacas, assim como disfunção hepática e fibrose portal [19,26,31,42]. A manutenção do ferro entre 3 a 7mg/g,p.s. é considerada óptima [31].

Os agentes quelantes mais utilizados são a deferoxamina, o deferasirox e o deferiprone. O primeiro, pela sua má absorção oral e curta semi-vida, requer administrações subcutâneas ou intravenosas durante 8 a 10 horas por dia, 5 a 7 dias por semana, em associação a 2-3mg/kg/dia de ácido ascórbico no início de cada infusão. O seu uso melhora comprovadamente a sobrevivência dos doentes, prevenindo as complicações cardíacas e endócrinas frequentes, e o controlo da toxicidade inclui avaliações anuais da função auditiva e visual e do crescimento. O segundo, deferasirox, permite uma dose diária única, oral, e por isso é muitas vezes preferido pelos doentes, mas faltam ainda estudos que comprovem o aumento da sobrevivência a longo prazo e a prevenção de complicações. Os efeitos tóxicos mais graves incluem disfunção renal e hepática fatais e hemorragia gastrointestinal em doentes de idade mais avançada e com outras comorbilidades associadas. O seu aparecimento deve ser monitorizado pela aferição mensal dos valores de creatinina, das transaminases e da bilirrubina. O último, o deferiprone, é apenas utilizado em caso de incompatibilidade com a quelação por qualquer um dos outros dois agentes e é administrado 3 vezes por dia, mas também ainda não há estudos que comprovem inequivocamente a sua eficácia [31]. O seu efeito secundário principal é a agranulocitose, em cerca de 1% dos doentes [12].

O controlo da esplenomegalia pode também vir a requerer esplenectomia, que deve ser efectuada apenas em caso de necessidade extrema, com o conhecimento dos riscos associados (infecção e septicemia com alta mortalidade, AVC, TVP e TEP) [36]. Outras complicações frequentes incluem hiperuricemia, colelitíase (que deve ser evitada com colecistectomia, se

houver sintomas ou no mesmo tempo cirúrgico da esplenectomia), hipertensão pulmonar e úlceras cutâneas dos membros inferiores, cujo aparecimento deve ser monitorizado e prevenido [26,35].

Lucarelli et al. (2012) recomendam também que, havendo um dador HLA-compatível, o transplante seja mandatório em doentes talassémicos de classe 1 e 2 e para os de classe 3 com menos de 17 anos. Estas classes são organizadas, respectivamente, pela presença de nenhum, 1 a 2 e 3 factores de risco, sendo eles a hepatomegalia superior a 2cm, a fibrose portal e história de quelação do ferro irregular. Aos adultos deve também ser oferecida esta hipótese de cura, sabendo de antemão que a mortalidade relacionada com o transplante é de 30% [26,43].

Na β -talassémia *major*, os doentes não infectados por CMV são propostos desde o diagnóstico para transplante de CEH's. No entanto, até que ele seja feito, a evolução clínica da criança é o que dita o início do regime de transfusões. O mau crescimento ponderal e o desenvolvimento de deformidades esqueléticas ou faciais, associados a níveis de Hb inferiores a 7mg/dL, são normalmente critérios de benefício transfusional. Factores agravantes da anemia (défices de ácido fólico, doença febril ou hemorragia) devem ser tratados simultaneamente [26]. Os níveis-alvo de Hb pós-transfusão devem estar entre 13 a 13,5g/dL, de modo a obter níveis basais de 9 a 10,5g/dL com transfusões a cada 2 a 4 semanas [19,26]. A monitorização das complicações deve ser especialmente apertada e segue as mesmas linhas orientadoras já referidas [26].

Terapias de indução de HbF, com agentes como a hidroxiureia ou, mais recentemente, a talidomida, têm mostrado resultados tímidos e algo imprevisíveis nos doentes com β -talassémias, sendo para já insuficientes para obter independência de transfusões nos doentes *major*, mas a optimização futura de regimes terapêuticos baseados nestes mecanismos é prometedora para os com talassémia *intermedia* [26,39,40].

4.2.3 Anemia de células falciformes

As síndromes falciformes caracterizam-se pela falciformação dos eritrócitos (aquisição de forma de foice, ou de crescentes alongados), secundária à agregação de uma hemoglobina mutante – a HbS, que tem consequências fisiopatológicas importantes [23,44]. A drepanocitose ($\beta^S\beta^S$), anemia de células falciformes ou doença da HbS, é a forma mais comum [45].

A distribuição mundial do gene β^S foi ao longo dos séculos influenciada pela pressão evolutiva da infecção por *Plasmodium* (heterozigóticos para a mutação têm menos probabilidade de contrair e morrer por malária e não apresentam contagens de parasitas tão altas), pelo comércio de escravos e pelas rotas comerciais. Hoje, o traço falciforme atinge valores de prevalência de 25 a 30% na população da África Oriental e de até 10% em afro-americanos, levando a que, anualmente, mais de 120.000 bebês nasçam com doença [46,47].

A esperança de vida ronda os 45 a 55 anos, em decorrência da lesão orgânica, mesmo que os doentes não tenham frequentemente crises dolorosas ou outras manifestações [44,46,47].

4.2.3.1 Genética e Fisiopatologia

O termo ‘doença de células falciformes’ (DCF) é usado para descrever a condição dos doentes que herdam o alelo β^S em homozigotia ou em estado de heterozigotia composta, não incluindo o estado heterozigótico – o traço falciforme ($\beta^S\beta$ ou HbAS). Abarca condições como a doença da HbSC ($\beta^S\beta^C$), por HbSE ($\beta^S\beta^E$) e as HbS/ β -talassémias ($\beta^S\beta^0$ ou $\beta^S\beta^+$), entre outras [17,46], fora do âmbito deste trabalho.

A globina β^S é o resultado de uma mutação nucleotídica pontual que causa a substituição do ácido glutâmico da posição 6 da cadeia β por valina [45]. Forma com as

globinas α HbS, uma hemoglobina que polimeriza sob determinadas circunstâncias (hipoxia, infecção, desidratação, grande esforço físico e exposição a baixas temperaturas), condicionando hemólise, falciformação, rigidez e adesão endotelial eritrocitária, levando a inflamação, activação plaquetar e vaso-oclusão [45,48].

A polimerização da HbS dá-se devido à interacção dos resíduos da valina com uma região hidrofóbica entre as hélices globínicas E e F que fica exposta quando a hemoglobina está desoxigenada [45,48]. Estudos da cinética deste fenómeno demonstraram ocorrer de forma exponencialmente proporcional à percentagem de HbS existente nas células, ditada pelo número de genes afectados [49].

Em termos fisiopatológicos, a DCF é uma doença da hemoglobina com grandes repercussões vasculo-inflamatórias caracterizada pela lesão da membrana eritrocitária em virtude da falciformação recorrente. Isto acaba por originar desidratação celular e desequilíbrios electrolíticos, aumentando a densidade das células e a probabilidade de polimerização da HbS, num ciclo vicioso. Em última instância, há morte prematura dos eritrócitos (a semi-vida ronda os 16-20 dias), quer por hemólise quer por retenção precoce pelo sistema reticuloendotelial [23,44,49]. A rigidez que adquirem torna-os igualmente incapazes de se deformar na microcirculação, fazendo com que frequentemente ocasionem obstruções do fluxo capilar, levando a hipoxia tecidual e, potencialmente, necrose [23]. A disfunção endotelial (decorrente da lesão celular endotelial e da acção de mediadores inflamatórios), o stresse oxidativo (acentuado pela hemólise intravascular, pelo dano de reperfusão e pelo estado inflamatório crónico) e alterações da produção de NO contribuem para a progressiva disfunção da microvasculatura, que pode afectar órgãos nobres como o cérebro, os pulmões e os rins [50].

4.2.3.2 Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas primordiais da DCF são a anemia hemolítica crónica, episódios dolorosos recorrentes e a lesão aguda e crónica de órgãos – com particular ênfase no cérebro, rins, pulmões, coração e ossos [19,46].

O padrão de doença varia entre as síndromes (até entre o mesmo genótipo) e a gravidade dos sintomas é directamente influenciada pela percentagem de HbS existente nas células [23,33,46]. Indivíduos com drepanocitose ($\beta^S\beta^S$) têm entre 55 a 90% de HbS, enquanto doentes com traço falciforme ($\beta^S\beta$) têm valores que rondam 35 a 40% [19]. A gravidade clínica é também modulada pela co-herança de uma série de factores modificadores de doença, que incluem α -talassémias – que diminuem a HCM – ou mutações de PHHF, por exemplo [23,33,46,47,51].

Apesar das mutações distintamente diferentes, a DCF e as talassémias partilham algumas manifestações clínicas comuns, associadas à vasculopatia crónica [52].

Os sintomas iniciam-se habitualmente no segundo semestre de vida, um período em que a mortalidade é significativa se não existir um diagnóstico que permita a tomada de medidas profiláticas necessárias à sobrevivência, que incluem vacinação contra pneumococcus e penicilina regular, assim como educação da família para o reconhecimento precoce das complicações mais importantes [47].

Entre as 8 e as 10 semanas pode, no entanto, já haver níveis perigosos de HbS em circulação, tornando possível desde esta altura a ocorrência de complicações potencialmente fatais [45,47]. Elas incluem o sequestro esplénico, a septicemia e a síndrome torácica aguda – um termo usado para caracterizar um quadro clínico composto por dor torácica, tosse, dispneia, hipoxia, febre, taquipneia e infiltrados pulmonares *de novo* que é uma das principais causas de morte nestes doentes, principalmente depois dos 2 anos [44,45,47].

A dactilite é também comum a partir das 10 a 12 semanas e advém da necrose avascular da medula óssea dos dedos dos membros. Resolve normalmente ao fim de 5 a 7 dias com terapêutica analgésica simples, mas recidiva frequentemente, o que pode, numa minoria de doentes, condicionar a fusão prematura das cartilagens de crescimento e o desenvolvimento ósseo local. Depois dos 5 anos, é uma complicação rara. História importante de dactilites deixa antever um curso clínico agravado [44,45,47].

O enfarte ou sequestro esplênico é mais comum no segundo semestre de vida, mas pode ocorrer a partir dos 3 meses de idade. Cerca de dois terços dos casos acontecem antes dos 2 anos e são raros os que ocorrem depois dos 6 [47].

AVC's, secundários em muitos casos a estenoses dos vasos cerebrais, são também complicações frequentes nos primeiros anos de vida – 11% aos 20 anos, ocorrendo a partir dos 6 anos com uma taxa de recorrência de 50 a 70% aos 3 anos [45,47,53]. O hipersplenismo (caracterizado por esplenomegalia persistente, sequestro de glóbulos vermelhos e expansão medular) ocorre também a partir desta idade e, sem tratamento, é uma importante causa de mortalidade pela susceptibilidade à infecção que confere [45,47]. O mesmo se aplica à infecção por parvovírus B19, que conduz a crises aplásicas e que, devido à reduzida semi-vida eritrocitária destes doentes, origina anemias súbitas e graves, sendo uma importante causa de morte evitável entre os 2 e os 10 anos de idade [47].

Pelo fim da infância e ao longo da adolescência, problemas como ulcerações dos membros inferiores, priapismo, enurese, retinopatia, crises de dor óssea e necroses avasculares da cabeça femoral e de outros ossos (coluna, bacia e ossos longos particularmente) vêem a sua incidência aumentar [44,47]. Défices de crescimento e atraso pubertário são característicos da doença. Os episódios de dor óssea (com edema e componente inflamatória importante), que afectam especialmente homens, constituem o motivo de mais de 90% das admissões hospitalares em alguns países [45,47]. Deixam de ser tão graves e tão

frequentes por volta dos 25 a 30 anos. Por essa mesma altura, contudo, verifica-se um novo pico na ocorrência de AVC's – desta vez maioritariamente hemorrágicos, associados a mau prognóstico e alta mortalidade [44,47].

No decorrer da vida adulta, a fibrose e hipertensão pulmonar progressivas, a insuficiência cardíaca congestiva (condicionada pela hipertrofia e fibrose ventricular) e o declínio gradual dos níveis de Hb (acentuado pela diminuição da função renal), acabam por ditar a recorrência de episódios vaso-oclusivos, com grandes repercussões multi-orgânicas, conduzindo a uma morte precoce [47].

4.2.3.3 Diagnóstico Clínico e Laboratorial

A existência de programas de rastreio neonatal para hemoglobinopatias em alguns países tem diminuído a necessidade de diagnosticar DCF aquando das manifestações clínicas, mas é ainda comum que assim seja [17]. Sem ser nessas duas ocasiões, a HbS pode ser detectada fortuitamente num teste de rotina pré-operatória [44].

O diagnóstico básico é feito com a histórica clínica (a boa caracterização da sintomatologia, incluindo os antecedentes familiares e a origem étnica), os dados do exame físico, um hemograma com leucograma e contagem de plaquetas, um esfregaço de sangue periférico e um teste de falciformação (que detecta a presença de HbS tanto na DCF como no traço falciforme, mas que não deve ser efectuado antes dos 6 meses por a HbF poder originar falsos positivos) [17].

O mais comum é haver uma anemia (6 a 9g/dL) normocrómica com VCM normal a alto e reticulocitose de 3 a 15%. Há indicadores de hemólise (hiperbilirrubinemia não conjugada e LDH aumentada) e no esfregaço abundantes células falciformes, entre outras possíveis alterações. O número de glóbulos brancos e de plaquetas está normalmente

aumentado, particularmente em doentes com menos de 10 e 18 anos, respectivamente [19,44,46].

A confirmação do diagnóstico obriga à realização de uma CLAR, de uma electroforese capilar ou de uma electroforese em pH alcalino para que se comprove a existência de HbS e se obtenha uma estimativa da sua proporção. Se se verificar a presença de uma hemoglobina mutante com mais mutações do que a da HbS ou a heterozigotia composta com outra variante, mais testes, da área da genética molecular, serão necessários [17].

Se o diagnóstico se confirma, a avaliação dos órgãos em risco é recomendada [46].

4.2.3.4 Tratamento e Acompanhamento

Os pilares do tratamento da DCF são a prevenção – quer de crises sintomáticas e suas complicações quer das lesões orgânicas progressivas – e o eficaz tratamento sintomático, particularmente dos episódios dolorosos [45,46].

Os programas de rastreio já existentes em alguns países permitiram reduzir significativamente as mortes infantis devido às complicações precoces da DCF. Uma gota de sangue é o suficiente para realizar o rastreio [17,53].

O primeiro passo é, em decorrência disso, o diagnóstico, que deve ser feito idealmente no período neonatal para permitir a tomada de medidas profiláticas adequadas à prevenção da septicemia – imunização contra pneumococcus (aos 2, 4 e 6 meses; com reforço aos 2 e aos 5 a 7 anos) e terapêutica antibiótica regular (125mg de penicilina oral, duas vezes por dia, desde os 3 a 4 meses; aumentando para 250mg aos 3 anos; e interrompendo-se depois da última imunização contra pneumococcus, por não se demonstrar benefício na continuação deste regime) [53].

Depois de estabelecido o diagnóstico, a educação da família é fulcral para a sobrevivência do indivíduo afectado. Inicialmente, a informação dada pelo médico deve

permitir aos pais ou a outros membros da família, tendo em conta o seu nível de educação e literacia, perceber o básico sobre a doença, a sua genética e as complicações que dela derivam. A importância do acompanhamento médico deve ser bem realçada.

Posteriormente, ensinar a palpar frequentemente o baço e a reconhecer sinais e sintomas de sequestro esplénico (palidez, irritabilidade e esplenomegalia), de AVC, de crises vaso-oclusivas, e/ou dolorosas, pode levar à identificação precoce dessas complicações, ajudando a intervenções médicas mais atempadas e eficazes. A família deve ser encorajada a procurar ajuda médica rapidamente nessas ocasiões [53].

O tratamento da dor ligeira, contudo, com hidratação oral, aplicação de calor local e toma de paracetamol ou ibuprofeno (10mg/kg ou 800mg em adultos a cada 6-8h), se executado pela família, previne idas desnecessárias ao hospital ou centro de saúde [53,54]. A família deve ser alertada para os perigos da aplicação de gelo nos focos de dor, que agravam a falciformação e a própria dor; e proibida de utilizar antipiréticos em caso de doença febril, para não encobrir infecções potencialmente graves.

Temperatura superior a 38,5°C é uma emergência médica em doentes com DCF e deve levar à realização de um exame físico completo, com avaliação de sinais vitais, palpação esplénica, hemocultura, análises da urina, hemograma com contagem de reticulócitos e, se houver queixas que o justifiquem, uma radiografia torácica. Antibioterapia de largo espectro (tipicamente o ceftriaxone endovenoso) deve ser imediatamente administrada [53].

A monitorização do risco de AVC pode ser feita com ecografias anuais a partir dos 2 anos, por se associarem a fluxos aumentados no Doppler transcraniano. Transfusões crónicas a cada 3 a 4 semanas para manter níveis de HbS à volta dos 30% e de Hb de 10g/dL podem ser instituídas profilacticamente nas crianças de alto risco ou a partir de um primeiro evento, não devendo mais ser descontinuadas, por acarretarem risco de recorrência [44,53]. A sobrecarga de ferro e a alo-imunização são efeitos secundários substanciais [53,55].

No tratamento agudo destes eventos, o restabelecimento da circulação sanguínea é a prioridade e nunca deve estar dependente de confirmação imagiológica. Pode ser conseguido com hidratação endovenosa e transfusão simples de glóbulos vermelhos. Quando disponível, a transfusão permuta (transfusão e venosecção simultâneas, para evitar o aumento do hematócrito) é recomendada pois associa-se também a menor risco de recorrência e evita a sobrecarga de ferro [53–55].

O sequestro esplênico pode ser tratado agudamente com transfusão, mas isso não impede a recorrência, pelo que os benefícios e os riscos da esplenectomia devem ser contrapostos e avaliados. Normalmente, depois de um episódio grave ou de vários recorrentes, recomenda-se a cirurgia, conquanto tenha sido concluída a imunização pneumocócica. Os doentes permanecerão em regime de antibioterapia profiláctica para toda a vida [53].

Os doentes jovens devem chegar à idade adulta com conhecimento e capacidades suficientes para conseguirem ser independentes e evitarem a mortalidade associada à transição do acompanhamento pediátrico para o adulto [17,53].

Ao longo da vida adulta, as crises dolorosas levarão muitos doentes a procurar ajuda médica. O tratamento com corticosteróides pode reduzir a duração dos episódios de dor, mas está associado a maior recorrência de crises, pelo que devem ser usados com precaução [53,56]. Se a hidratação e a analgesia opióide oral (com tramadol ou outro) são incapazes de controlar a dor do doente, hidratação e terapia opióide endovenosas (com morfina, por exemplo) devem ser iniciadas [53].

As síndromes torácicas agudas são de difícil diagnóstico, devido às dores recorrentes que os doentes podem ter em ossos como o esterno ou as costelas. No entanto, o seu controlo com hidratação endovenosa, oxigenoterapia, treino inspiratório e, em último recurso, transfusão (utilizada em caso de grande deterioração clínica, com Hb mais de 2g/dL abaixo do

nível basal e saturação de O₂ inferior a 85%), pode ser conseguido. Ensaios clínicos utilizando NO inalado decorrem de momento [53,54].

Além destes aspectos, a monitorização de complicações decorrentes da sobrecarga transfusional de ferro – que podem exigir terapia de quelação – e do aparecimento de úlceras nos membros inferiores deve ser apertada. Devem ser estabelecidos valores basais individuais de oximetria de pulso, de pressão arterial e de creatinina, já que, como são habitualmente mais baixos do que os normais para a idade, isto facilitará a identificação de situações de hipoxemia, hipertensão ou disfunção renal (a avaliação de microalbuminúria é também utilizada). Rastreios ecocardiográficos (para avaliar a regurgitação tricúspide e o desenvolvimento de hipertensão pulmonar) [53,54] e oftalmológicos (pelo risco de retinopatia) periódicos devem também ser realizados [53].

De todas estas modalidades terapêuticas pontuais, a mais consensual e eficaz cronicamente é o uso de hidroxiureia, ou hidroxycarbamida – um agente farmacológico que aumenta a proporção de HbF (o mais importante factor modificador de doença, melhorando significativamente o fenótipo clínico), melhora a hidratação dos eritrócitos, reduz as contagens plaquetares e leucocitárias e comprovou ter efeitos sobre a mortalidade dos doentes através da diminuição das necessidades de transfusão e do número de crises dolorosas e de síndromes torácicas agudas [44,45,53]. A sua segurança e capacidade de reduzir a lesão de órgãos a longo prazo fazem com que cada vez mais pediatras e hematologistas recomendem o seu uso no tratamento da DCF, independentemente da idade ou curso clínico dos doentes [53].

A dose inicial ronda os 20mg/kg/dia, em toma diária única, por via oral, havendo lugar a aumentos de 5mg/kg a cada 8 semanas até que índices ligeiros de neutropenia ($1500-3000 \times 10^6/L$) e reticulocitopenia ($100-150 \times 10^9/L$) sejam atingidos. A toxicidade, definida por neutropenia (neutrófilos inferiores a $1,0 \times 10^9/L$), Hb inferior a 7g/dL e contagens

de reticulócitos e plaquetas inferiores a $80 \times 10^9/L$, deve ser controlada com hemograma a cada 4 semanas [53].

O transplante alogénico de CEH's é a única modalidade curativa da DCF. Até ao momento, foram realizados aproximadamente 250 em todo o mundo, principalmente devido à ausência de critérios definidos para a transplantação, com taxas de mortalidade inferiores a 5% [43,44,57]. Doentes com anemia grave, história de AVC, fraca resposta à hidroxiureia, alo-imunização a antígenos eritrocitários, entre outros, são candidatos preferenciais [57], mas espera-se poder oferecer a curto prazo esta opção terapêutica a todos os que possuam doadores com compatibilidade HLA [43].

A recomendação de Lucarelli et al. (2012) é mesmo a de oferecer o transplante a todos os doentes com menos de 17 anos, antes das complicações major da doença se instalarem, utilizando, por exemplo, um protocolo não-ablativo, menos agressivo [43].

O transplante com células do cordão umbilical tem sido também utilizado recentemente, com bons resultados e menor incidência e gravidade de doença do “enxerto-contra-hospedeiro”, sendo, sob condições ótimas, uma hipótese de tratamento curativo tão boa como o transplante medular [57].

4.2.4 Outras variantes

Além das doenças já descritas, existem ainda algumas variantes hemoglobínicas dignas de menção neste trabalho. Salientam-se pela importância que têm em contexto clínico, por poderem ser despoletadas de forma aguda por exposição a fármacos ou toxinas, pela heterogeneidade e complexidade que conferem às síndromes que as acompanham – e até aos já descritos, quando herdadas em conjunto – e porque nos permitiram ao longo do tempo obter uma visão mais abrangente do impacto funcional das mutações da hemoglobina.

4.2.4.1 Hemoglobinas instáveis

Algumas hemoglobinas possuem uma solubilidade diminuída em função de mutações que, de uma forma ou outra, modificam a ligação ao grupo heme. Os mecanismos através dos quais isso acontece envolvem, na maioria das mais de 100 variantes descritas, a alteração das interações hidrofóbicas com o grupo heme ou a ruptura das pontes de hidrogénio que mantêm o tetrâmero hemoglobínico unido [23,58]. São herdadas normalmente como traços autossómicos dominantes e parece existir grande taxa de mutações *de novo*. Cerca de 75% de todas as que hoje estão descritas são variantes β [58].

Na base da hemólise presente nestes doentes está a formação de corpos de Heinz, originada pela precipitação de globinas, fragmentos delas e grupos heme em virtude da instabilidade hemoglobínica. Estas inclusões intracelulares reduzem a semi-vida eritrocitária através da interação com a membrana, reduzindo a deformabilidade das células, o que culmina na sua retenção pelo sistema reticuloendotelial e desencadeia, posteriormente, hemólise [23,58].

A propensão destas variantes para hemólise e para a formação de corpos de Heinz varia consoante a hemoglobina presente, podendo estas manifestações só ser aparentes quando existe infecção, febre ou ingestão de agentes oxidantes (fármacos, por exemplo) associadas – situações que aumentam o stresse oxidativo celular – ou constituírem síndromes hemolíticas graves à nascença. Nos casos graves, os doentes desenvolvem anemia com reticulocitose, hepatoesplenomegalia, icterícia, úlceras nos membros inferiores e têm ainda maior predisposição para doença prematura das vias biliares, podendo mesmo necessitar de transfusões em episódios hemolíticos mais graves. A esplenectomia é uma solução de último recurso [58].

O diagnóstico está dependente da identificação da variante e da demonstração da sua tendência para precipitar mais facilmente que a hemoglobina normal. Isto é conseguido

submetendo as amostras sanguíneas a um teste de instabilidade por calor (aquecendo uma solução de hemoglobina até 50°C durante uma hora, as variantes instáveis precipitam, podendo ser visualizadas microscopicamente), a um teste de instabilidade com isopropanol (numa solução com 17% de isopropanol, as hemoglobinas instáveis precipitam mais rapidamente que o normal) e a um teste com o azul de metileno ou azul de cresil brilhante (estes corantes são a única forma de evidenciar morfológicamente a existência de agregados de hemoglobina nos eritrócitos). Deve também realizar-se uma electroforese da hemoglobina mas deve ter-se em conta que muitas variantes instáveis ou com afinidade alterada pelo oxigénio não apresentam alterações na carga eléctrica, podendo não ser detectáveis por este método. A variante instável mais comum, a HbKöln, é um exemplo disto. O mesmo se aplica aos testes com o azul de metileno e o azul de cresil brilhante que, em doentes com variantes de pouca relevância clínica, podem não conseguir demonstrar a existência de corpos de Heinz devido à capacidade do baço de os remover eficientemente [58].

Em suma, devido à grande variação existente entre as diferentes hemoglobinas instáveis (algumas variantes apresentam, além de instabilidade, afinidade alterada pelo oxigénio; mobilidade electroforética normal, que dificulta o diagnóstico; e algumas são tão instáveis que nunca chegam a poder ser detectadas, dando origem a fenótipos talassémicos) a correlação com a clínica não é linear e deve ser feita cautelosamente.

4.2.4.2 Hemoglobinas com alta afinidade pelo oxigénio

As mais de 25 variantes hemoglobínicas com uma afinidade pelo oxigénio aumentada resultam comumente de substituições de aminoácidos que aumentam a estabilidade da forma R da hemoglobina em relação à T e/ou diminuem a resposta aos moduladores alostéricos da afinidade pelo oxigénio, como o H⁺ ou 2,3-BPG [1,23].

Os doentes apresentam eritrocitose em virtude do estímulo eritropoiético que a diminuição da quantidade de oxigénio que chega às células despoleta. No entanto, ao contrário da eritrocitose motivada pela exposição a grandes altitudes ou por hipoxemia cardíaca ou pulmonar, os doentes com variantes de alta afinidade têm tensões arteriais de oxigénio normais [23].

Os indivíduos portadores destas variantes têm níveis de hemoglobina normais e não possuem qualquer manifestação clínica além de uma cor da pele escurecida [23]. Nos casos mais extremos, o hematócrito pode atingir níveis entre 60 e 65%, requerendo flebotomias terapêuticas, mas a quase totalidade dos doentes não necessita de acompanhamento [58].

Cerca de metade das variantes podem ser detectadas através de uma electroforese da hemoglobina, mas o diagnóstico definitivo apenas é estabelecido com a análise do perfil de saturação da hemoglobina (determinação do valor de P_{50}) e a demonstração de uma maior afinidade pelo oxigénio (valor mais baixo que o normal) [23,58].

4.2.4.3 Hemoglobinas com baixa afinidade pelo oxigénio

As variantes com baixa afinidade pelo oxigénio surgem por mutações que afectam a ligação Hb-O₂ ou reduzem a cooperatividade entre as globinas (alterando, em muitos casos, aminoácidos da interface $\alpha_1\beta_2$), fazendo com que haja maior tendência para a forma T da hemoglobina [1,58].

Curiosamente, a maioria destas hemoglobinas possui afinidade suficiente para ficar totalmente saturada no pulmão, mas com as baixas pO₂ capilares, manifestam uma capacidade anormal de se dessaturarem. Deste modo, acabam por libertar mais oxigénio que as variantes normais para os tecidos. Deste facto advêm duas consequências principais: as necessidades dos tecidos são atingidas com níveis de hematócrito mais baixos que o normal, produzindo um estado de ‘pseudoanemia’ em que o nível do hematócrito é enganador e não se

correlaciona correctamente com o oxigénio que chega aos tecidos nem com o estado clínico do doente; e a quantidade de hemoglobina dessaturada em circulação atinge valores muito elevados (podendo ultrapassar 5g/dL), conferindo ao doente um aspecto cianótico – também enganador, uma vez que não reflecte qualquer tipo de morbilidade [58].

O diagnóstico deve ser averiguado da mesma forma que para as variantes com alta afinidade, confirmando-se com a demonstração de um desvio para a direita na curva de dissociação do oxigénio e um valor de P_{50} maior que o normal [58].

Em suma, os doentes com este tipo de hemoglobinas têm um aspecto marcadamente cianótico, ainda que clinicamente sejam assintomáticos. Por este motivo, não requerem qualquer tratamento. A cianose pode, no entanto, para alguns, constituir um problema estético importante [1,58].

4.2.4.4 Metahemoglobinemias

O termo metahemoglobinemia corresponde à presença no sangue de grande quantidade de metahemoglobina – hemoglobina resultante da oxidação do ferro do estado ferroso (Fe^{2+}) para o estado férrico (Fe^{3+}) [58]. Esta é intrinsecamente instável, tendo tendência para libertar o grupo heme [1], e apresenta uma curva de dissociação do oxigénio marcadamente desviada para a esquerda [58], motivos pelos quais, em condições fisiológicas, é mantida a níveis inferiores a 1% do total de hemoglobina pela acção da metahemoglobina redutase (variação entre 0 a 3%) [58]. Estão descritas até à data 9 variantes hemoglobínicas que levam a metahemoglobinemia.

A formação de metahemoglobina pode ocorrer de três formas: através de mutações nas cadeias globínicas que condicionam maior formação de metHb; por deficiências, determinadas geneticamente, do sistema da metHb redutase; ou de forma tóxica, através da

exposição ambiental a drogas ou toxinas que oxidam o ferro para além da capacidade dos sistemas enzimáticos de a reverter [1,58].

As alterações das cadeias surgem classicamente com mutações de aminoácidos da bolsa do heme. O paradigma é a substituição da histidina proximal ou distal, em qualquer das cadeias, por tirosina, que altera a conformação da proteína (aumenta a distância do heme à hélice F, assemelhando-se à forma T, o que afecta a cooperatividade da molécula), a afinidade pelo oxigénio (através da rápida oxidação do ferro induzida pela tirosina) e dificulta ou impossibilita a acção da metHb redutase (pela mudança estrutural induzida pelo novo aminoácido) [1,58]. A deficiência congénita dos sistemas da metHb redutase, de dois tipos – tipo I apenas com cianose e tipo II com cianose e atraso mental grave – é muito rara [58]. As formas tóxicas constituem hemoglobinopatias agudas, pelo que não fazem parte do âmbito deste trabalho.

Devido à cor acastanhada característica (que não reverte para vermelho com a exposição ao oxigénio) que a metHb apresenta, os doentes parecem cianóticos. No entanto, os valores arteriais de pO_2 são usualmente normais. Por isto, a avaliação laboratorial de metahemoglobinemias deve ser feita sempre que um doente se apresente com uma cianose atípica ou possua valores gasométricos normais e cianose. A cor característica do sangue aquando da recolha deve também levantar a suspeita da doença [58].

A confirmação do diagnóstico é feita através da análise espectrofotométrica da amostra, sendo que a metHb apresenta picos de absorção característicos nos 630 e nos 502nm, distinguindo-se facilmente da Hb normal, e também através da electroforese da hemoglobina, uma vez que, frequentemente, as variantes apresentam mobilidade electroforética alterada. De notar que, nestes doentes, pelo referido, a oximetria de pulso, que utiliza princípios de espectrofotometria para calcular a saturação em O_2 do sangue, é imprecisa [58].

A restante sintomatologia correlaciona-se directamente com os níveis de metahemoglobina presentes e, normalmente, só se torna aparente quando os níveis de metHb atingem valores entre 30 a 50% da hemoglobina total, o que é raro, a não ser que haja sobreposição de metahemoglobinemia tóxica aguda à do doente. Nessas alturas, o sangue é acastanhado e os doentes relatam dispneia, dores de cabeça, astenia, palpitações, alguma confusão e agitação. Com níveis até 70%, pode haver disritmias, alterações marcadas do estado mental, convulsões e coma, podendo culminar em morte [58,59]. O tratamento de emergência é feito com azul de metileno intravenoso infundido rapidamente (em 3 a 5 minutos), excepto nos doentes com deficiência de glucose-6-fosfato desidrogenase nos quais é ineficaz, podendo ser necessária transfusão em casos mais graves [58].

Os doentes são, além destas ocasiões, assintomáticos, não exigindo acompanhamento. A cor acastanhada da pele constitui para alguns um problema estético importante mas, a não ser nos doentes com deficiências da metHb redutase, em que o azul de metileno, a riboflavina e o ácido ascórbico produzem melhoras, ela é irreversível [58].

4.2.4.5 Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF)

A Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal é uma condição benigna e assintomática clinicamente [60] frequentemente enquadrada no grupo das $\delta\beta$ -talassémias pelo aumento persistente da expressão de globina γ que a define [23].

Estão documentadas mais de 70 mutações que conduzem a PHHF e todas elas influenciam de forma variável os níveis de HbF do indivíduo [61], podendo mesmo atingir 100% em portadores homozigóticos [24]. A maioria consiste em deleções do *locus* β [62], que parecem aproximar sequências amplificadoras dos genes γ , que permanecem intactos [24], e em mutações pontuais dos promotores da globina γ que aumentam a sua expressão [62]. A deleção dos promotores dos genes das cadeias β e δ ou mutações que alteram os

locais de ligação das proteínas que reprimem a expressão do gene γ podem também ter um papel a desempenhar [12].

Pode ser dividida em duas formas principais – uma caracterizada por níveis muito altos de HbF e distribuição eritrocitária uniforme, designada PHHF pancelular; e outra associada a um aumento, determinado geneticamente, do número de células F, designada PHHF heterocelular [24,37].

A relevância desta condição prende-se, sobretudo, com o efeito benéfico que tem quando herdada em conjunto com β -talassémias ou DCF. Nesse contexto, associa-se a melhorias significativas dos quadros clínicos, sendo um dos mais importantes factores modificadores de doença destas patologias [5,62].

O estudo das alterações genéticas dos doentes com PHHF tem servido várias linhas de investigação, na tentativa de descortinar novas modalidades terapêuticas revertendo o silenciamento dos genes γ em doentes com hemoglobinopatias [39,63].

4.2.4.6 Variantes Estruturais Talassémicas

Algumas variantes hemoglobínicas, que dão origem a distúrbios conhecidos por hemoglobinopatias talassémicas ou talassémias atípicas, caracterizam-se pela conjugação de um defeito quantitativo da sua síntese com alterações estruturais. Tal é o caso da HbLepore ($\alpha_2\delta\beta$), da HbE ($\alpha_2\beta_2^{26\text{Glu}\rightarrow\text{Lys}}$) e da Hb Constant Spring ($\alpha^{\text{CS}}_2\beta_2$), já referida anteriormente.

A Hemoglobina Lepore é o paradigma do resultado de mutações que levam à fusão de globinas, associando-se também a baixa taxa de síntese (cerca de 2,5% em relação à expressão dos genes β), presumivelmente por estar sob o controlo do promotor do gene δ . O seu comportamento fenotípico pode ser comparado com o de uma variante β -talassémica grave, dando origem a uma heterogeneidade de fenótipos que vão desde a talassémia *minor* até às talassémias mais graves, distinguindo-se pela presença de 5 a 15% de HbLepore. A sua

presença é normalmente suspeitada quando doentes com anemia microcítica e hipocrômica apresentam na electroforese uma pequena banda de hemoglobina a migrar na posição da HbS [24].

A Hemoglobina E resulta da substituição de um ácido glutâmico por uma lisina na posição 26 da globina β . A mutação resulta também numa síntese diminuída, devido à activação de um local de *splicing* do ARNm, e em moderada instabilidade em situações de stresse oxidativo, em função de uma interacção α/β mais fraca. É um dos alelos hemoglobínicos mutantes mais comuns e importantes, em grande parte devido à sua elevada frequência no Sudeste Asiático [24,64]. A heterozigotia e a homozigotia para esta variante têm cursos clínicos moderados, mas a combinação com genes HbS ou β -talassémicos vem a constituir síndromes de grande importância clínica e variabilidade fenotípica [34,64]. Estudos recentes indicam que doentes com HbE/ β -talassémia têm, entre outras coisas, mais propensão a desenvolver infecções, hipertensão pulmonar e eventos tromboembólicos secundários a estados hipercoaguláveis pós-esplenectomia do que doentes com β -talassémia homozigótica [24,34,64].

5 Perspectivas futuras

O desenvolvimento de fármacos para aumentar a proporção de HbF tem sido a base da estratégia terapêutica consensual para as principais hemoglobinopatias – talassémias e DCF. No entanto, apenas a hidroxiureia mostrou benefícios claros a longo prazo e, recentemente, novos agentes, que exercem a sua acção em múltiplas vias causadoras de lesão vascular nas doenças da hemoglobina, têm vindo a ser desenvolvidos. A maior compreensão dos mecanismos fisiopatológicos destas doenças têm também ajudado a um melhor planeamento dos ensaios clínicos e, por isso, as perspectivas de conseguir melhorias terapêuticas num

futuro próximo são bastante boas [52]. A Tabela 3 sumariza alguns dos agentes terapêuticos em estudo actualmente.

Também no que toca às abordagens terapêuticas invasivas, o panorama tem sofrido alterações. A terapia génica e os transplantes são hoje muito prometedores, mas a sua aplicação está ainda limitada a uma minoria de doentes, seleccionados segundo parâmetros clínicos, biológicos, genéticos e económicos [66].

A transferência de genes, particularmente *in vitro*, foi significativamente aperfeiçoada ao longo das últimas duas décadas e demonstrou ser eficaz na reversão de DCF e β -talassémia em modelos animais, ainda que apenas com um conjunto muito limitado de mutações [67], o que levou a que em 2007 se iniciasse o primeiro ensaio clínico com um lentivírus para tratar doentes com β -talassémia [12]. Ainda assim, factores como a heterogeneidade genética entre síndromes, a aferição do nível de hemoglobina transgénica necessária para a melhoria fenotípica de cada doente, a optimização do número de cópias do vector e os potenciais riscos de toxicidade génica e oncogenicidade associados à integração aleatória do novo genoma e à baixa homogeneidade do processo de transferência fazem crescer a complexidade do procedimento. A adopção de vectores não-virais foi um dos métodos adoptados na tentativa de contornar alguns desses obstáculos, mas a baixa taxa de transferência génica e as dificuldades na manutenção da expressão deles a longo prazo constituem hoje problemas desafiantes para a comunidade científica [67]. A solução envolve o desenvolvimento futuro de vectores virais mais seguros [12].

Os transplantes alogénicos de CEH's, embora ainda relativamente restritos e com protocolos bastante diferenciados e selectivos, são portanto, de momento a única opção curativa para os doentes com talassémias graves e DCF, tendo alcançado taxas de sucesso bastante boas, maiores em crianças do que em adultos. Complicações pós-transplante, como a rejeição e a doença do "enxerto-contra-hospedeiro", constituem o principal risco destas

modalidades terapêuticas e deverão ser cada vez menos frequentes com a otimização dos protocolos face à estratificação do risco dos doentes [43].

A parca disponibilidade de dadores compatíveis levou à procura de fontes alternativas de células e assim surgiram também os transplantes alogénicos de células do cordão umbilical (TCC). O TCC de dadores relacionados com o doente tem resultados próximos dos transplantes de medula, com aproximadamente 90% dos doentes a sobreviver sem doença, embora a mortalidade seja mais significativa nos TCC de dadores não relacionados. A principal limitação à sua adopção generalizada é hoje a necessidade de melhor compreender os mecanismos de acção e os protocolos óptimos de manutenção do enxerto a longo prazo com o mínimo de mortalidade e morbilidade, evitando a rejeição – a principal complicação. São necessários, por isso, mais estudos prospectivos nesta matéria [68].

O uso de células estaminais pluripotentes induzidas (iPSC's) é também uma técnica de relevo mas falta ainda ultrapassar desafios como o custo proibitivo, a re-diferenciação em CEH's ou em glóbulos vermelhos e a capacidade de gerar e manter até a um potencial transplante um número suficiente de células. Estamos ainda longe de um eventual tratamento destas doenças com células deste tipo [12,69].

No fim de tudo, cabe ao clínico pesar os benefícios do transplante e os riscos de manter o doente num regime de suporte convencional [68].

Não existem hoje dúvidas, no entanto, de que, devido às transições epidemiológicas e demográficas que estão a ocorrer nos países com maior frequência de portadores [70], ligadas à diminuição das mortalidades infantis devido a causas nutricionais e infecciosas e à melhoria das condições de saúde pública [3,18], o peso das hemoglobinopatias nos recursos de saúde globais irá aumentar no próximo século [3,12,18,70]. Torna-se, por isso, urgente obter informação precisa e detalhada sobre a sua real distribuição e frequência actuais; compreender melhor a influência da base genética e dos factores ambientais que condicionam a grande

heterogeneidade fenotípica; e sensibilizar as populações, os governos e as entidades de saúde para a importância da doença genética e das hemoglobinopatias em específico, de modo a poder instituir programas de aconselhamento genético, diagnóstico, tratamento e acompanhamento destas doenças mais capazes, mais eficientes e de maior impacto [12,70].

A investigação científica nesta área deverá permitir grandes avanços no futuro, quer na compreensão dos mecanismos fisiopatológicos e da relação entre a genética e o fenótipo dos doentes, quer no desenvolvimento de métodos inovadores de tratamento sintomático, e curativo, destas patologias [43,67–69].

Tabela 3: Novos agentes terapêuticos em hemoglobinopatias [adaptado de 52,65]

CATEGORIA	AGENTE TERAPÊUTICO	MECANISMO DE ACÇÃO
ADESÃO ENDOTELIAL	GMI-1070	Inibidor das selectinas que diminui a adesão de neutrófilos
	Fondaparinux (heparina polisulfato-pentose)	Diminui a adesão das células falciformes induzida pela P-selectina e pela VCAM
	Eptifibatide	Inibidor α_{IIb}/β_3 ; diminui a activação plaquetar e aumenta a vasodilatação
	Prasugrel	Antagonista do receptor de ADP que diminui a activação plaquetar
	Propranolol	Agonista dos receptores β -adrenérgicos; diminui a adesão às células endoteliais
INFLAMAÇÃO	Regadenoson	Agonista $A_{2A}R$ que diminui a activação de células iNKT
	Estatinas	Diminuem a inflamação e melhoram a função endotelial
	Zileuton	Inibidor da 5-lipooxigenase usado na asma que diminui a inflamação
	MP4CO	Hb conjugada com polietileno glicol e saturada com CO que diminui a inflamação e o dano causado por reperfusão
NO (ÓXIDO NÍTRICO)	L-arginina	Substrato do NO que aumenta a sua síntese
	Tetrahydrobiopterina (R-BH4)	Cofactor essencial à produção de NO
	Nitritos, niacina	Dadores de NO
LESÃO OXIDATIVA	Glutamina	Substrato do glutamato que aumenta a síntese de NADPH e NO e diminui a adesão celular
	Ácido alfa-lipóico	Aumenta a síntese de NF-kB e de glutathiona
	Acetil-L-carnitina	Diminui a peroxidação lipídica
	N-acetilcisteína	Diminui a exposição de fosfatidilserina e aumenta a glutathiona
	Ácidos gordos ómega-3	Ação anti-trombótica e anti-inflamatória
	Curcuminóides	Diminui o ferro não ligado a transferrina e a peroxidação lipídica
ERITROPOIESE	Transferrina	Melhora a eritropoiese e a regulação da hepcidina
	Inibidores JAK-2	Diminuem a eritropoiese ineficaz
METABOLISMO DO FERRO	Agonista da Hepcidina	Diminuem a absorção de ferro e melhoram a eritropoiese
	Antagonista da Hepcidina	Aumenta a absorção de ferro e melhora a anemia induzida por processo inflamatório
MODIFICADORES EPIGENÉTICOS	Inibidores das desacetilases das histonas e da metilação do ADN	Aumentam a expressão de HbF através de mecanismos epigenéticos.

ADN: Ácido desoxirribonucleico; ADP: Difosfato de adenosina; CO: monóxido de carbono; Hb: Hemoglobina; iNKT: Célula *natural killer* induzida; JAK-2: tirosina-cinase JAK-2; NADPH: Nicotinamida-adenina-dinucleótido-fosfato reduzida; NO: óxido nítrico; NF-kB: Factor nuclear amplificador da cadeia leve kappa das células B; VCAM: Molécula de adesão à célula vascular – *vascular cell adhesion molecule*.

6 Conclusão

Os fenómenos migratórios levaram a que as hemoglobinopatias sejam hoje um problema de todas as sociedades, com um peso nos cuidados de saúde com tendência a aumentar no próximo século.

A implementação de programas de rastreio e de aconselhamento genético, na tentativa de controlar o número de novos casos e oferecer melhores hipóteses de sobrevivência e maior qualidade de vida aos afectados, tem cumprido o seu propósito e contribuído grandemente para a diminuição dos fenótipos mais graves, sobretudo nos países desenvolvidos. O nível de desenvolvimento e literacia de algumas das populações mais afectadas, contudo, é um obstáculo que deve ser ultrapassado no futuro.

Adquire por isso fundamental importância a educação e sensibilização das populações para este problema, advertindo-as do risco e das consequências para a descendência que estas condições acarretam.

São necessários novos estudos, mais precisos e fidedignos, sobre a frequência e a distribuição actuais destas doenças que permitam um melhor planeamento dos cuidados futuros e o delineamento de linhas orientadoras e metas a atingir no controlo destas afecções.

A investigação científica deve ser estimulada, possibilitando a descoberta de marcadores biológicos que permitam antever de forma mais precisa o curso clínico e otimizar as opções terapêuticas; uma melhor compreensão da influência da base genética e dos factores ambientais na heterogeneidade fenotípica; um entendimento mais abrangente dos mecanismos fisiopatológicos e da relação genótipo/fenótipo; o desenho de novos fármacos, inovadores, eficazes e, principalmente, modificadores de doença; e o surgimento de modalidades terapêuticas seguras, adaptadas ao indivíduo, pouco agressivas e curativas.

Finalmente, e até que estes objectivos sejam alcançados, torna-se necessária a obtenção de conhecimento clinico-científico nesta área que capacite qualquer profissional de

saúde para o reconhecimento dos principais achados clínicos e laboratoriais, o uso de métodos de diagnóstico simples, a formulação de diagnósticos diferenciais correctos e a aplicação de terapias básicas. A actualização desse conhecimento ao longo da carreira clínica não deve ser negligenciada.

Agradecimentos

À Professora Doutora Ana Bela Sarmiento, minha orientadora, e ao Dr. José Pedro Carda, meu co-orientador, pela disponibilidade, compreensão e amizade que demonstraram desde logo e pelo seu inestimável contributo científico para este trabalho.

À minha família, pela motivação e apoio que sempre me deram, em especial à minha mãe e ao meu irmão, que de tanto tempo abdicaram na minha companhia para que pudesse levar este trabalho a bom porto, ao meu padrinho e à minha tia Anabela, pelas dúvidas que souberam dissipar.

Ao João Gomes e à Sara Martins, por terem sido os meus companheiros nesta saga, partilhando bons e maus momentos e ajudando na organização, revisão e correcção, linguística e científica, do texto final.

Referências Bibliográficas

1. Thom CS, Dickson CF, Gell D a, Weiss MJ. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Mar;3(3):a011858.
2. Thein SL. Milestones in the history of hemoglobin research (in memory of professor Titus H.J. Huisman). Hemoglobin. 2011 Jan;35(5-6):450–62.
3. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012 Sep;2(9):a011692.
4. Higgs DR. The molecular basis of α -thalassemia. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Jan;3(1):a011718.
5. Giardine B, Borg J, Higgs DR, Peterson KR, Philipson S, Maglott D, et al. Systematic documentation and analysis of human genetic variation in hemoglobinopathies using the microattribution approach. Nature genetics. 2011 Apr;43(4):295–301.
6. Wood B, Higgs DR. Molecular basis of thalassemia syndromes. ESH Handbook on Disorders of Erythropoiesis, Erythrocytes and Iron Metabolism. 2009. p. 250–63.
7. Steinberg MH, Benz Jr. EJ, Adewoye AH, Ebert BL. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. Hematology: Basic Principles and Practice. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 427–38.
8. Griffiths et al. Hemoglobin - Quaternary Structure [Internet]. Department Of Biology - Memorial University. 2000. Available from: <http://www.mun.ca/biology/scarr/Gr09-07d.html>
9. Berg JM, Timoczko JL, Stryer L. Bioquímica. Sexta Edic. Editora Guanabara Koogan S.A.; 2008. p. 187–203.
10. Pocock G, Richards CD. Human Physiology: The Basis of Medicine. Third Edit. Oxford University Press, Inc.; 2006. p. 232–6.

11. Chui DHK, Steinberg MH. Laboratory Diagnosis of Hemoglobinopathies and Thalassemias. Hematology: Basic Principles and Practice. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 525–33.
12. Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassaemia. Lancet. 2012 Jan 28;379(9813):373–83.
13. Sankaran VG, Orkin SH. The switch from fetal to adult hemoglobin. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Jan;3(1):a011643.
14. Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Mason A, et al. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. British journal of haematology. 2010 Apr;149(1):35–49.
15. Giambona A, Passarello C, Renda D, Maggio A. The significance of the hemoglobin A(2) value in screening for hemoglobinopathies. Clinical biochemistry. The Canadian Society of Clinical Chemists; 2009 Dec;42(18):1786–96.
16. Hoffbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EG, Green AR. Postgraduate Haematology. Sixth Edit. Hoffbrand AV, Catovsky D, Tuddenham EG, Green AR, editors. Oxford, UK: Wiley-Blackwell; 2011.
17. Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis: algorithms, lessons and pitfalls. Blood reviews. Elsevier Ltd; 2011 Sep;25(5):205–13.
18. Sankaran VG, Lettre G, Orkin SH, Hirschhorn JN. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of hemoglobin disorders. Annals of the New York Academy of Sciences. 2010 Dec;1214:47–56.
19. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Deutsches Ärzteblatt international. 2011 Aug;108(31-32):532–40.
20. Lambert J-F, Beris P. Pathophysiology and differential diagnosis of anaemia. ESH Handbook on Disorders of Erythropoiesis, Erythrocytes and Iron Metabolism. 2009. p. 108–41.

21. Marks PW, Glader B. Approach to Anemia in the Adult and Child. Hematology: Basic Principles and Practice. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 439–46.
22. Wajcman H, Moradkhani K. Abnormal haemoglobins: detection & characterization. The Indian journal of medical research. 2011 Oct;134(October):538–46.
23. Forget BG, Bunn HF. Classification of the disorders of hemoglobin. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Feb;3(2):a011684.
24. Giardina PJ, Forget BG. Thalassemia Syndromes. Hematology: Basic Principles and Practice. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 535–63.
25. Muncie HL, Campbell J. Alpha and beta thalassemia. American family physician. 2009 Aug 15;80(4):339–44.
26. Rachmilewitz E a, Giardina PJ. How I treat thalassemia. Blood. 2011 Sep 29;118(13):3479–88.
27. Vichinsky EP. Clinical manifestations of α -thalassemia. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 May;3(5):a011742.
28. Singer ST. Variable clinical phenotypes of alpha-thalassemia syndromes. TheScientificWorldJournal. 2009 Jan;9:615–25.
29. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology. American Society of Hematology. Education Program. 2009 Jan;26–34.
30. Vichinsky E. Advances in the treatment of alpha-thalassemia. Blood reviews. Elsevier Ltd; 2012 Apr;26 Suppl 1:S31–4.
31. Olivieri NF, Brittenham GM. Management of the thalassemias. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 Jun;3(6).
32. Thein SL. The molecular basis of β -thalassemia. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2013 May;3(5):a011700.

33. Lettre G. The search for genetic modifiers of disease severity in the β -hemoglobinopathies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012 Oct;2(10).
34. Olivieri NF. Treatment strategies for hemoglobin E beta-thalassemia. *Blood reviews*. Elsevier Ltd; 2012 Apr;26 Suppl 1:S28–30.
35. Musallam KM, Taher AT, Rachmilewitz E a. B-Thalassemia Intermedia: a Clinical Perspective. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012 Jul;2(7):a013482.
36. Taher AT, Musallam KM, Karimi M, Cappellini MD. Contemporary approaches to treatment of beta-thalassemia intermedia. *Blood reviews*. Elsevier Ltd; 2012 Apr;26 Suppl 1:S24–7.
37. Nienhuis AW, Nathan DG. Pathophysiology and Clinical Manifestations of the β -Thalassemys. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012 Dec;2(12):a011726.
38. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2010 Jan;5:11.
39. Thein SL. The emerging role of fetal hemoglobin induction in non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood reviews*. Elsevier Ltd; 2012 Apr;26 Suppl 1:S35–9.
40. Taher AT, Musallam KM, Cappellini MD, Weatherall DJ. Optimal management of β thalassaemia intermedia. *British journal of haematology*. 2011 Mar;152(5):512–23.
41. Cappellini MD, Motta I, Musallam KM, Taher AT. Redefining thalassemia as a hypercoagulable state. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010 Aug;1202:231–6.
42. Musallam KM, Cappellini MD, Wood JC, Taher AT. Iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia: a clinical perspective. *Blood reviews*. Elsevier Ltd; 2012 Apr;26 Suppl 1:S16–9.

43. Lucarelli G, Isgrò A, Sodani P, Gaziev J. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia and sickle cell anemia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012 May;2(5):a011825.
44. Kesse-Adu R, Howard J. Inherited anaemias: sickle cell and thalassaemia. *Medicine*. Elsevier Ltd; 2013 Apr;41(4):219–24.
45. Roberts-Harewood M. Inherited haemolytic anaemias. *Medicine*. Elsevier Ltd.; 2009 Mar;37(3):143–8.
46. Sauntharajah Y, Vichinsky EP. Sickle Cell Disease - Clinical Features and Management. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 577–601.
47. Serjeant GR. The Natural History of Sickle Cell Disease. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013 Jan;3(10).
48. Hebbel RP. Pathobiology of Sickle Cell Disease. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 565–76.
49. Francheschi L De, Brugnara C. Sickle Cell Disease: Pathophysiology and target pathways for novel therapies. *ESH Handbook on Disorders of Erythropoiesis, Erythrocytes and Iron Metabolism*. 2009. p. 310–27.
50. Nur E, Biemond BJ, Otten H-M, Brandjes DP, Schnog J-JB. Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *American journal of hematology*. 2011 Jun;86(6):484–9.
51. Steinberg MH, Sebastiani P. Genetic modifiers of sickle cell disease. *American journal of hematology*. 2012 Aug;87(8):795–803.
52. Vichinsky E. Emerging “A” therapies in hemoglobinopathies: agonists, antagonists, antioxidants, and arginine. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program. 2012 Jan;2012:271–5.

53. McGann PT, Nero AC, Ware RE. Current management of sickle cell anemia. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013 Aug;3(8).
54. Bartolucci P, Galactéros F. Clinical management of adult sickle-cell disease. *Current opinion in hematology*. 2012 May;19(3):149–55.
55. Smith-Whitley K, Thompson AA. Indications and complications of transfusions in sickle cell disease. *Pediatric blood & cancer*. 2012 Aug;59(2):358–64.
56. Vandy Black L, Smith WR. Evidence-based mini-review: Are systemic corticosteroids an effective treatment for acute pain in sickle cell disease? *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program. 2010 Jan;2010:416–7.
57. Locatelli F, Pagliara D. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with sickle cell disease. *Pediatric blood & cancer*. 2012 Aug;59(2):372–6.
58. Benz Jr. EJ, Ebert BL. Hemoglobin variants associated with hemolytic anemia, altered oxygen affinity, and methemoglobinemias. *Hematology: Basic Principles and Practice*. Fifth Edit. Elsevier Inc.; 2009. p. 603–10.
59. Denshaw-Burke M, DeGiacco E, Curran AL, Savior DC, Kumar M. Methemoglobinemia [Internet]. *Medscape Reference*. 2013. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/204178-overview>
60. Bauer D, Orkin S. Update on fetal hemoglobin gene regulation in hemoglobinopathies. *Current opinion in pediatrics*. 2011;23(1):617–32.
61. Mosca A, Paleari R, Leone D, Ivaldi G. The relevance of hemoglobin F measurement in the diagnosis of thalassemias and related hemoglobinopathies. *Clinical biochemistry*. The Canadian Society of Clinical Chemists; 2009 Dec;42(18):1797–801.
62. Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: development and differentiation. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013 Apr;3(4):a011601.

63. Sadelain M, Lisowski L, Samakoglu S, Rivella S, May C, Riviere I. Progress toward the genetic treatment of the beta-thalasseмии. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005 Jan;1054:78–91.
64. Vichinsky E. Hemoglobin e syndromes. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology*. American Society of Hematology. Education Program. 2007 Jan;2007(1):79–83.
65. Ahmadvand M, Noruzinia M, Fard AD, Zohour MM, Tabatabaieifar MA, Soleimani M, et al. The role of epigenetics in the induction of fetal hemoglobin: a combination therapy approach. *International journal of hematology-oncology and stem cell research*. 2014 Jan;8(1):9–14.
66. Gambari R. Foetal haemoglobin inducers and thalassaemia: novel achievements. *Blood transfusion = Trasfusione del sangue*. 2010 Jan;8(1):5–7.
67. Dong A, Rivella S, Breda L. Gene therapy for hemoglobinopathies: progress and challenges. *Translational research: the journal of laboratory and clinical medicine*. Mosby, Inc.; 2013 Apr;161(4):293–306.
68. Pinto FO, Roberts I. Cord blood stem cell transplantation for haemoglobinopathies. *British journal of haematology*. 2008 May;141(3):309–24.
69. Arora N, Daley G. Pluripotent Stem Cells in Research and Treatment of Hemoglobinopathies. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012 Apr;2(4):a011841.
70. Weatherall D. The inherited disorders of haemoglobin: an increasingly neglected global health burden. *The Indian journal of medical research*. 2011 Oct;134(October):493–7.