

NEIVA SELLAN LOPES GONÇALES

ALTERAÇÕES HEMOGLOBÍNICAS E MANIFESTAÇÕES ÓSTEO-ARTICULARES

Orientador de Tese

Prof. Dr. ANTONIO SERGIO RAMALHO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Biologia.

CAMPINAS

1981

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Dedico a

Fernando

Janaina

Fernando Cesar

Eduardo

Ao

Professor Dr. ANTONIO SERGIO RAMALHO,

Livre-Docente do Departamento de Genética Médica,

pela confiança e dedicação

pelos ensinamentos

pela orientação

Agradeço.

AGRADECIMENTOS

Prof. Dr. Carlos Eduardo Negreiros de Paiva
Departamento de Fisiologia e Biofísica - UNICAMP

Prof. Dr. Bernardo Beiguelman
Departamento de Genética Médica - UNICAMP

Dr. José Antonio Cordeiro
Departamento de Estatística - UNICAMP

Srta. Ilda Sumie Sokei
Departamento de Genética Médica - UNICAMP

Srta. Maria Elídia dos Santos
Departamento de Fisiologia e Biofísica - UNICAMP

Sra. Eunice Chirman Andreoli
Departamento de Fisiologia e Biofísica - UNICAMP

Trabalho realizado com auxílio da
Fundação de Amparo à Pesquisa do
Estado de São Paulo (Processo nº
80/0871-6).

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	01
I.1. As hemoglobinopatias hereditárias	01
I.2. As alterações hemoglobínicas mais importantes em nosso meio	04
I.2.1. Hemoglobina S	05
I.2.2. Hemoglobina C	12
I.2.3. Hemoglobinopatia SC	12
I.2.4. Talassemia beta	13
I.2.5. Microdrepanocitose	15
I.2.6. Hemoglobina D Punjab	16
I.3. Alterações hemoglobínicas e manifestações ósteo- articulares	17
II. OBJETIVO	23
III. CASUÍSTICA E MÉTODOS	24
III.1. Triagem dos indivíduos	24
III.2. Caracterização da amostra	24
III.3. Investigação dos indivíduos triados	25
III.3.1. Procedimentos	27
III.4. Critérios diagnósticos	33
III.5. Critério de análise dos dados obtidos	37
IV. RESULTADOS	38
V. DISCUSSÃO	48
VI. CONCLUSÕES	58
VII. RESUMO	60
BIBLIOGRAFIA	62

I - INTRODUÇÃO

I.1. *As hemoglobinopatias hereditárias*

O estudo das hemoglobinas humanas e de suas alterações hereditárias constitui um campo de investigação extremamente importante e de múltiplas aplicações.

Assim, por exemplo, as hemoglobinas são exaustivamente estudadas por aqueles que se dedicam à Genética Molecular e à Bioquímica, pois constituem um material de pesquisa de grande valor na investigação dos mecanismos genéticos envolvidos na regulação normal e anormal da síntese de proteínas na espécie humana. Na opinião de COMINGS (1970), por exemplo, os conhecimentos atuais a respeito dos mecanismos genéticos moleculares básicos resultam, fundamentalmente, do estudo das hemoglobinas humanas, ao lado, evidentemente, daqueles feitos em bactérias e vírus.

Pelo fato de algumas hemoglobinopatias hereditárias constituírem polimorfismos genéticos humanos, o seu estudo também é de grande valia em Genética de Populações. De fato, as aplicações das hemoglobinas na investigação dos mecanismos homeostáticos que mantêm os polimorfismos são bastante conhecidas, sendo clássicas aquelas que permitiram

constatar as interrelações existentes entre a malária, a talassemia e a hemoglobina S. Assim, é bastante plausível a hipótese de que os heterozigotos dos genes da talassemia e da hemoglobina S (portadores dos traços talassêmico e siclêmico, respectivamente) tenham sofrido um processo de seleção favorável nas regiões de malária endêmica, pelo fato de serem mais resistentes à infestação pelo *Plasmodium falciparum* do que os homozigotos normais (HALDANE, 1949; ALLISON, 1954).

As alterações hemoglobínicas atingem, no entanto, crucial importância no terreno da Genética Clínica e da Hematologia, uma vez que muitas delas constituem doenças de extrema gravidade.

Embora nem todas hemoglobinas anômalas determinem alterações clínicas importantes, já está consagrado pelo uso o hábito de empregar o termo *hemoglobinopatia* (*pathos* = doença) como sinônimo de *alteração hemoglobínica*.

A classificação das hemoglobinopatias hereditárias é um assunto complexo e controvertido. No entanto, parece ser universalmente aceito o fato de elas poderem ser agrupadas em duas grandes classes gerais: as *hemoglobinopatias estruturais* e as *hemoglobinopatias por deficiência de síntese* ou *talassemias*, como foi sugerido por ITANO (1957).

Apesar de os conhecimentos a respeito da natureza das diferentes hemoglobinopatias hereditárias terem evoluído de maneira notável nos anos que se seguiram à publica-

ção do trabalho de ITANO, a sua divisão original continuou sendo respeitada, com as devidas adaptações.

Assim, por exemplo, na época em que esse autor publicou o trabalho citado, considerava-se a existência de um único *locus* genético para controle da síntese da globina. Atualmente, todo raciocínio a respeito das hemoglobinopatias fundamenta-se, basicamente, nas cadeias peptídicas que entram na constituição da fração globínica das hemoglobinas.

Lembre-se, de passagem, que seis tipos diferentes de cadeias peptídicas podem entrar na composição da fração globínica das hemoglobinas normais, ou seja:

	Hb	Gower I	=	ξ_4
Hemoglobinas	Hb	Gower II	=	$\alpha_2 \xi_2$
embrionárias	Hb	Portland I	=	$\gamma_2 \zeta_2$
	Hb	Portland II	=	ζ_4
Hemoglobina				
fetal	Hb	F	=	$\alpha_2 \gamma_2$
Hemoglobinas	Hb	A ₁	=	$\alpha_2 \beta_2$
do adulto	Hb	A ₂	=	$\alpha_2 \delta_2$

Lembre-se, também que um indivíduo é considerado adulto do ponto de vista hemoglobínico após os seis meses de idade, quando então tem as suas hemoglobinas representadas pelas frações A₁ ou A (97 a 99% do total) e A₂ (1 a 3% do Total) .

O adulto normal pode apresentar também pequenas quantidades de hemoglobina fetal, inferiores a 1% da hemoglobina total (RAMALHO, 1979b).

Como o próprio nome está dizendo, nas *hemoglobi-nopatias estruturais* são observadas alterações na estrutura da fração globínica da hemoglobina. Esse defeito de estrutura pode estar localizado em um ou mais tipos de cadeias peptídicas que entram na composição da globina, ou, senão, dizer respeito à maneira com que as cadeias se agrupam para formar essa fração.

A hemoglobina S, por exemplo, apresenta um defeito estrutural nas cadeias beta da sua globina. Já a hemoglobina de Bart, por seu lado, tem a sua fração globínica representada por um tetrâmetro de cadeias gama normais. Em outras palavras, enquanto que o defeito estrutural da hemoglobina S está localizado em um tipo de cadeia peptídica, na hemoglobina de Bart esse defeito diz respeito ao tipo de agrupamento das cadeias.

Nas *hemoglobinopatias por deficiência de síntese* ou *talassemias* ocorre uma depressão geneticamente condicionada da síntese de um ou mais tipos de cadeias peptídicas da hemoglobina, na ausência de defeito estrutural evidenciável nas mesmas. Assim, por exemplo, na talassemia beta ocorre uma depressão parcial (alelos β^+) ou total (alelos β^0) da síntese das cadeias beta da hemoglobina adulta normal A_1 .

I.2. As alterações hemoglobínicas mais importantes em nosso

meio.

Embora já tenham sido descritas até o momento várias centenas de hemoglobinopatias estruturais e pelo menos uma dezena de síndromes talassêmicas, apenas três alterações hemoglobínicas são particularmente importantes nas populações brasileiras, tanto pela freqüência, quanto pelos problemas clínicos que determinam: a hemoglobina S, a hemoglobina C e a talassemia beta. Assim, por exemplo, essas três hereditárias perfazem juntas mais de 95% do movimento da Unidade de Hemoglobinopatias Hereditárias do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade - Estadual de Campinas (RAMALHO, 1978a).

Enquanto que as hemoglobinas S e C constituem um problema nacional, já que afetam primordialmente a fração negra das populações brasileiras, a talassemia beta representa um problema de importância regional, sendo freqüente nos Estados de São Paulo e do Rio Grande do Sul e, provavelmente, em outras regiões que também receberam grande afluxo de imigrantes italianos (RAMALHO, 1979a,b).

Dentre as hemoglobinopatias estruturais ainda merece ser citada, em nosso meio, a hemoglobina D Punjab, apesar de ela ser bem menos importante do que as hemoglobinas S e C, tanto pela freqüência quanto pelos problemas clínicos que apresenta.

I.2.1. Hemoglobina S

A hemoglobina S é classificada dentre as hemoglobinopatias estruturais por substituição aminoácida simples, uma vez que apresenta o ácido glutâmico da posição número seis das suas cadeias beta substituído pela valina (Hb S = $\alpha_2 \beta_2$ ^{6glu → val.}).

Essa única substituição aminoácida é a base de toda a fisiopatogenia da hemoglobinopatia S, uma vez que ela é diretamente responsável pela produção das hemácias falciformes. De fato, as moléculas de hemoglobina S, quando desoxigenadas, têm a capacidade de se agregar, formando longas estruturas tubulares que fazem com que a hemácia se deforme, assumindo a típica forma de foice. Tal fenômeno é designado em inglês por *sickling* (*sickle* = foice), havendo entre nós a tendência de designá-lo pelos neologismos "falcização" ou "falciformação".

De acordo com a hipótese clássica de MURAYAMA (1966), a substituição de um aminoácido hidrófilo (ácido glutâmico) por outro hidrófobo (valina) na posição seis das cadeias beta levaria à formação de uma estrutura cíclica na extremidade NH₂ - terminal dessas cadeias. Essa estrutura cíclica resultaria da formação de uma ponte hidrófoba entre as valinas das posições um e seis e de uma ponte de hidrogênio entre a valina da posição um e a leucina da posição três, formando uma projeção em forma de chave em uma das extremidades das cadeias beta.

Quando a hemoglobina S fosse desoxigenada, essas projeções das suas cadeias beta se encaixariam nas cadeias alfa de outra molécula, a qual, por sua vez, também se liga

ria da mesma forma a outra molécula, e assim sucessivamente, desencadeando a formação dos cristalóides que deformariam a hemácia.

As investigações feitas posteriormente trouxeram, no entanto, novas informações a respeito do mecanismo de "fal_cização". Assim, sabe-se hoje que as *fibras de hemoglobina S* que causam a deformação da hemácia, ou seja, a "fal_cização", são longas estruturas tubulares compostas por seis filamentos que se dispõem de forma ligeiramente retorcida em torno de uma cavidade central. Essa fibra pode também ser considerada como sendo constituída por uma série de discos empilhados, cada um dos quais formado por seis moléculas de hemoglobina S dispostas em círculo. Cada disco se mostra ligeiramente rodado em relação ao seu vizinho, o que determina a rotação dos filamentos em torno da cavidade central (FINCH, 1973; WINSLOW e ANDERSON, 1978).

Outros modelos moleculares diferentes também foram propostos para explicar a formação dos polímeros de hemoglobina S (MAY e HUEHNS, 1976; DEAN e SCHECHTER, 1978). Essas diferenças entre os modelos propostos podem advir de variações na técnica experimental e da grande dificuldade na interpretação de imagens de microscopia eletrônica com alta resolução (COSTA, 1979). De maneira alternativa, essas diferenças podem refletir também um polimorfismo real nos agregados, devido à diferença na velocidade de polimerização e à presença de íons e de outras substâncias capazes de combinação com o heme (DEAN e SCHECHTER, 1978).

A forma exata com que a substituição do ácido glutâmico da posição número seis das cadeias beta pela valina determina a formação de fibras de hemoglobina S ainda é desconhecida. Uma vez que a formação de fibras não ocorre com a oxihemoglobina S, é evidente que as alterações espaciais associadas à desoxigenação permitem interações específicas entre as moléculas de hemoglobina S. Segundo FINCH (1973), as ligações mais fortes entre as moléculas de hemoglobina constituintes das fibras se processam ao longo do maior eixo dos filamentos, uma vez que, quando as fibras se desintegram, elas se fragmentam em monofilamentos.

Existem várias possibilidades de orientação das valinas da posição número seis das cadeias beta (HOFRICHTER *et al.*, 1973), devendo existir, também, várias outras interações estabilizadoras entre as moléculas de hemoglobina S que constituem a fibra (BERTLES, 1974).

O processo de "falciformação" não é instantâneo. Quando as hemácias contendo hemoglobina S são desoxigenadas subitamente, ocorre um breve intervalo de tempo antes que as células assumam a típica forma de foice. Esse intervalo de tempo deve corresponder ao período de condensação das moléculas de hemoglobina S, antes da formação da fibra. A duração desse intervalo é altamente dependente da concentração de hemoglobina S, dependendo, também da saturação de oxigênio e da temperatura (WINSLOW e ANDERSON, 1978).

Embora exista uma grande variabilidade no tempo de perfusão capilar nos diferentes órgãos, devendo existir,

também, uma grande variabilidade individual no que diz respeito a essa característica, esse intervalo de tempo que antecede à formação da fibra pode ter duração suficiente para ser fisiopatogenicamente importante.

A hipoxemia, a acidose, a desidratação e a vasoconstricção são os principais fatores predisponentes da produção de hemácias falciformes, fenômeno esse favorecido também pela desnutrição e pelas hipovitaminoses (CAPLIN *et al.*, 1972; COOPER e TOOLE, 1972).

Os homozigotos do gene da hemoglobina S (homozigotos SS) produzem apenas cadeias beta estruturalmente alteradas e, por isso, são incapazes de sintetizar a hemoglobina normal A₁, substituindo-a totalmente pela hemoglobina S. Clinicamente, eles manifestam uma anemia hemolítica importante, conhecida por anemia falciforme, na qual, às manifestações próprias da hemólise, se somam lesões isquêmicas conseqüentes à trombose, com crises dolorosas e infartamentos de órgãos. A doença tem evolução crônica, alternando períodos de exacerbação ou crises com período de remissão relativa. Essas crises podem ser hemolíticas, aplásticas, trombóticas ou de seqüestramento de hemácias falciformes no baço.

Já os heterozigotos do gene da hemoglobina S (heterozigotos AS), também conhecidos como portadores do traço ou estigma siclêmico, apresentam um percentual de hemoglobina anômala que varia de 22% a 45% da hemoglobina total. As suas hemácias apresentam a capacidade de se tornar falciformes, embora, para tanto, devam ser submetidas a menores ten-

sões de oxigênio do que as hemácias de pacientes homozigotos, que manifestam a anemia siclêmica.

Seria interessante fazer aqui uma ressalva. Embora seja universalmente aceito o emprego de expressão "gene da hemoglobina S", o mais correto seria dizer "gene da cadeia hemoglobínica β^S " uma vez que a fração globínica da hemoglobina S é constituída por duas cadeias β^S e por duas cadeias α normais.

Apesar de os heterozigotos AS não apresentarem, geralmente, perturbações clínicas evidentes, eles podem manifestar complicações sérias, até mesmo fatais, principalmente em consequência de fatores precipitantes da produção de células falciformes.

Assim, por exemplo, já se descreveram, entre portadores do traço siclêmico, casos de infarto esplênico em consequência de vôo em avião não pressurizado, infarto pulmonar e esplênico em um atleta que havia ido competir em lugar de grande altitude, trombose fatal do seio longitudinal superior, morte súbita por excesso de esforço físico, morte súbita após anestesia, rutura do baço associada a endocardite bacteriana e hipopituitarismo anterior e posterior manifestada após viagem de avião, além de casos com manifestações neurológicas diversas, necrose assética da cabeça do fêmur, osteoporose associada a outras lesões ósseas, infarto renal, hemorragia retiniana e úlceras de membros inferiores. (CEZAR *et al*, 1974; RAMALHO, 1979_{a,b}). No trabalho de SERJEANT (1974) também é possível encontrar uma extensa revisão bibliográfica

ca do assunto, sendo relatadas várias dezenas de outros casos de complicações clínicas em heterozigotos AS.

A detecção dos heterozigotos AS reveste-se de grande importância, portanto, para a sua orientação em termos de cuidados individuais, e, sobretudo, de aconselhamento genético.

A frequência de heterozigotos AS é sempre alta na fração negróide das populações brasileiras, atingindo valores entre cerca de 6% até mais de 10% (CEZAR *et al.*, 1974; RAMALHO, 1979a,b).

Dentre os pacientes negróides que passam pela Secção de Triagem do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas foram encontrados cerca de 8% de traços siclêmicos (CEZAR *et al.*, 1974), enquanto que entre doadores de sangue e entre recém-nascidos negróides desse mesmo hospital foram encontrados cerca de 9% desses heterozigotos (RAMALHO, 1976b; RAMALHO *et al.*, 1976).

As maiores frequências do traço siclêmico já descritas até o momento em adultos sul-brasileiros foram as encontradas por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) entre negróides com tuberculose pulmonar internados em sanatórios de Campos de Jordão, São Paulo (17% entre negros e 10,3% entre mulatos).

A interação do gene da hemoglobina S com os alelos produtores de outras hemoglobinopatias determina o aparecimento de diversas *síndromes falcêmicas* importantes, com é o caso, por exemplo, da hemoglobinopatia SC e da microdrepa-

nocitose. Essa última, como será visto adiante, nada mais é do que a expressão clínica da interação entre os genes da hemoglobina S e da talassemia beta.

I.2.2. Hemoglobina C

A hemoglobina C também é classificada dentre as hemoglobinopatias estruturais por substituição aminoácida - simples, uma vez que apresenta o ácido glutâmico da posição número seis das suas cadeias beta substituído pela lisina (HbC = $\alpha_2 \beta_2^{6\text{glu} \rightarrow \text{lis}}$).

Essa hemoglobina é freqüente em populações da África Ocidental, sendo encontrada em cerca de 1% dos negróides brasileiros (TONDO e SALZANO, 1962; ARAÚJO, 1965; RAMALHO e BEIGUELMAN, 1977).

Os heterozigotos AC não apresentam alterações - clínicas dignas de nota e, por isso, a sua detecção reveste-se de importância apenas para fins de aconselhamento genético, uma vez que os homozigotos CC e os heterozigotos SC podem manifestar sintomatologia importante. Cumpre ressaltar, aliás, que nos heterozigotos SC as moléculas de hemoglobina C podem se copolimerizar com as moléculas de hemoglobina S na formação das fibras (WINSLOW e ANDERSON, 1978).

I.2.3. Hemoglobinopatia SC

Os heterozigotos SC manifestam alterações clínicas semelhantes às da anemia falciforme, se bem que mais bran

das. (SERJEANT, 1974).

Como a hemólise é menor na hemoglobinopatia SC, o hematócrito dos seus portadores e, conseqüentemente, a sua viscosidade sangüínea, tendem a apresentar valores superiores aos descritos na anemia falciforme. Isso leva à predominância, na hemoglobinopatia SC, das alterações clínicas relacionadas à viscosidade sangüínea, como a necrose assética da cabeça do fêmur, a hemorragia retiniana e a hematúria. Em nosso meio, também têm sido observadas, freqüentemente, úlceras de membros inferiores em heterozigotos SC. (RAMALHO, 1979b).

I.2.4. *Talassemia beta*

O termo talassemia foi empregado pela primeira vez por WHIPPLE e BRADFORD (1936) que pretenderam, com esse nome, chamar a atenção para a incidência em populações de origem mediterrânea (*talassa*, em grego, mar) de um tipo de anemia infantil que havia sido descrito por COOLEY e LEE (1925) em crianças de ascendência italiana, grega e síria.

Paralelamente a essa designação, entretanto, tal tipo de anemia continuou recebendo a denominação de *anemia de Cooley* já que coube a esse autor demonstrar ser a mesma uma entidade clínica com características próprias, que lhe conferiram individualização dentro do quadro geral das anemias infantis, na época designadas, genericamente, por anemia de *Von Jaksch* (COOLEY, 1927).

O conceito de talassemia sofreu, no entanto, uma evolução, passando de simples nome de uma entidade mórbi-da para a denominação de um conjunto de entidades genético - clínicas distintas, que merecem de WEATHERALL (1967) a designação mais genérica de *síndromes talassêmicas*.

Assim sendo, a talassemia clássica identifica-se com a hoje denominada talassemia beta. Como já foi mencionado anteriormente, os alelos dessa talassemia determinam uma depressão parcial (alelos β^+) ou total (alelos β^0) da síntese das cadeias beta da hemoglobina.

Na sua forma homozigótica, a talassemia beta condiciona manifestações clínicas decorrentes de anemia hemolítica grave, com repercussão acentuada sobre o crescimento e o desenvolvimento do indivíduo, hepatoesplenomegalia e alterações ósseas típicas. Esse quadro define a chamada *talassemia major* ou *anemia de Cooley*.

Já a forma heterozigótica da talassemia beta apresenta um quadro clínico variável, podendo uma porcentagem pequena de seus casos revelar anemia relativamente grave, hepatoesplenomegalia e alterações ósseas (*talassemia intermedia*) enquanto outros casos se apresentam oligossintomáticos (*talassemia minor*) ou totalmente assintomáticos (*talassemia minima*).

As alterações hematológicas dos heterozigotos do gene de talassemia beta, ou seja, dos portadores do traço talassêmico beta, podem ser confundidas com as da anemia ferro

priva. Assim sendo, a microcitose e a hipocromia apresentadas pelos talassêmicos podem levar o clínico desavisado a prescrever-lhes erroneamente compostos ferrosos, situação, aliás, observada com grande freqüência em nosso meio (RAMALHO, 1975a,b,1978a). Tal conduta terapêutica, além de ineficaz, pode ser prejudicial ao paciente, já que envolve o risco de causar hemossiderose (CROSBY e CONRAD, 1964; CROSBY, 1972; HEINRICH *et al*, 1973).

O reconhecimento dos portadores do traço talassêmico beta reveste-se, portanto, de grande importância para a sua orientação não só em termos de cuidados individuais, mas, sobretudo, de aconselhamento genético.

O traço talassêmico beta é freqüente na população do Estado de São Paulo, sendo encontrado em cerca de 6,4% dos descendentes não miscigenados de italianos e em 1% dos descendentes miscigenados (RAMALHO, 1975a; 1976, 1979 a, b, 1980). Na população caucasóide de Porto Alegre, R.S., a prevalência deste traço foi estimada em 1% (FREITAS, 1980).

I.2.5. *Microdrepanocitose*

Como já se comentou anteriormente, dá-se o nome de microdrepanocitose à condição mórbida resultante da interação dos genes de hemoglobina S e da talassemia beta no mesmo indivíduo.

Uma vez que existem dois tipos de genes para a talassemia beta (alelos β^+ e β^0), existem, conseqüentemente,

dois tipos de microdrepanocitose, dependendo do tipo de alelo talassêmico que se apresenta em interação com o gene da hemoglobina S (SERJEANT, 1974).

A interação entre o gene β^0 e o gene da hemoglobina S determina uma forma grave de microdrepanocitose, mais conhecida por anemia microdrepanocítica, que é frequentemente confundida com a anemia falciforme. De fato, os pacientes com essa forma de microdrepanocitose apresentam, em geral, as mesmas manifestações clínicas da forma homozigótica da hemoglobinopatia S, com anemia hemolítica, retardo do crescimento e do desenvolvimento, dores ósseas, articulares e abdominais recorrentes, crises de "falcização" e outros sintomas.

Já a interação entre os genes β^+ e o gene da hemoglobina S determina uma forma branda de microdrepanocitose, raramente confundida com a anemia falciforme, mas, por outro lado, frequentemente confundida com o traço siclêmico.

Pelo fato de tanto a hemoglobina S quanto a talassemia beta serem alterações genéticas frequentes na população do Estado de São Paulo e de outras regiões brasileiras, o aparecimento de pacientes com microdrepanocitose não constitui uma raridade em nosso meio, ao contrário do que ocorre na maioria das outras populações humanas (RAMALHO, 1978b, - 1979b).

I.2.6. Hemoglobina D Punjab

A hemoglobina D Punjab, da mesma forma que as he

moglobinas S e C , também é classificada dentre as hemoglobinipatias estruturais por substituição aminoácida simples , uma vez que apresenta o ácido glutâmico da posição número 121 das suas cadeias beta substituído pela glutamina. (Hb D Punjab = $\alpha_2 \beta_2^{121 \text{ glu} \rightarrow \text{gln}}$).

Segundo ARAÚJO (1965), essa hemoglobina, que é originária da Índia, deve ter sido introduzida em nosso país pelos portugueses. A sua freqüência em nossas populações geralmente é inferior a 1% (ARAÚJO, 1965; RAMALHO, 1975a).

A importância prática da hemoglobina D Punjab , que não determina alterações clínicas dignas de nota, reside no fato de ela poder ser confundida com a hemoglobina S pelas técnicas eletroforéticas usuais.

1.3. *Alterações hemoglobínicas e manifestações osteo-articulares.*

As manifestações osteo-articulares devidas às hemoglobinipatias hereditárias podem ser classificadas em dois grandes grupos. No primeiro deles estão incluídas as manifestações devidas à hiperplasia e à hipertrofia da medula óssea e, no segundo, as devidas à obstrução de vasos sanguíneos por aglomerados de hemácias falciformes, com trombose, isquemia e necrose óssea.

A hiperplasia e a hipertrofia da medula óssea - são conseqüências da anemia hemolítica, representando, portanto, um mecanismo compensatório contra a destruição crôni

ca de hemácias. Assim sendo, essas manifestações são típicas daquelas hemoglobinopatias que determinam hemólise crônica acentuada, como é o caso, por exemplo, da anemia falciforme e da anemia de Cooley (talassemia *major*). Elas podem aparecer, também, em outras anemias hemolíticas, como é o caso da esferocitose hereditária.

Por outro lado, as manifestações ósteo-articulares do segundo grupo, ou seja, as devidas à obstrução de vasos sanguíneos, são encontradas, tipicamente, nas síndromes falcêmicas.

Enquanto que as manifestações do primeiro grupo caracterizam-se fundamentalmente, pelas *deformidades ósseas*, embora também possam causar dor, as do segundo grupo caracterizam-se, fundamentalmente, pela *dor ósteo-articular*, embora também possam determinar graves deformidades.

Dentre as deformações causadas pela hiperplasia e pela hipertrofia da medula óssea, chamam a atenção aquelas observadas no crânio, onde o alargamento da díplo e o afastamento da tábua externa determinam o aspecto radiológico em "pelo eriçado" (DIGGS, 1967; JOHNSON *et al*, 1967; SERJEANT, 1974; SEBES e DIGGS, 1978).

No caso específico da anemia falciforme, outro sinal radiológico digno de nota é o aspecto das vértebras, que podem se mostrar achatadas ou com perfil acentuadamente bicôncavo, lembrando vértebras de peixe (JOHNSON *et al*, 1967; SERJEANT, 1974; SCHWARTZ *et al*, 1979).

Já na anemia de Cooley, chamam a atenção, além do aspecto radiológico em "pelo eriçado", o retardo da pneumatização dos seios aéreos e o crescimento exagerado do maxilar superior (MOSELEY, 1962; ROY *et al*, 1971).

As manifestações osteo-articulares devidas a fenômenos vaso-oclusivos dependem, em última instância, da produção de hemácias falciformes. Assim sendo, é fácil concluir que tais manifestações não são exclusivas da anemia falciforme, aparecendo também em outras síndromes falcêmicas, como é o caso da hemoglobinopatia SC, da anemia microdrepanocítica ou, até mesmo, do traço siclêmico.

Dentre as manifestações desse segundo grupo, são particularmente freqüentes, na anemia falciforme, os infartos da medula óssea e das regiões justa-articulares, a necrose assética uni ou bilateral da cabeça do fêmur ou do úmero, as áreas de rarefação óssea e, posteriormente, de osteoesclerose nos ossos longos, a dactilite infantil e a osteoporose vertebral (DIGGS, 1967; HADDAD, 1967; JOHNSON *et al*, 1967 ; BAUMGARD e LEACH, 1970; NOSNY *et al*, 1970; SERJEANT, 1974 ; EBONG, 1977, entre outros).

Os infartos ósseos, freqüentes nas regiões justa-articulares, determinam dores, sobretudo na articulação dos ombros, cotovelos, joelhos e tornozelos. Os acometimentos articulares geralmente são simétricos, podendo ser poliarticulares ou migratórios (SERJEANT, 1974).

As necroses asséticas uni ou bilaterais da cabe-

ça do fêmur ou do úmero, que geralmente determinam grave comprometimento funcional e sintomatologia dolorosa, são mais frequentes em pacientes menos jovens (HADDAD, 1967; NOSNY *et al*, 1970; BAUMGARD e LEACH, 1970; entre outros).

Por outro lado, a irrigação dos ossos tubulares das extremidades por sangue com menor tensão de oxigênio propicia a formação de hemácias falciformes nessas áreas distantes dos pulmões, sendo essa situação agravada pela vasoconstrição causada pelo frio (CEZAR *et al*, 1974). Em consequência, é frequente o aparecimento da "síndrome de mãos e pés", caracterizada por edema das partes moles, seguido de elevação periostal e produção de áreas de neoformação e de rarefação óssea. Essa síndrome é comum na infância (DIGGS, 1967; JOHNSON *et al*, 1967; WORRAL *et al*, 1976), e já se descreveu um caso de trombose e gangrena das quatro extremidades em um paciente com anemia falciforme que tinha apenas dezoito meses de idade (MARAGOS *et al*, 1971).

Ainda dentre as lesões ósteo-articulares do homozigoto SS, seria interessante mencionar a possibilidade de aparecimento de osteomielite, sendo frequente a infecção por salmonela (WINTROBE, 1972; KASSIRSKY e ALEXEEV, 1972; CEZAR *et al*, 1974).

As crises dolorosas também são comuns em pacientes com hemoglobinopatia SC, sobretudo antes dos dez anos de idade, tornando-se menos frequentes e menos severas com o avanço da idade. As dores ósseas podem ser difusas ou podem ser localizadas em um osso particularmente ou em partes de

um osso. Muitas vezes elas são acompanhadas de edema (SERJEANT, 1974).

Alguns estudos sugerem, até mesmo, que os infartos de medula de ossos longos e de superfícies articulares são mais freqüentes na hemoglobinopatia SC do que na anemia falciforme (SMITH e CONLEY, 1954; MacIVER e WENT, 1958; MOSELEY, 1959; EBONG, 1977).

Segundo SERJEANT (1974), a necrose avascular de cabeça de úmero é encontrada em cerca de 12% a 25% dos casos de hemoglobinopatia SC. Por outro lado, os infartos de ossos longos são observados em cerca de 46% a 55% dos pacientes com essa hemoglobinopatia (RIVER *et al*, 1961).

Na anemia microdrepanocítica, as manifestações ósteo-articulares também são muito comuns e semelhantes às da anemia falciforme, se bem que, geralmente, menos grave. (WEATHERALL, 1967; 1978; SERJEANT, 1974; entre outros).

Também é possível encontrar, na literatura especializada, a descrição de numerosos casos de heterozigotos AS com manifestações ósteo-articulares, inclusive com necrose assética de cabeça de fêmur. (HADDAD, 1967; LAROCHE *et al*, 1967; DOURY, 1970; NOSNY *et al*, 1970; EBONG, 1977, entre outros). Em nosso meio foi descrito, recentemente, o caso de uma siclêmica com necrose avascular bilateral de cabeça de úmero (RAMALHO, 1979a).

Considerando a importância da hemoglobina S na

fração negróide das populações brasileiras, é lamentável que a literatura nacional disponha de poucos dados a respeito da participação das síndromes falcêmicas na etiologia das manifestações ósteo-articulares em nosso meio.

Como foi comentado em secções anteriores, o traço siclêmico é encontrado em cerca de 6% a 10% dos negróides brasileiros. Conseqüentemente, a freqüência de homozigotos SS também é importante em nosso meio. De fato, segundo a Organização Mundial da Saúde, a freqüência de homozigoto SS pode ser estimada em cerca de $1/625$ entre os recém-nascidos negróides brasileiros (COSTA, 1979).

Por outro lado, como a hemoglobina C e o traço talassêmico beta também são freqüentes na população do Estado de São Paulo, o aparecimento de pacientes com a hemoglobinopatia SC e com a anemia microdrepanocítica não é uma raridade entre nós.

Salta à vista, portanto, a necessidade de maiores estudos sobre a participação das síndromes falcêmicas na etiologia das dores ósteo-articulares em nossas populações.

II - OBJETIVO

O presente trabalho tem por objetivo investigar a frequência das síndromes falcêmicas (anemia falciforme, hemoglobinopatia SC, anemia microdrepanocítica, traço siclêmico, etc.) em uma amostra de brasileiros com manifestações osteo-articulares dolorosas.

Com isso se pretende determinar a *importância relativa* das síndromes falcêmicas como determinantes de dores osteo-articulares em nosso meio.

Embora o trabalho vise, primordialmente, as síndromes falcêmicas, serão detectadas, também, outras alterações hemoglobínicas eventualmente existentes na amostra examinada (hemoglobinas C, D, talassemia, etc.).

Cumpré ressaltar, no entanto, que foram excluídas do presente estudo as manifestações osteo-articulares devidas à hipertrofia e à hiperplasia da medula óssea, uma vez que tais manifestações determinam, fundamentalmente, deformidades ósseas avaliadas radiologicamente.

III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

III.1. *Triagem dos indivíduos*

A fase de triagem foi programada de modo a obedecer os aspectos éticos e sociais estabelecidos para seleção de portadores de doenças hereditárias (LAPPÉ *et al*, 1972).

Foram examinados 200 pacientes (72 homens e 128 mulheres), dos quais 126 negróides e 74 caucasóides, que procuraram os serviços médicos do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, durante o ano de 1980, por apresentarem manifestações ósteo-articulares dolorosas importantes pela intensidade, não traumáticas e de etiologia a esclarecer.

Fica evidente, portanto, que a condição determinante para a inclusão dos indivíduos na amostra foi a constatação, através do exame clínico, da dor ósteo-articular importante, de etiologia a esclarecer, acompanhada ou não de outras intercorrências clínicas.

III.2. *Caracterização da amostra*

As principais características da amostra examina

da são apresentadas na tabela III.1.

III.3. *Investigação dos indivíduos triados*

Para realização do presente estudo, foi estabelecido um contacto diário entre os diferentes serviços médicos do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas e a Unidade de Hemoglobinopatias do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. Com isso, foi possível que, logo após a constatação clínica dos portadores de manifestações osteoarticulares dolorosas, fosse efetuada a coleta dos seus dados clínicos e da amostra de sangue para exame.

Os dados levantados foram: número de registro do paciente no Hospital das Clínicas da UNICAMP, nome, idade, sexo, cor e alterações clínicas associadas à dor osteoarticular.

Foram colhidos 5 ml de sangue venoso de cada indivíduo triado, usando-se como anticoagulante o sal dipotássico do ácido etilenodiaminotetracético (E.D.T.A.), na concentração recomendada por DACIE e LEWIS (1970), ou seja, 1mg/ml de sangue.

As amostras de sangue foram transportadas imediatamente para a Unidade de Hemoglobinopatias do Departamento

FAIXA ETÁRIA	GRUPO RACIAL				TOTAL
	Caucasóide		Negróide		
	Sexo Masc.	Sexo Fem.	Sexo Masc.	Sexo Fem.	
<15 anos	7	6	23	23	59
15-25 anos	7	10	4	18	39
25-50 anos	7	21	17	25	70
> 50 anos	3	13	4	12	32
TOTAL	24	50	48	78	200

TABELA III.1- Caracterização da amostra examinada.

de Genética Médica, onde foram submetidas à seguinte sequência de exames:

1. *Teste de resistência globular osmótica*, utilizando-se uma solução de cloreto de sódio a 0,4%, de acordo com a técnica recomendada por MALAMOS *et al* (1962) para triagem de talassemia beta e de microdrepanocitose.
2. *Estudo da morfologia da série vermelha nos esfregaços sanguíneos*, para verificação de alterações sugestivas de talassemia beta ou de microdrepanocitose, nos casos em que a resistência globular osmótica se mostrou aumentada.
3. *Eletroforese de hemoglobinas em fitas de acetato de celulose*, utilizando-se o tampão tris-glicina pH 9,1, de acordo com a técnica recomendada por RAMALHO, 1979b.
4. *Teste "Sickle-ID"*, para diferenciação entre as hemoglobinas S e D Punjab (LOUDERBACK *et al*, 1974).
5. *Eletroforese de hemoglobinas em gel de ágar*, utilizando-se o tampão de citrato, pH 6,2, para a perfeita caracterização das hemoglobinas D Punjab e C (ARAÚJO, 1965).

III.3.1. Procedimento

Teste de resistência globular osmótica.

Como foi mencionado anteriormente, o método utilizado foi o padronizado por MALAMOS *et al* (1962), que cons-

ta da adição de 0,02 ml de sangue a 5 ml de solução de cloreto de sódio rigorosamente a 0,4%, procedendo-se a homogeneinização da mistura por inversão do tubo. Esse tubo foi examinado quanto à sua transparência, após mantê-lo durante 45 minutos à temperatura ambiente. Foram considerados normais (negativos) os tubos transparentes, e anormais (positivos) os tubos translúcidos, opacos ou com sedimento de células.

Por se tratar de um teste qualitativo, as amostras de sangue com ligeira turvação foram consideradas anormais e submetidas a exames complementares (estudo da morfologia da série vermelha e eletroforese de hemoglobinas).

Estudo da morfologia da série vermelha

Com o sangue de cada indivíduo cuja resistência globular osmótica mostrou-se alterada, foram preparados quatro esfregaços, corados pela técnica de Leishman. A morfologia da série vermelha de cada caso foi estudada por hematologistas clínicos, quanto à presença ou ausência de microcitose, anisocitose, poiquilocitose, eliptocitose, hipocromia, alvocitose, policromasia e presença de ponteados basófilos. Essas alterações favorecem o diagnóstico de talassemia.

Eletroforese de hemoglobinas em fitas de acetato de celulose, tampão tris-glicina, pH 9,1

A eletroforese de hemoglobinas foi feita a partir de uma solução de hemoglobinas.

Para o preparo dessa solução, colocou-se em um tubo de ensaio 2 ml de sangue total colhido com E.D.T.A. , completou-se o tubo com solução de NaCl a 0,85% e centrifugou-se a 3.000 r.p.m., durante 5 minutos. Removeu-se o sobrenadante e a camada de glóbulos brancos por aspiração com uma pipeta Pasteur. Em seguida, as hemácias foram lavadas três a quatro vezes com solução de NaCl a 0,85%. Quando o líquido da última lavagem apresentou-se claro, as células foram hemolisadas com igual volume de água destilada e outro de clorofórmio. O tubo foi agitado vigorosamente e centrifugado a 3.000 r.p.m. durante 10 minutos. Após a centrifugação, o clorofórmio ficou no fundo do tubo, o estroma na porção intermediária e a solução de hemoglobinas na porção superior, sendo retirada com uma pipeta Pasteur.

Nos casos em que não havia suspeita de talassemia, foi realizada uma *eletroforese para investigação de hemoglobinas anômalas*. Já nos casos em que o estudo da resistência globular osmótica e da morfologia da série vermelha sugeriram a presença do gene da talassemia beta, foi realizada uma *eletroforese para talassemia*.

Eletroforese para investigação de hemoglobinas anômalas

O objetivo dessa eletroforese é, como se sabe, a investigação da presença de bandas eletroforéticas anômalas, correspondentes às hemoglobinas estruturalmente alteradas (hemoglobinas, S, D, C, etc.).

Foi utilizado um sistema "Boskamp" de eletroforese (Boskamp Gerätebau KG, Alemanha) e o tampão tris-glicina pH 9,1 (14,1g de tris-hidroximetil-aminometano e 22,6g de glicina em 1500 ml de água destilada).

A corrida eletroforética foi realizada sob a diferença de potencial de 250 volts durante 60 minutos.

As fitas de acetato de celulose ("Sartorius Membranfilter GMBH", Alemanha) foram coradas por amido negro 10B a 0,5% em solução de metanol (45%) e ácido acético glacial (10%) em água bidestilada e a coloração de fundo foi retirada por meio de lavagens sucessivas com solução de metanol (45%) e ácido acético glacial (10%) em água bidestilada.

Eletroforese para investigação de talassemia beta

O objetivo dessa eletroforese é, como se sabe, a investigação do aumento dos percentuais de hemoglobina normal A₂ nos heterozigotos do gene da talassemia beta ou do aumento dos percentuais de hemoglobina fetal nos homozigotos desse gene.

Para a realização dessa eletroforese, igualou-se previamente a concentração da solução de hemoglobinas a ser testada com uma solução padrão, obtida a partir do sangue de um indivíduo hemoglobicamente normal.

As duas soluções foram aplicadas lado a lado na fita de acetato de celulose, exigindo esse procedimento apli

cações exatamente iguais em quantidade e forma dos hemolisados do paciente e do padrão normal.

O tampão utilizado também foi o de tris-glicina, pH 9,1. A corrida eletroforética foi utilizado sob a diferença de potencial de 250 volts, durante 60 minutos. Utilizou-se, também, a mesma técnica de coloração usada na eletroforese para investigação de hemoglobinas anômalas.

O aumento da concentração da hemoglobina A₂ ou da hemoglobina fetal foi, previamente, verificado mediante a comparação com o padrão.

Em seguida, a fita de acetato de celulose foi fixada em uma lâmina de microscopia e diafanizada em uma mistura de dioxana e isobutanol. Isso para que o percentual da hemoglobina A₂ pudesse ser medido em um densitômetro modelo Quick (Atago, USA) e para que o índice hemoglobina A₂/anidrase carbônica eritrocitária pudesse ser determinado (RAMALHO e LORAND, 1980).

Teste "Sickle-ID"

O Teste "Sickle-ID", padronizado por LOUDERBACK e colaboradores (1974), é uma prova de solubilidade utilizada para a identificação rápida e eficiente de portadores da hemoglobina S, bem como para a diferenciação entre as hemoglobinas S e D Punjab.

No presente trabalho esse teste foi usado apenas

nos casos que mostraram uma banda eletroforética compatível com as hemoglobinas S ou D.

A solução de trabalho usada no teste "Sickle-ID" foi preparada com 1g de ditionito de sódio (agente redutor), 1 g de saponina (detergente) e 100 ml de tampão sulfato de amônio (280g/l de sulfato de amônio, ajustando-se o pH para $7,1 \pm 0,1$ com K_2HPO_4 1mol/l), sendo guardada em geladeira.

Assim, no momento do uso, transferiu-se 2 ml de solução de trabalho para um tubo de ensaio, e, após o seu degelo, acrescentou-se 0,1 ml de sangue total, invertendo-se várias vezes o tubo para homogeneizar o sangue e a solução. Após manter-se o tubo em repouso, à temperatura ambiente, durante 5 minutos, o mesmo foi centrifugado a 3.000 r.p.m. durante 3 minutos e, depois, examinado contra uma fonte de luz.

Quando o sangue testado pertencia a um indivíduo normal (homozigoto AA), o tubo mostrava, após a centrifugação, um sobrenadante límpido vermelho e um pequeno precipitado gelatinoso branco, correspondente ao estroma das hemácias. Porém, quando o sangue testado pertencia a um portador do traço siclêmico (heterozigoto AS), o tubo centrifugado mostrava um sobrenadante vermelho claro e um pequeno precipitado vermelho escuro no fundo. Já, quando o sangue examinado pertencia a um paciente com a anemia falciforme (homozigoto SS), o tubo centrifugado apresentava um sobrenadante amarelado e um grande precipitado vermelho escuro.

Vale a pena lembrar que, os heterozigotos AD se comportam, nesse teste, como os homozigotos AA, e os heterozigotos SD como os heterozigotos AS.

Eletroforese em gel de ágar, tampão de citrato, pH 6,2

Foi utilizada a técnica recomendada por ARAÚJO (1965).

Pesou-se 147g de citrato de sódio, dissolveu-se em 600 ml de água destilada e completou-se o volume para um litro (solução estoque). O tampão foi preparado tomando - se uma parte da solução estoque e 9 partes de água destilada, sendo o pH ajustado para 6,2 com uma solução de 50% de ácido cítrico.

Tomou-se uma grama de ágar e misturou-se com 100 ml de tampão de citrato. Levou-se ao banho-maria, até que se obteve uma dissolução completa de ágar. Tomou-se 4 ml da solução assim preparada, derramando-se o líquido uniformemente em uma lâmina usada para esfregaço sangüíneo.

Foram feitas, em seguida, fendas no gel, introduzindo-se a solução de hemoglobina diretamente no ágar.

A eletroforese foi realizada a 10°C.

III.4. *Crítérios diagnósticos*

Foram utilizados os seguintes critérios diagnósticos para determinação dos fenótipos hemoglobínicos.

Indivíduo hemoglobínicamente normal (homozigoto AA):

Resistência globular osmótica normal; presença das hemoglobinas A_1 e A_2 na eletroforese em acetato de celulose (pH 9,1), em percentuais normais (97% a 99% de A_1 e 1% a 3% de A_2).

Traço sicklêmico (heterozigoto AS):

Resistência globular osmótica normal; presença das hemoglobinas A_1 , S e A_2 na eletroforese em acetato de celulose (A_1 S A_2); teste "Sickle-ID" compatível com AS.

Anemia falciforme (homozigoto SS):

Resistência globular osmótica aumentada; presença de hemácias "falcizadas", anisocitose, poiquilocitose, células em alvo e policromasia nos esfregaços sangüíneos, podendo aparecer, também, eritroblastos circulares; presença das hemoglobinas S e A_2 na eletroforese em acetato de celulose, podendo apresentar, também, hemoglobina fetal; teste "Sickle-ID" compatível com SS.

Hemoglobinopatia SC (heterozigoto SC):

Resistência globular osmótica normal ou aumentada ; presença de anisocitose e grande quantidade de células em alvo nos esfregaços sanguíneos; presença das hemoglobinas S, C e A₂ na eletroforese em acetato de celulose (pH 9,1).

Hemoglobinopatia AC (heterozigoto AC):

Resistência globular osmótica normal; presença das hemoglobinas A₁, C e A₂ na eletroforese em acetato de celulose (pH 9,1), sendo a hemoglobina C ligeiramente mais lenta que a hemoglobina A₂. Na eletroforese em gel de ágar (pH 6,2) a hemoglobina C permanece próxima do ponto de aplicação.

Hemoglobinopatia AD (heterozigoto AD):

Resistência globular osmótica normal; presença das hemoglobinas A₁ e A₂ e de uma banda eletroforética anômala na posição normalmente ocupada pela hemoglobina S na eletroforese em acetato de celulose (pH 9,1); teste "Sickle-ID" compatível com AA. Na eletroforese em gel de ágar (pH 6,2) a hemoglobina D migra juntamente com a hemoglobina A₁.

Traço talassêmico (heterozigoto AT):

Resistência globular osmótica aumentada, presença de microcitose, hipocromia, anisocitose, poiquilocitose,

alvocitose, ponteados basófilos e policromasia nos esfregaços sanguíneos; presença das hemoglobinas A_1 e A_2 na eletroforese em acetato de celulose (pH 9,1), com aumento percentual de A_2 . Aumento do índice hemoglobina A_2 /anidrase carbônica eritrocitária.

Microdrepanocitose (heterozigoto ST):

- a) tipo $\beta^S \beta^+$ - Resistência globular osmótica aumentada ; presença de microcitose, hipocromia, anisocitose, poiquilocitose, alvocitose, ponteados basófilos e policromasia nos esfregaços sanguíneos; presença das hemoglobinas A_1 , S e A_2 na eletroforese em acetato de celulose ($S > A_1 > A_2$); teste "Sickle-ID" comprovando a presença da hemoglobina S. O estudo dos genitores desse paciente revela que um deles é siclêmico e o outro é talassêmico.
- b) tipo $\beta^S \beta^0$ - Resistência globular osmótica aumentada ; presença de microcitose, hipocromia, anisocitose, poiquilocitose, alvocitose, ponteados basófilos e policromasia, nos esfregaços sanguíneos, podendo também aparecer células "falcizadas"; presença das hemoglobinas S, F e A_2 na eletroforese em acetato de celulose; teste "Sickle-ID" comprovando a presença de hemoglobinas S. O estudo dos genitores desse paciente revela que um deles é siclêmico e o outro é talassêmico.

III.5. Critério de análise dos dados obtidos

As frequências das alterações hemoglobínicas observadas na amostra de pacientes com dores ósteo-articulares foram comparadas estatisticamente com as frequências esperadas nas populações do Sul e Sudeste brasileiros.

Só foram consideradas em *associação causal* com as dores ósteo-articulares as alterações hemoglobínicas cuja frequência na amostra examinada se mostrou superior à esperada na população geral. Já as alterações hemoglobínicas cuja frequência na amostra examinada não diferiu significativamente da encontrada na população geral foram consideradas em *associação casual* (e não causal) com as dores ósteo-articulares.

IV. RESULTADOS

Foram diagnosticados, na amostra examinada, 27 pacientes com alterações hemoglobínicas (25 negróides e 2 caucásides), cujos dados clínicos são apresentados na Tabela IV.1.

A Tabela IV.2 mostra a distribuição das alterações hemoglobínicas de acordo com a idade dos pacientes.

Na Tabela IV.3 são apresentadas as frequências dos fenótipos hemoglobínicos observadas entre pacientes caucásides e negróides. Já na Tabela IV.4, os pacientes negróides com alterações hemoglobínicas são grupados de acordo com a idade, em duas classes ($>$ e $<$ de 15 anos).

Na Tabela IV.5 e na Figura IV.1 as frequências das alterações hemoglobínicas observadas na amostra de pacientes com dores ósteo-articulares são comparadas com as frequências esperadas nas populações do Sul e Sudeste brasileiros.

Nas Figuras IV.2 a IV.6 são apresentados os resultados das eletroforeses de hemoglobinas em fitas de acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1.

NOME	SEXO	COR	IDADE	PROCEDÊNCIA	OUTRAS ALTERAÇÕES ASSOCIADAS	FENÓTIPO HEMOGLOBÍNICO
M.A.S.	F	PT	10	Pediatria	-	AC
M.A.C.	F	PT	2	Pediatria	-	AC
R.D.P.	M	PT	2	Pediatria	Anemia	SS
R.A.S.	F	Pd	10	Pediatria	Anemia	SS
R.C.S.	F	Pd	9	Pediatria	Anemia	SS
J.M.S.	M	Pt	13	Pediatria	-	AS
M.L.V.	F	Pd	11	Pediatria	-	AS
V.M.	M	Pd	5	Triagem	Dores abdominais, anemia	SS
R.A.L.	M	Pd	9	Pediatria	Sopro mitral	AC
U.C.S.	M	Pt	14	Triagem	-	AS
M.M.S.	F	Pd	19	Emergência	Icterícia, anemia	SS
D.C.A.	M	Bca	17	Clínica Médica	Meningite Asséptica	AD
M.J.	M	Pd	16	Clínica Médica	-	SC
C.O.S.	F	Pd	19	Clínica Médica	Anemia	SS
J.C.F.	M	Pd	32	Triagem	Úlcera de M. I., anemia	SS
G.G.	F	Pd	25	Clínica Médica	-	AS
N.P.A.	F	Pd	26	Clínica Médica	Fraqueza, anemia	SS
A.P.S.	M	Pt	33	Triagem	Anemia	SC
C.A.S.	F	Pt	44	Clínica Médica	-	AC
B.P.	M	Pt	26	Clínica Médica	-	AS
M.L.S.	F	Pt	34	Emergência	Anemia	SS
O.C.	F	Pt	29	Triagem	Úlcera de M. I., anemia	SS
O.D.	M	Pd	46	Triagem	Moléstia de Hansen?	AC
V.T.S.	M	Pd	31	Triagem	-	AS
R.F.H.	F	Pt	60	Triagem	-	AS
C.A.S.	F	Pt	59	Triagem	-	AC
A.S.S.	F	Bca	55	Triagem	-	AT

TABELA IV.1 - Caracterização clínica dos pacientes com alterações hemoglobínicas.

IDADE (anos)	FENÓTIPO HEMOGLOBÍNICO						TOTAL
	AS	SS	SC	AC	AD	AT	
0- 5	-	1	-	-	-	-	1
5-10	-	2	-	1	-	-	3
10-15	3	1	-	2	-	-	6
15-25	-	2	1	-	1	-	4
25-50	3	4	1	2	-	-	10
> 50	1	-	-	1	-	1	3
TOTAL	7	10	2	6	1	1	27

TABELA IV.2 - Distribuição das alterações hemoglobínicas de acordo com a idade dos pacientes.

FENÓTIPO HEMOGLO- BÍNICO	GRUPO RACIAL					
	Negróide		Caucasóide		TOTAL	
	Número	%	Número	%	Número	%
AA	101	80,16	72	92,30	173	86,50
AS	7	5,56	-	-	7	3,50
SS	10	7,93	-	-	10	5,0
SC	2	1,59	-	-	2	1,0
AC	6	4,76	-	-	6	3,0
AD	-	-	1	1,35	1	0,5
AT	-	-	1	1,35	1	0,5
TOTAL	126	100	74	100	200	100

TABELA IV.3 - Frequências dos fenótipos hemoglobínicos observadas entre pacientes caucasóides e negróides.

FENÓTIPO HEMOGLO- BÍNICO	FAIXA ETÁRIA (anos)					
	< 15		> 15		TOTAL	
	Número	%	Número	%	Número	%
AA	36	78,26	65	81,25	101	80,16
AS	3	6,52	4	5,00	7	5,56
SS	4	8,70	6	7,50	10	7,93
SC	-	-	2	2,50	2	1,59
AC	3	6,52	3	3,75	6	4,76
TOTAL	46	100	80	100	126	100

TABELA IV.4 - Distribuição das alterações hemoglobínicas em pacien-
tes negróides com mais e com menos de 15 anos.

GRUPO RACIAL	FENÓTIPO HEMOGLOBÍNICO	Frequência observada na amostra de pacientes com dores ósteo-articulares.	Frequência esperada da nas populações do Sul e Sudeste brasileiros.	$\chi^2_{(1)}$
	AS	5,56 %	6,6 %	0,221; 0,50 < P < 0,70
NEGRÓIDE	SS	7,93 %	0,11 %	702,41; P <<< 0,001
	SC	1,59 %	0,03 %	101,89; P << 0,001
	AC	4,76 %	1,0 %	18,012; P < 0,001
CAUCASÓIDE	AT	1,30 %	1,2 %	0,014; 0,90 < P < 0,95
	AD	1,35 %	0,31 %	2,597; 0,10 < P < 0,20

* Vide Discussão.

TABELA IV.5 - Comparação das frequências das alterações hemoglobínicas observadas na amostra de pacientes com dores ósteo-articulares com as frequências esperadas nas populações do Sul e Sudeste brasileiros.

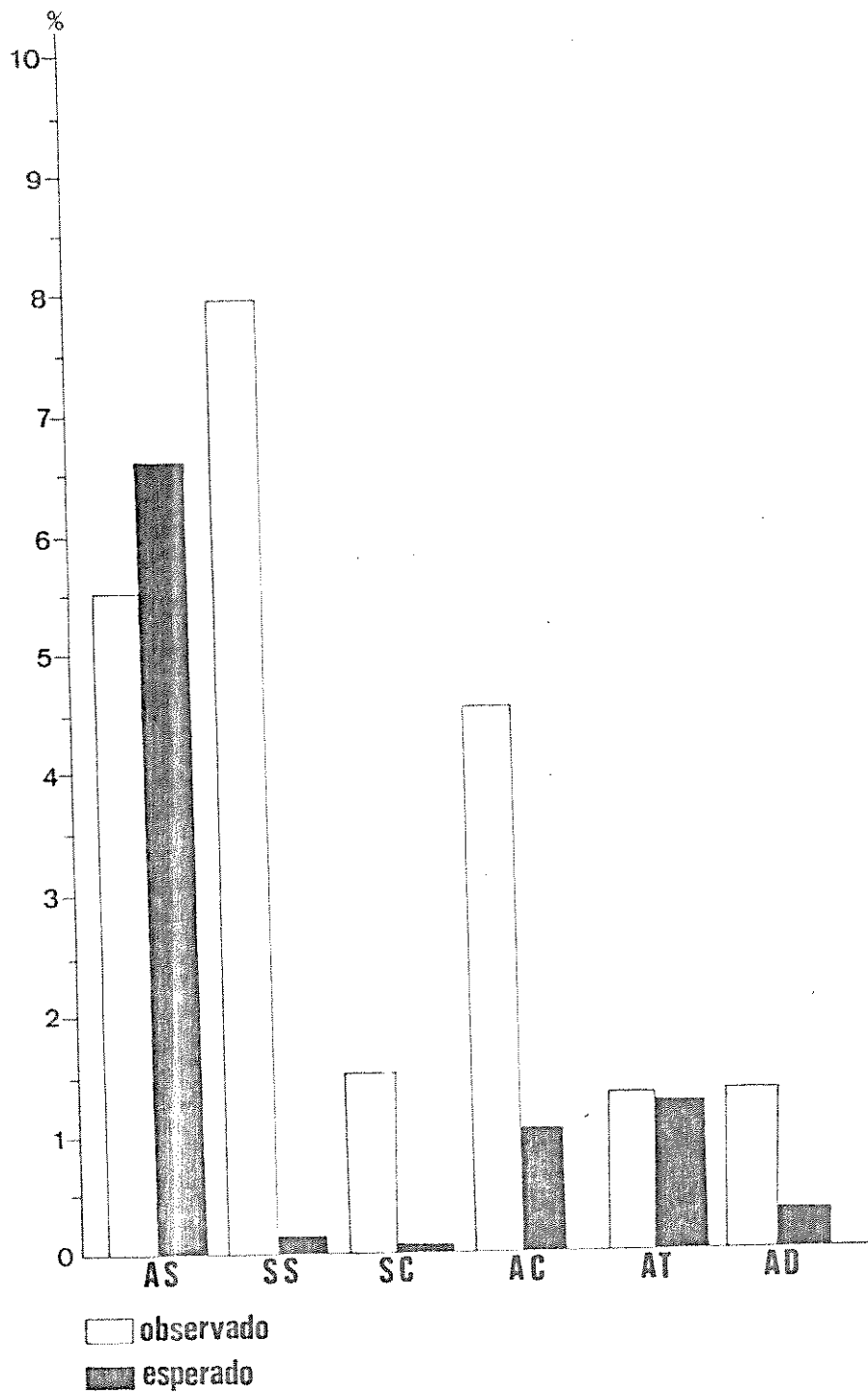


FIGURA IV.1 - Comparação das freqüências das alterações hemoglobínicas observadas na amostra de pacientes com dores ósteo-articulares com as esperadas nas populações do Sul e Sudeste brasileiros.

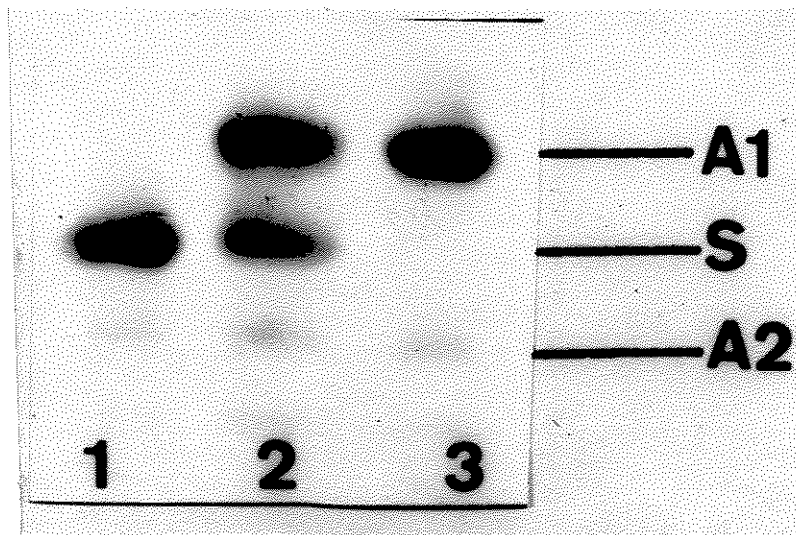


FIGURA IV.2 - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1 : 1. homozigoto SS, 2. heterozigoto AS e 3. homozigoto AA (normal).

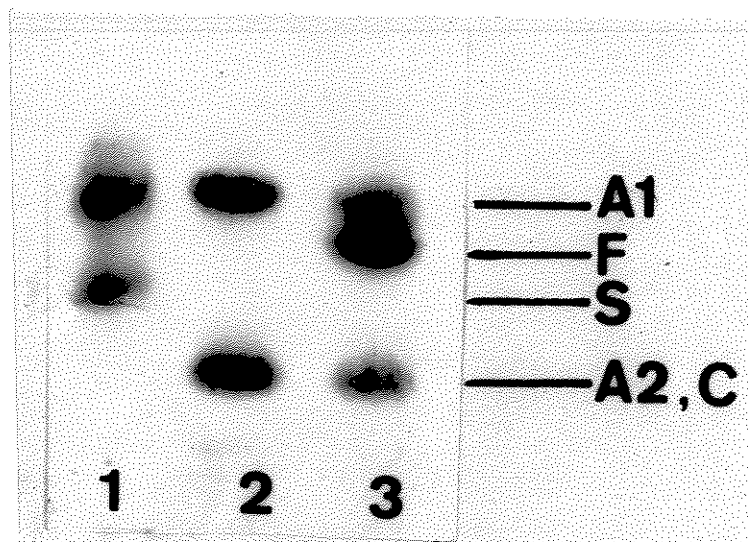


FIGURA IV.3 - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1: 1. heterozigoto AS, 2. heterozigoto AC e 3. padrão A₁, F, C.

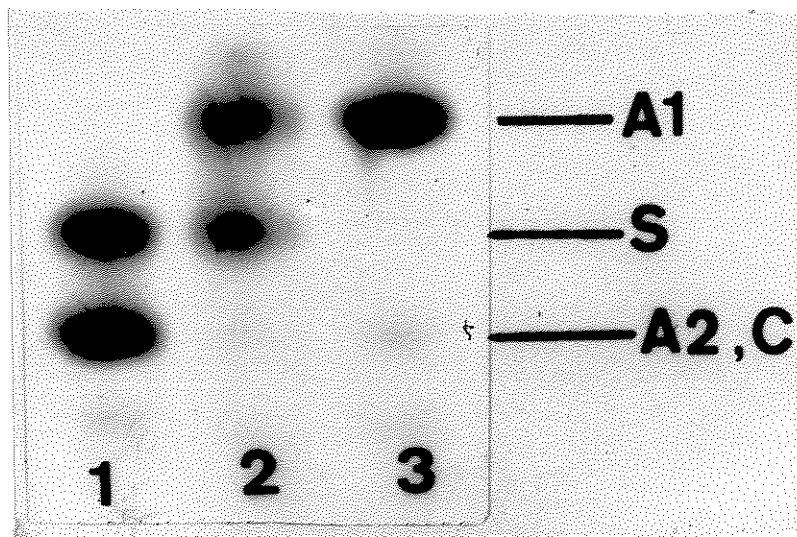


FIGURA IV.4 - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1: 1. heterozigoto SC, 2. heterozigoto AS e 3. homozigoto AA (normal).

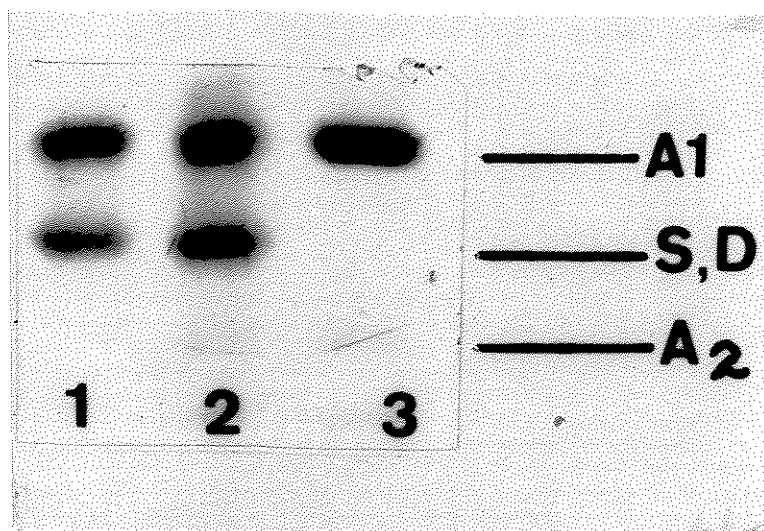


FIGURA IV.5 - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1: 1. heterozigoto AS, 2. heterozigoto AD e 3. homozigoto AA (normal).



FIGURA IV.6 - Eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1: 1 e 3. homozigotos AA (normais) e 2. heterozigoto AT. Observar o aumento de HbA₂ no talassêmico.

V - DISCUSSÃO

Ao analisar os resultados obtidos no presente trabalho, chama a atenção, em primeiro lugar, a alta frequência encontrada de alterações hemoglobínicas (19,84% entre os negróides, 2,7% entre os caucasóides e 13,5% na amostra total). Cumpre verificar, no entanto, dentre as diversas alterações diagnosticadas, quais estão, de fato, associadas às dores ósteo-articulares e quais apareceram casualmente na amostra.

Para tanto, a frequência de cada uma dessas alterações hemoglobínicas deve ser comparada com a observada na população geral, considerando-se em associação com as dores ósteo-articulares apenas aquelas que apareceram na amostra em proporção superior à esperada casualmente. Esse tipo de averiguação é muito usado no estudo clínico das hemoglobinopatias, como pode ser verificado nos trabalhos de ARAÚJO (1965), WIERNICK (1968), ATKINSON (1969), SERJEANT e GUERI (1970), CEZAR *et al* (1974), SERJEANT (1974), RAMALHO e BEIGUELMAN (1977), PINTO JR. (1978), RAMALHO (1979a), RAMALHO *et al* (1980), entre outros.

Consideremos, pois, inicialmente, a proporção de heterozigotos do gene da hemoglobina S (heterozigotos AS) observada no presente estudo entre 126 negróides com intensas dores ósteo-articulares. Tal proporção (5,56%) não difere

significativamente daquelas que são usualmente encontradas entre negróides do Sul e Sudeste brasileiros, pois a frequência do traço siclêmico nessas populações pode ser estimada em 6,6% quando se reúnem os dados a respeito de 4.499 indivíduos investigados por TONDO e SALZANO (1962), ARAÚJO (1965), SALZANO *et al* (1968), CEZAR *et al*. (1974), RAMALHO (1976b, 1979a) e RAMALHO *et al* (1976).

Tal achado não permite, portanto, que se estabeleça, na amostra examinada, uma associação entre o traço siclêmico e a dor ósteo-articular, uma vez que os sete heterozigotos AS podem ter sido diagnosticados casualmente. Em outras palavras, o presente estudo não sugere que o traço siclêmico seja uma causa freqüente de dor ósteo-articular intensa em nosso meio. Isso não exclui, evidentemente, a possibilidade de um ou outro heterozigoto AS apresentar, esporadicamente, dor ósteo-articular, como indicam os trabalhos de SMITH e KREVANS (1959), STEWART (1960), RATCLIFF e WOLF (1962), BLAU e HAMERMAN (1967), HADDAD (1967), LAROCHE *et al* (1967), DOURY (1970), GREENFIELD (1970), NOSNY *et al* (1970), SERJEANT (1974), RAMALHO (1979a), entre outros.

É curioso mencionar, por outro lado, que RESTREPO e MOORE, citados por SERJEANT (1974), relataram uma menor incidência de febre reumática entre portadores do traço siclêmico. Esses autores observaram, também, que o crescimento de alguns tipos de estreptococos β hemolíticos era inibido em placas de ágar-sangue contendo hemoglobina S.

Já o encontro de 10 homozigotos do gene da hemo-

4187/BC

globina S (homozigotos SS) dentre os 126 negróides examina - dos (7,93%) não pode, de forma alguma , ser atribuído ao aca - so. De fato, se a freqüência de heterozigotos AS pode ser estimada em 6,6% entre negróides do Sul e do Sudeste brasi - leiros, é fácil deduzir que a freqüência do gene da hemoglo - bina S (q) pode ser estimada, pelo método da contagem gênica, em 3,3% nessas populações (BEIGUELMAN, 1981). Conseqüen - temente, a freqüência de nascimento de homozigotos SS entre negróides do Sul e Sudeste brasileiros pode ser estimada em 0,11% (q^2), admitindo a população em equilíbrio de Hardy e Weinberg. Tal valor, que também pode ser calculado pela teo - ria das probabilidades ($P=0,066 \times 0,066 \times 0,25 = 0,0011$), é semelhante ao estimado pela Organização Mundial da Saúde pa - ra recém-nascidos negróides brasileiros (0,16%).

Assim sendo, é fácil deduzir que a alta propor - ção de homozigotos SS encontrada no presente estudo, propor - ção essa 72 vezes maior que a esperada entre recém- nascidos negróides, é devida a uma forte associação causal entre essa hemoglobinopatia e a dor ósteo-articular intensa em nosso meio. Tal achado assume proporções ainda mais significativas quan - do se lembra que a anemia falciforme é freqüentemente fatal ainda na infância, diminuindo de prevalência entre negróides de maior faixa etária.

Chama a atenção o fato de a anemia falciforme ter sido encontrada em alta proporção não apenas entre negróides com menos de 15 anos (8,7%), mas também em pacientes de maior faixa etária (7,5%). Pesando esse fato contra a freqüente se

leção precoce dos homozigotos SS, salta à vista que essa hemoglobínopatia ocupa, realmente, lugar de grande destaque dentre as diversas causas de dor ósteo-articular do negroide adolescente e adulto jovem.

É interessante comentar que entre os clínicos brasileiros é comum a falsa idéia de que a totalidade dos pacientes com a anemia falciforme falecem antes dos 10 anos de idade e que essa doença constitui, portanto, um problema exclusivo da infância. No presente trabalho, por exemplo, foram diagnosticados seis pacientes com mais de 15 anos de idade, quatro dos quais com mais de 25 anos (26, 29, 32 e 34 anos). Da mesma forma, no Ambulatório de Hemoglobínopatias Hereditárias do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, estão sendo seguidos vários pacientes adultos com anemia falciforme, alguns dos quais, inclusive, casados e com filhos (RAMALHO, dados não publicados).

Embora a anemia falciforme seja de difícil tratamento, algumas das suas complicações, potencialmente letais, não o são. Em consequência disso, verifica-se que a taxa de sobrevivência dos indivíduos com essa hemoglobínopatia está diretamente associada ao grau de atendimento médico recebido, bem como ao nível sócio-econômico das populações às quais pertencem. Assim, enquanto que em Zâmbia cerca da metade dos pacientes com anemia falciforme morrem antes dos três anos de vida (BARCLAY *et al*, 1970), na Rodésia, 10% desses doentes têm mais de dez anos de idade (BELL E GELFAND, 1971) e em Gana, 50% deles começam a segunda década da vida (KONOTEY

-AHULU, 1971). Já nos Estados Unidos da América do Norte e na Europa, a esperança média de vida dos homozigotos SS é, atualmente, de quarenta anos, existindo casos bem documentados de grande longevidade (CHARACHE e RICHARDSON, 1964; AACH e KISSANE, 1970; SERJEANT, 1974). Mesmo na Jamaica, SERJEANT (1970) observou em irmandades de casos tratados, uma proporção de 28% de homozigotos com mais de 30 anos.

Assim sendo, é lamentável que a literatura nacional disponha de poucos dados a respeito da taxa de sobrevivência dos indivíduos com a anemia falciforme e com outras síndromes falcêmicas em nossas populações. Aliás, um trabalho nesse sentido está sendo realizado na população de Campinas, SP (RAMALHO, comunicação pessoal).

Outro aspecto a ser discutido é o do próprio diagnóstico da anemia falciforme. Uma vez que essa alteração patológica apresenta um quadro clínico bastante típico, causa surpresa o fato de todos os homozigotos SS da amostra, mesmo os adultos, terem sido diagnosticados pela primeira vez durante a realização do presente estudo. Segundo RAMALHO (dados não publicados), as principais razões para o encontro de homozigotos SS sem diagnóstico na população de Campinas são duas: o grande fluxo de imigrantes provenientes de Minas Gerais, Bahia e Nordeste e o atendimento desses pacientes, durante as crises, em pronto-socorros, com medicação puramente sintomática, sem investigação diagnóstica e seguimento médico regular. Lembre-se, por outro lado, que o reconhecimento desses pacientes é fundamental não apenas para a sua orientação médica, como também para o aconselhamento genético da família,

prevenindo-se a recorrência de novos casos.

Discutidos esses aspectos da hemoglobina S, vamos passar à discussão da hemoglobina C e da sua interação com a S.

A frequência de heterozigotos AC nas populações negróides do Sul e do Sudeste brasileiros pode ser estimada em 1% quando são reunidos os dados a respeito de 4.684 indivíduos investigados por TONDO e SALZANO (1962), ARAÚJO (1965) SALZANO *et al* (1968), RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) e PINTO JR. (1978). Tal frequência é significativamente menor que a encontrada entre os 126 negróides examinados no presente estudo (4,76%), o que sugere uma associação entre essa alteração hemoglobínica e as dores ósteo-articulares.

Da mesma forma, a proporção de heterozigotos SC na amostra examinada (1,59%) foi muito superior à esperada ao acaso. De fato, se a frequência do gene da hemoglobina S (q) pode ser estimada em 3,3% e a da hemoglobina C (r) em 0,5%, é lógico que a incidência de heterozigotos SC entre negróides do Sul e Sudeste brasileiros pode ser estimada em 0,03% (2 qr) (BEIGUELMAN, 1981). Assim sendo, a proporção de heterozigotos SC observada entre os negróides examinados foi 53 vezes maior que a observada na população geral, o que indica uma forte associação causal entre essa hemoglobinopatia e as dores ósteo-articulares.

Cumpramos aqui discutir um aspecto importante. As crises dolorosas comprometendo ossos e articulações fazem

parte do quadro clínico da anemia falciforme e da hemoglobinopatia SC, como foi apresentado na parte introdutória deste trabalho. Associando esse fato às elevadas proporções de homozigotos SS e de heterozigotos SC observadas entre os 126 negróides examinados, proporções essas 72 e 53 vezes maiores que as esperadas ao acaso, respectivamente, não há dúvida em classificar essas hemoglobinopatias como *agentes etiológicos primários* das dores ósteo-articulares apresentadas pelos 12 pacientes diagnosticados (10 SS e 2 SC). Pode-se dizer, portanto, que essas duas síndromes falcêmicas foram responsáveis juntas por 9,52% dos casos de dores ósteo-articulares na subamostra negróide.

Já no que diz respeito aos heterozigotos AC, embora a sua proporção tenha sido 4,76 vezes maior entre os 126 negróides examinados do que a esperada ao acaso, a associação com as dores ósteo-articulares deve ser interpretada de forma cautelosa. Isso porque os dados de literatura não atribuem alterações clínicas importantes aos heterozigotos AC, embora o façam aos homozigotos CC (WINTROBE , 1972 ; MOORE , 1973). A associação entre o fenótipo AC e as dores ósteo-articulares pode ser, por exemplo , indireta , com essa alteração hemoglobínica favorecendo o aparecimento de outra condição patológica que determina dor ósteo-articular. É possível, também, que a hemoglobina C tenha maior prevalência em determinados grupos negróides nos quais alguma patologia que determine dor ósteo-articular também seja mais freqüente. Lembre-se, por exemplo, que a hemoglobina C é menos disseminada nas populações africanas que a hemoglobina S,

sendo mais freqüente na Africa Ocidental, uma vez que se atribui ao Rio Níger o papel de barreira geográfica contra a disseminação dessa hemoglobina anômala (SERJEANT, 1974).

De qualquer forma, o problema da associação entre a hemoglobina C e as dores ósteo-articulares encoraja maiores investigações, o que, aliás, já foi programado pela Unidade de Hemoglobinopatias Hereditárias do Departamento de Genética Médica da UNICAMP. É curioso mencionar, no entanto, que RAMALHO (dados não publicados), examinando 581 negróides internados nas diferentes enfermarias do Hospital das Clínicas da UNICAMP encontrou 2,58% de heterozigotos AC. Dentre os pacientes examinados, 45 apresentavam dores ósteo-articulares intensas, 4,4% dos quais eram heterozigotos AC. Da mesma forma, enquanto que na amostra total examinada por aquele autor foram encontrados 1,2% de homozigotos SS e 1,03% de heterozigotos SC, na subamostra com dor ósteo-articular a proporção desses indivíduos aumentava para 4,4% e 2,2%, respectivamente.

Terminando a discussão das alterações hemoglobínicas observadas entre os pacientes negróides, cumpre mencionar que não foi diagnosticado nenhum caso de anemia microdrepanocítica. Dois pacientes revelaram, na eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, as hemoglobinas S, A₁ e A₂ (S>A₁>A₂), sugerindo a microdrepanocitose tipo $\beta^S \beta^+$. A investigação desses pacientes revelou tratarem, na verdade, de homozigotos SS com transfusão sangüínea recente.

Passando à discussão dos dados obtidos na sub-

amostra caucasóide, chama a atenção o fato de não ter sido encontrada nenhuma alteração hemoglobínica em associação evidente com a dor ósteo-articular. Isso porque dentre os 74 pacientes examinados foram encontrados 1,35% de talassêmicos heterozigotos e 1,35% de indivíduos AD, proporções essas que não diferem das esperadas ao acaso. Realmente, quando se reunem os dados a respeito de 1.606 indivíduos examinados por ARAÚJO (1965) e RAMALHO (1975a) e de 1.358 indivíduos examinados por RAMALHO (1975a) e FREITAS (1980), pode-se estimar a frequência de heterozigotos AD e AT em, respectivamente, 0,31% e 1,2% entre caucasóides do Sul e Sudeste brasileiros.

Os dados obtidos indicam, portanto, que as alterações hemoglobínicas não devem ser uma causa freqüente de dor ósteo-articular intensa entre caucasóides em nosso meio. Considerando, no entanto, a alta taxa de miscigenação entre caucasóides e negróides observada em nossas populações, parece pouco ético que se exclua a investigação das hemoglobinopatias em caucasóides com dores ósteo-articulares. Lembre-se, além disso, que as populações do Estado de São Paulo também receberam o gene da hemoglobina S trazido pelos imigrantes italianos, sobretudo sicilianos, turcos e árabes (RAMALHO, 1979a).

RAMALHO (1979a) cita em seu trabalho um caso muito interessante de uma sua paciente caucasóide de 24 anos, portadora do traço siclêmico, que vinha apresentando já há vários meses uma acentuada limitação dolorosa e mecânica das articulações dos ombros e cujo exame radiológico havia reve-

lado a existência de deformidades bilaterais de cabeça de úmero, com áreas hiperlucidas epifisárias, além de áreas de esclerose óssea. O ortopedista que a estava tratando havia pensado em siclemia, mas afastado essa hipótese diagnóstica, sem nem mesmo pedir a eletroforese de hemoglobinas, pelo simples fato de a paciente ser caucasóide, descendente não miscigenada de italianos.

É interessante discutir, por fim, o fato de a proporção de pacientes do sexo feminino ter se mostrado, na amostra examinada, superior à do sexo masculino (128 mulheres para 72 homens), embora não tenha sido feita nenhuma seleção prévia nesse sentido. Tal fato pode ser atribuído, fundamentalmente, a duas possibilidades: ou as dores ósteo-articulares intensas são mais frequentes, em nosso meio, em pacientes do sexo feminino, ou, o que é mais provável, as mulheres com tal tipo de manifestação clínica procuram com maior frequência atendimento médico. De qualquer forma, é interessante lembrar que as hemoglobinopatias hereditárias são determinadas por genes autossômicos, incidindo igualmente nos dois sexos.

VI. CONCLUSÕES

O presente trabalho permitiu as seguintes conclusões:

1. A anemia falciforme e a hemoglobinopatia SC são causas freqüentes de dor ósteo-articular intensa em pacientes negróides do nosso meio. Essas duas hemoglobinopatias foram responsáveis, juntas, por 9,52% dos casos de dores ósteo-articulares na subamostra negróide examinada.
2. A anemia falciforme é uma causa importante de dores ósteo-articulares não apenas em crianças negróides do nosso meio, mas, também, em pacientes com mais de 15 anos de idade.
3. A investigação das hemoglobinopatias hereditárias deveria ser feita rotineiramente em nosso meio em pacientes que procuram os serviços médicos de urgência com intensas dores ósteo-articulares. Essa investigação diagnóstica é fundamental não apenas para a orientação médica do paciente, mas, também, para o aconselhamento genético da família, prevenindo a recorrência de novos casos.
4. A alta freqüência de heterozigotos AC na subamostra negróide examinada sugere uma associação entre essa hemoglo

binopatia e as dores ósteo-articulares, associação essa que pode ser, inclusive, indireta. Os dados obtidos no presente trabalho encorajam maiores investigações sobre o assunto.

5. O traço siclêmico não deve ser uma causa freqüente de dores ósteo-articulares intensas em nosso meio. Isso não exclui, no entanto, a possibilidade de um ou outro heterozigoto AS apresentar, esporadicamente, dores ósteo-articulares.

6. As alterações hemoglobínicas não devem ser uma causa im-
portante de dores ósteo-articulares intensas na fração
caucasóide das nossas populações. Considerando, no entan-
to, a alta taxa de miscigenação observada em nosso meio ,
bem como o fato de a hemoglobina S também ter sido intro-
duzida em nossas populações por imigrantes não-negróides,
seria antiético excluir a investigação das hemoglobinopa-
tias em pacientes caucasóides com dores ósteo-articulares
de etiologia a esclarecer.

VII. RESUMO

Tendo em vista a importância da hemoglobina S em nossas populações, é lamentável que a literatura nacional disponha de poucos dados a respeito da participação das síndromes falcêmicas (anemia falciforme, hemoglobinopatia SC, microdrepanocitose, traço siclêmico, etc.) na etiologia das dores ósteo-articulares em nosso meio.

No presente trabalho, a presença da hemoglobina S e de outras alterações hemoglobínicas foi investigada em uma amostra de 200 pacientes (126 negróides e 74 caucasóides) que procuraram os serviços médicos do Hospital das Clínicas da UNICAMP, durante o ano de 1980, por apresentarem manifestações ósteo-articulares dolorosas importantes pela intensidade, não traumáticas e de etiologia a esclarecer.

De cada paciente foi retirada uma amostra de 5ml de sangue venoso, que foi submetida à eletroforese de hemoglobinas em acetato de celulose, tampão tris-glicina pH 9,1, ao teste de resistência globular osmótica e, se houvesse indicação, ao estudo da morfologia da série vermelha nos esfregaços sangüíneos, ao teste "SICKLE-ID" e à eletroforese de hemoglobinas em gel de ágar, tampão citrato pH 6,2.

A freqüência de cada uma das alterações hemoglo-

bínicas encontradas foi comparada com a sua freqüência na população geral, considerando-se em associação com as dores ósteo-articulares apenas as hemoglobinopatias que apareceram na amostra em proporção superior à esperada casualmente.

Os homozigotos SS e os heterozigotos SC apareceram na amostra em proporções 72 e 53 vezes maiores, respectivamente, que as esperadas ao acaso. Essas duas síndromes falcêmicas foram responsáveis, juntas, por 9,52% dos casos de dores ósteo-articulares na subamostra negróide.

A freqüência de heterozigotos AS não diferiu significativamente da esperada em populações negróides do Sul e Sudeste brasileiros, o que indica que o traço siclêmico não deve ser uma causa freqüente de dores ósteo-articulares intensas em nosso meio.

Já a freqüência de heterozigotos AC mostrou - se maior que a esperada casualmente, o que sugere uma associação entre esse fenótipo hemoglobínico e as dores ósteo-articulares, associação essa que pode ser, inclusive, indireta. Os dados obtidos encorajam maiores investigações sobre o assunto.

Na subamostra caucasóide não foram encontradas alterações hemoglobínicas em associação com as dores ósteo-articulares, uma vez que a freqüência de portadores do traço talassêmico e a de heterozigotos AD não diferiram das esperadas ao acaso.

BIBLIOGRAFIA

01. AACH, R. e KISSANE, J. - "A patient with sickle cell anemia surviving forty eight years". *Am. J. Med.*, 48: 226-234, 1970.
02. ALLISON, A.C. - "The distribution of the sickle cell trait in East Africa and elsewhere and its apparent relationship to the incidence of subtertian malaria". *B. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*; 48: 312-318, 1954.
03. ARAÚJO, J.T. "Hemoglobinas anormais em São Paulo. Métodos de estudo. Incidência." *J. Bras. Med.*, 9: 1264 - 1283, 1965.
04. ATKINSON, D.W. - "Sickling and hematuria". *Blood*, 34 : 736-737, 1969.
05. BARCLAY, G.P.T.; HUNSTSMAN, R.G. e ROBB, A. - "Population screening of young children for sickle cell anemia in Zambia". *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 64:733-739, 1970.
06. BAUMGARD, S.H. e LEACH, R.E. - "Avascular necrosis of the femoral head secondary to sickle cell disease. Case reports of two caucasian sisters." *Clin. Orthop.* 69: 207-212, 1970.

07. BEIGUELMAN, B. - "Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações". São Paulo, EDART, Coleção Genética Médica Vol. 2, 1981.
08. BELL, R. M. e GELFAND, M. - "Sickle cell disease in Rhodesia". *J. Trop. Med. Hyg.*, 74: 148-153, 1971.
09. BERTLES, J. F. - "Hemoglobin interaction and molecular basis of sickling". *Arch. Intern. Med.* 133:538-543,1974.
10. BLAU, S. e HAMERMAN, D. - "Aseptic necrosis of the femoral heads in sickle hemoglobin disease". *Arthr.Rheum.*, 10: 397-402, 1972.
11. CAPLIN, I.; HAYNES, J. T. e LLOYD, F. - "Incidence and significance of sickle-cell trait and asthma". *Ann. Allergy*, 30: 623-626, 1972.
12. CEZAR, P. C.; MIZUSAKI, K.; PINTO JR., W.; OPRMOLLA, D. W. A. & BEIGUELMAN; B. - "Hemoglobina S e lepra". *Rev. Bras. Pesq. Med. e Biol.*, 7: 151-167,1974.
13. CHARACHE, S. e RICHARDSON, S. N. - "Prolonged survival - of a patient with sickle cell anemia". *Arch. Int. Med.*, 133: 844-849, 1964.
14. COMINGS, D. E. - The hemoglobinopathies and thalassemia". In: GOODMAN, R. M. (ed.)". *Genetic disorders of man*" , Boston, Little & Brown, p. 143-197, 1970.

15. COOLEY, T. B. - "Von Jaksch's anemia". *Amer. J. Dis. Child.*; 33: 786, 1927.
16. COOLEY, T. B. e LEE , P. - "A serie of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes". *Trans. Amer. Pediat. Soc.*, 37: 29, 1925.
17. COOPER, M. R. e TOOLE, J.F. "Sickle-cell trait: benign - or malignant?" *Ann. Int. Med.*, 77: 997-998, 1972.
18. COSTA, F. F. - "*Atividade antifalcêmica de substâncias químicas*". Tese de Mestrado - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, 1979.
19. CROSBY, W.H. "Letter to the editor". *Blood*, 39: 298 , 1972.
20. CROSBY, W. H. e CONRAD, M. E. - "Iron balance in talassemia minor". *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 119: 616, 1964.
21. DACIE, J. V. e LEWIS, S.M. - "*Hematologia pratica*"., 2ª. ed., Barcelona, Toray, 1970.
22. DEAN, J. e SCHECHTER, A. N. - "Sickle-cell anemia: molecular and cellular basis of therapeutic approaches". *N. Engl. J. Med.*, 299: 752-763, 1978.
23. DIGGS, L. W. - "Bone and joint lesion in sickle-cell disease". *Clin. Orthop.*, 52: 119-143, 1967.

24. DOURY, P. - "Osteonecrose aseptique de la tête fémorale et drépanocytose chez une marocaine". *Sem.Hôp. Paris*, 46: 204-209, 1970.
25. EBOG, W. W. - "Avascular necrosis of the femoral head associated with hemoglobinopathy". *Trop. Geogr. Med.*, 29: 19-25, 1977.
26. FINCH, J. T.; PERUTZ, M. F.; BERTLES, J. F. e DÖBLER, J. "Structure of sickled erythrocytes and sickle cell hemoglobin fibers". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 70: 718-722, 1973.
27. FREITAS, E. M. - "*Detecção de portadores do traço talasêmico em uma amostra de caucasóides de Porto Alegre, R.S.* Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio - Grande do Sul, 1980.
28. GREENFIELD, G.B. - "Aseptic necrosis of the femoral heads occurring in sickle cell trait". *Chicago Med. Sch. Quart.*, 29: 227-231, 1970.
29. HADDAD, R. J. - "Sickle-cell disease involvement of the hip and its surgical treatment". *Clin. Orthop.*, 55: 135-149, 1967.
30. HALDANE, J. B. S. - "Disease and evolution". *Ric. Sci.*; 19: 68-76, 1949.

31. HEINRICH, H. C.; GABBE, E. E.; OPPITZ, K. H. e WHANG, D. H. - "Absorption of inorganic and food iron in children with heterozygous and homozygous beta thalassemia". *Z Kinderheilkd*, 115: 1-22, 1973.
32. HOFRICHTER, J.; HENDRICKS, D. G. e EATON, W. E. - "Structure of hemoglobin S fibers: optical detection of molecular orientation in sickled erythrocytes". *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 70: 3604-3608, 1974.
33. ITANO, H.A. - "The human hemoglobins. Their properties - and genetic control." *Adv. Prot. Chem.*, 215-268, 1957.
34. JOHNSON, A.; DAVIS, T. W.; FERGUSON, A. D. e SCOTT, R.B. "Studies in sickle-cell anemia. XXXII - Roentgenographic aspects of osseous changes". *Med. Ann. D. C.*; 36: 651-654, 1967.
35. KASSIRSKY, I e ALEXEEV, G. - "*Clinical haematology*", Moscow, Mir. Publishers, 1972.
36. KONOTEY-AHULU, F. I. D. - "Computer assisted analysis of data on 1967 patients attending the sickle cell haemoglobinopathy in clinic of Korle-Bu Teaching Hospital, Accra, Ghana". *Ghana Med. J.*, 10: 241-260, 1971.
37. LAPPÉ, M.; GUSTAFSON, J. M. e ROBLIN, R. - "Ethical and social issues in screening for genetic disease." *N. Engl. J. Med.*, 286: 1129-1132, 1972.

38. LAROCHE, C.L.; CAQUET, R. e CREMER, G. - "Une localiza -
tion atypique d'ostéo-nécrose drépanocytaire." *La Se-
maine Pratique*, 43: 1502-1505, 1967.
39. LOUDERBACK, A.L.; YOUHNE, Y.; FONTANA, A. & NATLAND, M.
Clinical evaluation of a rapid screening test for -
sickle cell trait (S⁺) and sickle cell anemia (SS)." *Clin. Chem.*; 20: 761-764, 1974.
40. MacIVER, J.E. e WENT, L. M. - "Further observations on
abdominal haemoglobins in Jamaica." *W. Indian Med. J.*
7: 109-115, 1958.
41. MALAMOS, B.; FESSAS, P. & STAMATOYANNOPOULOS, G. - "Types
of thalassemia trait carriers as revealed by a study
of their incidence in Greece." *Br. J. Haemat.*; 8: 5 -
14, 1962.
42. MARAGOS, G. D.; GREENE, C. A.; LOMBARDO, A. J. & PFUNDT,
T. R. - "Sickle cell anemia with trombosis and gangre-
ne in all four extremities. - a case presentation." *Ne
braska State. Med. J.*: 56: 3-4, 1971.
43. MAY, A. & HUEHNS, E. R. - The mechanism and prevention of
sickling." *Br. Med. Bull.*, 32: 223-233, 1976.
44. MOORE, C. V. - "Doenças do sangue e dos órgãos hematopoé-
ticos." In: BEESON, P. B. & McDERMOTT, W. (eds.) *Trata
do de Medicina*; Rio de Janeiro, G. B., Guanabara KOO-
GAN. S.A., p.1476, 1973

45. MOSELEY, J. E. - "Patterns of bone change in sickle-cell disease." *J. Mt. Sinai. Hosp. N.Y.*, 26: 424-429, 1959.
46. MOSELEY, J. E. - "The thalassemias: variants and roentgen bone changes". *J. Mt. Sinai. Hosp.*; 29: 199-214, 1962.
47. MURAYAMA, M. - "Molecular mechanisms of the red cell - sickling." *Science*, 153: 145-149, 1966.
48. NEEL, J. V.; WEELS, T. C. & ITANO, H. A. - "Familial differences in the proportion of abdominal hemoglobin - present in the sickle-cell trait." *J. Clin. Invest.* 30: 1120-1124, 1951.
49. NOSNY, P.; PERQUIS, P.; SAGNET, H. e FILLANDEAN, G. - "L'ostéonécrose de la tête fémorale chez le drépanocytaire." *Med. Trop.*, 30: 83-90, 1970.
50. PINTO JR, W. - "Hemoglobina S e tuberculose pulmonar." Tese de Livre Docência, Universidade Estadual de Campinas, 1978.
51. RAMALHO, A. S. - "Investigação dos traços talassêmicos - beta e delta-beta em uma amostra da população estudantil de Campinas.", S. P. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, 1975a.
52. RAMALHO, A. S. - "A talassemia como causa de anemia hipocrômica e microcítica em nosso meio." *Rev. Bras. Patol. Clin.*, 11: 261-267, 1975b.

53. RAMALHO, A. S. - "Investigação genético - epidemiológica das talassemias beta e delta-beta do Estado de São Paulo". *Rev. Paul. Med.*: 88, 68-71, 1976a.
54. RAMALHO, A. S. - "Hemoglobina S em doadores de sangue - brasileiros". *Rev. Ass. Med. Bras.* 22: 467-468, 1976b.
55. RAMALHO, A. S.; NASSIM, J. R.; OLIVEIRA, J. A. e PEREIRA, D. A. - "Hemoglobina S em recém-nascidos brasileiros". *J. Ped.*, 41: 22-24, 1976.
56. RAMALHO, A. S. e BEIGUELMAN, B. - "Sickle cell trait and tuberculosis". *Ciência e Cultura.* 29:1149-1155, 1977.
57. RAMALHO, A. S. - "Unidade de Hemoglobinopatias Hereditárias". *Atualidades Médicas*, 13: 11-20, 1978a.
58. RAMALHO, A. S. - "Microdrepanocitose: diagnóstico diferencial". *Clínica Geral*, 12: 29-31, 1978b.
59. RAMALHO, A. S. - "Estudo médico de polimorfismos genéticos de importância clínica no Brasil". Tese de Livre-Docência, Universidade Estadual de Campinas. 1979_a.
60. RAMALHO, A. S. - "As alterações hemoglobínicas na prática médica". Publicação avulsa do Departamento de Genética Médica, Universidade Estadual de Campinas, 1979_b.
61. RAMALHO, A. S. e LORAND, I. G. H. - "Estudo laboratorial de uma amostra de talassêmicos brasileiros". *Rev. Bras.*

Patol. Clin., 16: 160-163, 1980.

62. RAMALHO, A. S.; PINTO JR., W.; MAGNA, L. A. e BEIGUELMAN, B. - "Talassemia e lepra". *Rev. Paul. Med.* (no prelo).
63. RATCLIFF, R. G. e WOLF, M. D. - "Avascular necrosis of the femoral head associated with sickle cell trait". *Ann. Int. Med.*, 57: 299-305, 1962.
64. RIVER, G. L.; ROBBINS, A. B. e SCHWARTZ, S. O. - "SC hemoglobin - a clinical study". *Blood*, 18: 385-416, 1961.
65. ROY, R. N. e BANERJEE, D. - "Observations on radiological changes in bone in thalassemic syndrome". *J. Indian Med. Assoc.* 57: 90-95, 1971.
66. SALZANO, F. M.; ROCHA, F. J. e TONDO, C. V. - "Hemoglobin types and gene flow in Porto Alegre". *Acta Genet.(Basel)*, 18: 449-457, 1968.
67. SCHWARTZ, A. M.; HOMER, M. J. e MacCAULEY, R. G. K. - "Bone infarction in sickle cell disease". *AJR*, 123: 1025 - 1026, 1979.
68. SEBES, J. I. e DIGGS, L. W. - "Radiographic changes of the skull in sickle cell anemia". *AJR*, 123: 373-377, 1979.
69. SERJEANT, G. R. - "The clinical features of sickle cell-disease", Amsterdam, North-Holland, 357p., 1974.

70. SERJEANT, G. R. e ASHCROFT, M.T. - "Delayed skeletal maturation in sickle cell anemia". *Bull. Johns. Hospk. Hosp.* 132: 95-102, 1973.
71. SERJEANT, G. R. e GUERI, M. - "Sickle cell trait and leg ulceration". *Br. Med. J.*, 1 : 820-824, 1970.
72. SMITH, E. W. e CONLEY, C. L. - "Clinical features of the genetic variants of sickle cell disease". *Bull. Johns. Hospk. Hosp.*; 94: 289-295, 1954.
73. SMITH, E. W. e KREVANS, J. R. - "Clinical manifestations of hemoglobin C disorders". *Bull. Johns. Hospk. Hosp.* , 104: 17-21, 1959.
74. STEWART, D. Y. - "Multiple joint lesions in a young negro adult exhibiting the sickle cell trait". *Clin. Orth.*, 16: 287-295, 1960.
75. TONDO, C. C. e SALZANO, F. M. - "Abnormal hemoglobins in Brazilian Negro population". *Amer. J. Hum. Genet.* 14: 401-409, 1962.
76. WEATHERALL, D. J. - "*Los síndromes talasémicos*". Barcelona, Toray., 315p., 1967.
77. WELLS, I. C e ITANO, H. A. - "Ratio of sickle cell anemia hemoglobin to normal hemoglobin in sicklemics". *J. Biol. Chem.*, 188: 65-74, 1951.

78. WHIPPLE , G. H. e BRADFORD, W. L. - "Mediterranean disease
thala ssemia (Erythroblastic anemia of Cooley)". *J .
Pedia t.* 9: 279-311, 1936.
79. WIERNIC K, P. H. - "Rheumatic heart disease occurring in
sickle cell disease and trait". *Sth. Med. J.*, 61: 404-
409 , 1968.
80. WINTROBE, M. M. - "*Clinical Hematology*", Philadelphia ,
Lea & Febinger, 1287 p., 1972.
81. WINSLOW , R. M. e ANDERSON, W. F. - "The hemoglobinopathies".
In: STANBURY, J. B.; WYNGAARDEN, J. B. & FRIEDRICKSON ,
D. S. (eds.). *The metabolic basis of inherited disease*.
N. YOrk, McGRAW-HILL, p. 1465-1507, 1978.
82. WORRAL , V. T. e BUTERA, V. - "Sickle-cell dactylitis".
J. Bone Joint Surg., 58: 1161-1163, 1976.