

DOENÇA FALCIFORME: Diagnóstico diferencial por biologia molecular

Camille Rayane Lessa*

Senyra Maria das Neves**

Amanda Alves da Rocha***

RESUMO

A doença falciforme é uma doença de caráter hereditário originado no continente africano devido a uma mutação no organismo humano, essa doença caracteriza-se por mutação pontual GAG-GTG no gene da globina beta da molécula da hemoglobina. O objetivo deste trabalho com base em levantamentos bibliográficos foi o de analisar os métodos laboratoriais com ênfase na biologia molecular como diagnóstico diferencial da doença falciforme bem como analisar a interação clínica do portador da doença falcêmica com os profissionais da saúde.

Palavras-chave: Anemias, doença falciforme, diagnóstico diferencial e biologia molecular.

ABSTRACT

Sickle cell disease is an hereditary disease originated in the African continent due to a mutation in the human body, this disease is characterized by a punctual mutation GAG-GTG in the beta globin gene of the hemoglobin molecule. This study was based on bibliographic surveys and aimed to analyze the laboratory methods with emphasis on molecular biology as a differential diagnosis of sickle cell disease, as also to analyze the clinical interaction of sickle cell disease patient with health professionals.

KEY WORDS: Anemia, sickle cell disease, differential diagnosis and molecular biology

1 INTRODUÇÃO

A origem da doença falciforme está relacionada a um mecanismo de auto defesa do organismo humano em relação a infecção pelo *Plasmodium falciparum* agente etiológico da malária que acometia a população do continente africano (BRASIL, 2007).

* Graduanda do curso Bacharelado em Biomedicina, Faculdade Sete de Setembro-FASET. camille_millys@hotmail.com

** Graduanda do curso Bacharelado em Biomedicina, Faculdade Sete de Setembro-FASET. senyramaria@hotmail.com

*** Orientadora: Prof^ª. MSc., Faculdade Sete de Setembro, FASETE. mandyalves765@hotmail.com

A doença falciforme foi descoberta pela primeira vez no ano de 1910, onde o cientista norte-americano James B. Herrick (1861-1954) identificou células vermelhas em formato de foice num estudante da Universidade de Granada, uma ilha da América Central (BRASIL,2014).Um marco relevante nesta descoberta é a presença da falcização do eritrócito em baixa concentração de oxigenação, levando a molécula de hemoglobina a um estado de hipóxia.

Conforme os estudos desenvolvidos por Linus Pauling (1945) observou-se que essa patologia esta relacionada à molécula da hemoglobina, pois a mesma sofrerá uma alteração conformacional na ausência de oxigênio (PFSD MOREIRA, 2013). Logo em seguida no ano de 1949 Neel afirmou que a doença falciforme é desenvolvida a partir de fatores genéticos, podendo ser diferenciada entre o traço falciforme (expressão genética do heterozigoto) e a expressão a homozigota que é a doença falciforme (BARROSO, 2013).

Já no Brasil, a doença falciforme foi disseminada pela a imigração dos negros vindo da África para o trabalho escravo e com isso houve a miscigenação da população, com este ocorrido a doença falciforme tornou-se uma doença de agravo relevante para a população. De modo a doença caracteriza-se por mutação pontual no DNA, GAG-GTG, no gene da globina beta da molécula da hemoglobina, acarretando na substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia beta. Essa alteração pontual origina uma hemoglobina mutante, a hemoglobina S - Hb-S(DINIZ,et.al., 2009).

Partindo deste pressuposto há necessidade de um diagnóstico laboratorial eficaz para detectar esta mutação pontual no portador da doença falciforme, facilitando assim o tratamento preconizado conforme as orientações do ministério da saúde- MS, como também observar a relação dos profissionais da saúde no contexto assistencial ao portador da doença falciforme. Desta forma é evidente a necessidade de que a técnica da biologia molecular favoreça o diagnóstico dos portadores falcêmicos, possibilitando o direcionamento do tratamento, permitindo de tal forma uma sobrevida e consequentemente uma qualidade de vida aos portadores desta patologia.

2 METODOLOGIA

Consiste em uma análise bibliográfica visando à obtenção de dados sobre a relevância do diagnóstico diferencial através da biologia molecular da anemia falciforme, onde foram utilizadas como referencia as palavras chave: anemias, doença falciforme, diagnóstico diferencial e biologia molecular.

As fontes mais utilizadas foram revistas científicas nacionais e internacionais nas bases de dados científicos como a SCIELO, Pubmed, Bibliomed, Bireme. Assim, essa pesquisa considerou artigos e teses publicados entre os anos de 2007 a 2015, incluindo publicações no idioma em português e inglês.

3 DESENVOLVIMENTO

A função da medula óssea esta relacionada a produção sanguínea como por exemplo as hemácias que é encontrada em abundância no organismo. Apresentando uma forma anucleada e com a função de transportar oxigênio aos tecidos através da hemoglobina, tem período de vida de 120 dias, e após este ciclo haverá substituição do numero equivalente de células destruídas, e assim, a estabilidade da massa total dos no organismo (ZAGO ; CALADO, 2013).

A hematopoese é um mecanismo dinâmico e fisiológico do organismo humano responsável pela síntese ematuration das células sanguíneas em nível de medula óssea, gerando células progenitoras para linhagem mielóide e linfóide. Logo a hematopoese abrange todos os fenômenos relacionados com a origem e com a multiplicação e a maturação das células primordiais ou precursoras das células sanguíneas (LORENZI, 2013).

As primeiras células sanguíneas do sistema hematopoiético surgem no período mesoblático na 3ª e 4ª semana de gestação, onde será formada as células iniciais do sistema vascular. Já na etapa hepato-esplênico ocorrerá a formação das células sanguíneas da serie vermelha. Portanto as células em desenvolvimento situam-se fora dos seios da medula óssea, enquanto as maduras são liberadas nos espaços sinusais e na microcirculação medular e, a partir daí, na circulação geral (A.V. HOFFBRAND, et.al., 2013).

Nas hemácias é encontrada a hemoglobina que é uma proteína que se apresenta com pigmentação avermelhada com função de oxigenar e nutrir as células do organismo, a mesma é composta por íon de ferro que irá forma o grupo heme da hemoglobina. O ferro do heme chega a célula formadora da hemoglobina ou eritroblasto ligado á sua proteína transportadora a siderofinina ou trasnferritina (LORENZI, 2013).

Na formação do grupo heme é necessária a participação de enzimas como a protoporfirina que vai se ligar ao ferro para originar a cadeia alfa- α e cadeias β da hemoglobina. No final do

processo, a protoporfirina combina-se com o ferro no estado ferroso para formar o heme, cada molécula de heme; combina-se com uma cadeia de globina, formando um tetramero de cadeia de globina (A.V. HOFFBRAND, et.al., 2013).

3.1 Doença falciforme

A doença falciforme é uma doença de caráter hereditário originada no continente africano devido a uma mutação para combater a malária que acometerá aquela população. A malária responsável em desenvolver a doença falciforme. É considerada uma doença crônica de grande relevância para a saúde pública porque atinge tanto negros como os brancos devido a grande miscigenação dos povos brasileiro.

A doença é considerada uma anemia hemolítica crônica caracterizada pela tendência das moléculas de hemoglobina se polimerizar, levando à formação de hemoglobina anormal que, na forma não oxigenada, é polimerizada e leva à falcização da hemácia (MAGALHÃES PKR, et. al., 2009), resultando em um processo vaso oclusivo devido à hemólise das hemácias.

Segundo BRUNETTA DM, et. al., (2010) o mecanismo fisiopatológico da anemia falciforme surge a partir da substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 (seis) da cadeia beta da globina, levando à formação de hemoglobina anormal que, na forma não oxigenada, é polimerizada e leva à falcização da hemácia.

3.2 Fisiopatologia da doença falciforme

O processo fisiopatológico da doença falciforme está relacionado à substituição pontual das bases nitrogenadas no DNA, onde ocorre a substituição da adenina por timina, sintetizando a valina ao invés do ácido glutâmico caracterizando a formação da hemoglobina S- Hb S.

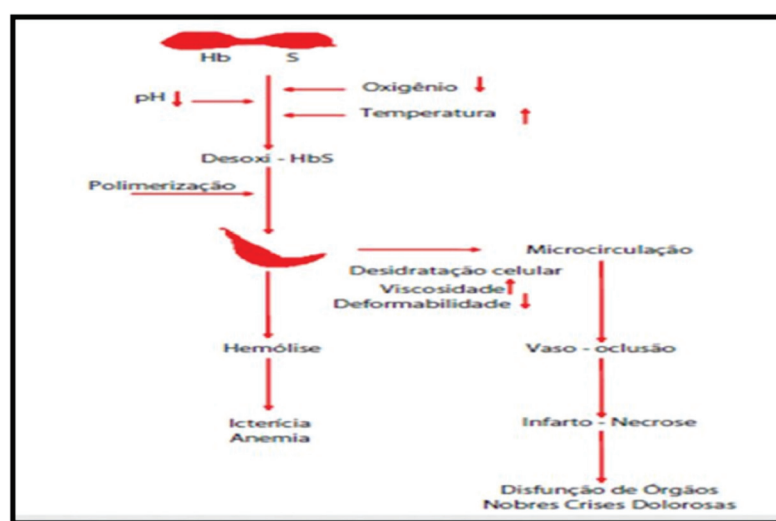
Para BRASIL(2007), a Hb S tem uma característica química especial, em situações de ausência ou diminuição da tensão de oxigênio, provoca a sua polimerização, alterando drasticamente a morfologia da hemácia, que adquire o formato de foice.

Essa polimerização só é possível devido a valina responsável em formar pequenos agregados de hemoglobina sob a ausência de oxigenação dando origem a Hb S da doença falciforme. Logo a subs-

tituição desses aminoácidos poderá alterar a estrutura da molécula, de modo com a entrada da valina nesta posição favorece a polimerização sob condições de baixo teor de oxigênio (DR DAGA, 2009).

As hemácias falcizadas dificultam a circulação sanguínea, provocando vaso oclusão e infarto na área afetada. Consequentemente, esses problemas resultam em isquemia, dor, necrose e disfunções, bem como em danos permanentes aos tecidos e órgãos, além da hemólise crônica (BRASIL, 2007). A figura 1 mostra o processo fisiopatológico da doença falciforme.

FIGURA 1 - Visão esquemática da fisiopatologia da doença falciforme.

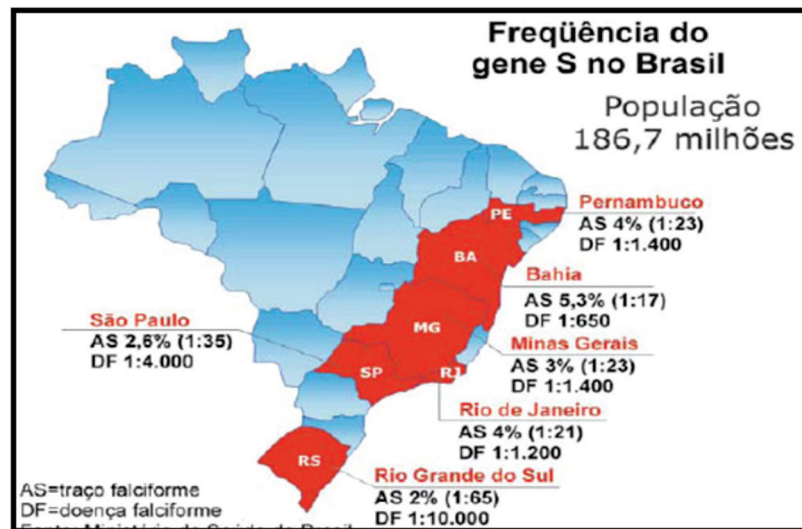


FONTE: Manual de condutas básicas na doença falciforme, MS, 2006.

3.3 Epidemiologia da doença falciforme

Do ponto de vista epidemiológico a doença falciforme é considerada um problema de agravo a saúde a nível mundial. No Brasil a doença possui uma grande prevalência nos estados onde receberam imigração de escravos, destacado uma alta prevalência no estado da Bahia podendo chegar a 5,5% no estado da Bahia. Enquanto Pernambuco estima-se prevalência de 3,5% (HOLSBACH et al., 2010). A figura 2 mostra a frequência da doença falciforme no Brasil segundo o Ministério da Saúde.

FIGURA 2: Frequência da doença falciforme no Brasil.



FONTE: Cançado e Jesus, 2007.

3.4 Diretrizes da política nacional de atenção integral às pessoas com doença falciforme

Segundo a constituição de 1988, a saúde é direito de todos e dever do Estado, garantido mediante políticas sociais e econômicas que visem à redução do risco de doença e de outros agravos e ao acesso universal e igualitário às ações e serviços para sua promoção, proteção e recuperação da saúde.

De acordo com a contextualização da doença falciforme, existiu a necessidade de implementar programas voltados para assistência ao portador da doença falcêmica com o objetivo de promover o bem estar e prevenir as sérias complicações clínicas. Logo o programa assistencial foi fundamentado na PORTARIA N°1.018, DE 1° DE JULHO DE 2005.

3.5 Diagnóstico da doença falciforme

O diagnóstico laboratorial tem por finalidade abordar os aspectos fisiopatológicos da doença através de diferentes técnicas laboratoriais, pois a doença falciforme requer metodologias específicas para detecção da hemoglobina S, sendo essa responsável pelo turgimento da hemácia provocando assim a falcização, essa falcização promove uma hemólise desenvolvendo o quadro de anemia hemolítica (MONTEIRO,et.al.,2015).

Logo o diagnóstico desta hemoglobinopatia é subdividida entre testes de triagem como Hemo-grama, Teste de falcização e Triagem em Neonatal, enquanto o teste confirmatório é baseado

eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose ou em agarose, com pH variando de 8 a 9. (NOGUEIRA, et. al., 2013).

Outro diagnóstico específico e sensível para o prognóstico da doença é a biologia molecular, que vem contribuindo para um diagnóstico diferencial possibilitando a análise do genótipo de interesse através dos seus marcadores. A Reação em cadeia da polimerase – PCR é considerado um exame qualitativo devido a capacidade de identificar o gene S. Esta análise vai determinar o sequenciamento dos nucleotídeos em relação aos polimorfismos é muito utilizada na detecção molecular dos doentes falciformes (MANFREDINI; ZANATTA, 2009).

É visto ainda, o marcador Restriction Fragment Length Polymorfism- RFLP que é uma técnica voltada para identificação de mutações pontuais e polimorfismos genético. Por meio desta técnica PCR-RFLP, são utilizadas enzimas de restrição para identificar sítios específicos do DNA (HENRIK, 2012). Nela o polimorfismo das sequências de DNA entre cada espécie é revelado pela diferença de tamanho dos fragmentos gerados, revelados por eletroforese que é específica para diferenciar os tipos de hemoglobinas (SILVA, 2009).

3.6 Cuidados assistenciais ao portador falcêmico

Após o diagnóstico da doença falciforme é relevante ressaltar medidas preventivas com o objetivo de minimizar as complicações secundárias desencadeada pela doença falciforme, tais como infecções e crise vaso oclusiva. De acordo com SILVA (2014), a equipe multidisciplinar busca realizar uma integralidade das ações da saúde possibilitando a troca de informações para oferecer ao portador falcêmico uma sobrevida de qualidade.

Destaca-se ainda o uso terapêutico da hidroxiuréia para os portadores da anemia falciforme como objetivo de diminuir o processo de falcização das hemácias através da síntese da hemoglobina fetal- Hb F. Logo a Hb F é o maior inibidor da polimerização da hemoglobina S, evitando a falcização dos eritrócitos (DS COLOMBO, 2012).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O interesse por esse estudo surgiu mediante questionamentos sobre os métodos de diagnóstico da doença falciforme, como a técnica molecular poderá ajudar no tratamento desta doença. Mas tam-

bém analisar a interação clínica do portador da doença falcêmica com os profissionais da saúde.

Portanto este trabalho tem por finalidade demonstra a interação do diagnóstico associado a prática assistencial dos profissionais da saúde oferecendo ao portador falcêmico uma promoção de saúde evitando assim as crises vaso oclusiva da doença entre outras complicações decorrente do avanço da doença.

REFERÊNCIAS

A. V. Hoffbrand, P. A. H.; Moss, J. E. Pettit: **Fundamentos Em Hematologia** - 6ª Ed. Artmed, 2013.

BARROSO, Laise Maria Formiga Moura. **Conhecimento de profissionais da estratégia saúde da família sobre a anemia** **Dissertação de Mestrado** (Dissertação do Programa de Mestrado Saúde da Família) – Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, 2013.

Brasil. Constituição, 1988. **Constituição da República Federativa do Brasil**. Brasília: Senado Federal; 1988.

Brasil. Ministério da Saúde. **PORTARIA Nº1.018**, DE 1º DE JULHO DE 2005

Brasil. Ministério da Saúde: **Manual da anemia falciforme para a população**. Brasília – DF, 2007.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Doença falciforme: atenção e cuidado: a experiência brasileira: 2005-2010** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. – 1. ed., 1. reimpr. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.

BRUNETTA DM, Clé DV, Haes TM, Roriz-Filho JS, Moriguti JC: **Manejo das complicações agudas da doença falciforme**. *Revistas.USP*,p.231-237,2010.

DINIZ, D.; Guedes, L Barbosa, P.L Tauil: **Cadernos de Saúde**. vol.25, no.1 Rio de Janeiro. 2009.

D.R Daga:**Variabilidade genética do exon 1 do gene da beta globina humana em indivíduos normais e portadores da hemoglobina S**. Dissertação de mestrado (Dissertação de mestrado de Ciências da Saúde) Universidade Federal do Paraná,2009.

D.S Colombo, LM Kohler: **Revista Educação, Meio Ambiente e Saúde REMAS**. 2012; 5 (1): 72-81.

HENRIK Berg Rasmussen (2012). **Fragmento de Restrição análise de polimorfismo de PCR-Amplified Fragments (PCR-RFLP)** e gel de electroforese - ferramenta valiosa para genotipagem e impressão digital genética, Gel Eletroforese - Princípios e Fundamentos, Dr. Sameh Magdeldin, ISBN: 978-953-51-0458-2, InTech, (Ed.)

HOLSBACH, D. R.; SALAZAR, E.A.V.M.; IVO, M.L.; ARAUJO, O.M.R.; SAKAMOTO, T.M. **Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007**. Acta Paulista Enfermagem, v. 23, n. 1, pag. 119-124, 2010.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de hematologia: propedêutica e clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2013.

MAGALHÃES, P. K. R. et al. **Programa de Triage Neonatal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**, Universidade de São Paulo, Brasil. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 2009.

MANFREDINI, V.; ZANATTA, T. **Comparação entre métodos laboratoriais de diagnóstico de Doenças Falciformes**. Revista Newslab, v.94, p. 180-194, 2009.

Marco A. Zago; Roberto P. Falcão; Ricardo Pasquini: **Tratado de Hematologia**. 1ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2013.

MONTEIRO, Ana Carolina Borges et al. **ANEMIA FALCIFORME, UMA DOENÇA CARACTERIZADA PELA ALTERAÇÃO NO FORMATO DAS HEMÁCIAS**. Saúde em Foco, Edição nº: 07/Ano: 2015

NOGUEIRA, Kerlem Divina Alves; SILVA, Willy Deivson Leandro da; PAIVA, Sabrina Guimarães. **Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme**. Revista Científica do Itpac, Araguaína, v. 6, n. 4, p. 05-09, 2013.

P.F.S.D Moreira; N.Q. Amauro, G Rodrigues Filho: **Desvendando a Anemia Falciforme – uma proposta lúdica para aplicação da Lei Federal 10.639/03**. Atas do IX Encontro Nacional de Pesquisa em Educação em Ciências – IX ENPEC Águas de Lindóia, SP – 10 a 14 de Novembro de 2013.

SILVA, Paula: **Atenção integral ao portador da doença falciforme: Plano de ação na estratégia saúde da família**. Universidade Federal de Minas Gerais. Lagoa Santa, Minas Gerais, 2014.

SILVA, Lilianne Brito: **Caracterização clínica, hematológica e molecular dos pacientes com anemia falciforme em Fortaleza, Ceará. 2009.** 75 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2009.