



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

RONEY LUIZ DE CARVALHO NICOLATO

**AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE
HEMOGLOBINOPATIAS EM PACIENTES
ATENDIDOS NO LABORATÓRIO PILOTO DE
ANÁLISES CLÍNICAS DA ESCOLA DE
FARMÁCIA - UFOP**

OURO PRETO – MG

2010

RONEY LUIZ DE CARVALHO NICOLATO

**AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE
HEMOGLOBINOPATIAS EM PACIENTES
ATENDIDOS NO LABORATÓRIO PILOTO DE
ANÁLISES CLÍNICAS DA ESCOLA DE
FARMÁCIA - UFOP**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos. Linha de Pesquisa: Estudo e desenvolvimento de Medicamentos.

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Cláudia Martins Carneiro

Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Carmen Aparecida de Paula

OURO PRETO – MG

2010

N638a

Nicolato, Roney Luiz de Carvalho.

Avaliação da incidência de hemoglobinopatias em pacientes atendidos no laboratório piloto de análises clínicas da Escola de Farmácia – UFOP [manuscrito] / Roney Luiz de Carvalho Nicolato. – 2010.

xvi, 59 f.: il. color., tabs.

Orientadora: Profª Drª Cláudia Martins Carneiro.

Coorientadora: Profª Drª Carmen Aparecida de Paula

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos

1. Sangue - Doenças - Teses. 2. Hemoglobina - Teses. 3. Hemoglobinopatia - Teses. I. Carneiro, Cláudia Martins. II. Paula, Carmem Aparecida de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU: 616.155

Catálogo: sisbin@sisbin.ufop.br

RONEY LUIZ DE CARVALHO NICOLATO

**AVALIAÇÃO DA INCIDÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM PACIENTES
ATENDIDOS NO LABORATÓRIO PILOTO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA ESCOLA
DE FARMÁCIA - UFOP**

Esta dissertação foi julgada e aprovada para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Ouro Preto.

Prof^a. Dr^a. Cláudia Martins Carneiro - UFOP
ORIENTADORA

Prof^a. Dr^a. Carmen Aparecida de Paula - UFOP
CO-ORIENTADORA

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Lauro Mello Vieira - UFMG

Prof^a. Dr^a. Angélica Alves de Lima

Ouro Preto, 20 de dezembro de 2010.

Dedico este Trabalho

À minha querida esposa Maria Izabel e aos meus
filhos André, Bruno e Maria Fernanda, que com amor
carinho, estímulo constante e tolerância deram-
me coragem para chegar até aqui.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Cláudia Martins Carneiro pela orientação na realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Carmen Aparecida de Paula pela dedicação e colaboração na orientação dessa dissertação. A sua motivação e o apoio à minha escolha foram fundamentais.

À Prof^a. Dr^a. Marta de Lana, digníssima diretora da Escola de Farmácia da UFOP, pelo companheirismo e incentivo para entrada no universo da pós-graduação.

Às colegas professoras Angélica Alves Lima, em especial, e Maria Ruth Gonçalves Gaede Carrillo pela compreensão, amizade e tolerância.

Ao amigo Prof. Luiz Fernando de Medeiros Teixeira pela luta incansável e disposição em ajudar.

Aos demais professores do Departamento de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP pelo incentivo.

Ao Prof. Dr. Adriano de Paula Sabino pela revisão do texto e pelas valiosas discussões do trabalho.

À mestre Simone Aparecida Ferreira pelo suporte técnico e leitura crítica da dissertação.

Aos técnicos administrativos do Departamento de Análises Clínicas da Escola da Farmácia – UFOP: Adão José da Rocha, Cássio Zumerle Masioli, Irmázio Ferreira dos Santos, Marco Antônio Alves de Brito, Geraldo da Silva Pereira, Maurício José Guimarães e Rejane Meire de Souza Frade pela dedicação durante a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Piloto de Análises Clínicas: Camila Guimarães Santiago, Lúcia Gomes Araujo, Mara Júnia de Assis e Renato Baeta Neves pelo estímulo constante e imprescindível.

Aos bolsistas, Renato Abdalla, Cássio Hattori, Lion Schwarzenegger Oliveira, Flávia de Souza Granato, Paula Cynara Soares Santos e Tamara Rodrigues da Costa pela ajuda na execução dos experimentos e na organização dos dados.

Aos estagiários da disciplina Estágio Supervisionado em Análises Clínicas do curso de Farmácia/Análises Clínicas - UFOP pelo apoio.

À Pró-Reitoria de Extensão da UFOP pela concessão das bolsas de extensão.

Às discentes Nayara Nascimento Toledo Silva, Mariana Soares Moran, Bruna Caroline Vieira Pitol e Priscilla Mayrink Miranda pelo carinho, estima e respeito.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (CiPharma) da UFOP por permitir a ascensão acadêmica.

Aos meus queridos irmãos por quem tenho imenso carinho.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para a realização desta dissertação.

“Estabeleça metas grandes o bastante a ponto de motivar-se,
mas não grandes em demasia a ponto de sufocar-se”.

Augusto Cury

SUMÁRIO

RESUMO.....	x
ABSTRAT.....	xii
SÍMBOLOS E ABREVIATURAS.....	xiii
LISTA DE FIGURAS.....	xv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	2
1.2. HEMOGLOBINA.....	2
1.3. ANEMIA FALCIFORME.....	6
1.3.1. Genética da Doença Falciforme.....	8
1.3.2. Características da Anemia Falciforme.....	9
1.3.3. Aconselhamento Genético.....	11
1.3.4. Anemia Falciforme no Brasil.....	12
1.3.5. Anemia Falciforme no Contexto dos Serviços de Saúde Pública de Ouro Preto.....	15
1.4. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	17
2. OBJETIVOS.....	19
2.1. OBJETIVO GERAL.....	20
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
3. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
3.1. MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
3.1.1 Equipamentos.....	22
3.1.2. Materiais para Eletroforese.....	22
3.1.3. Materiais para o Teste de Solubilidade.....	22
3.1.4. Amostras de Sangue.....	23
3.1.5. Corantes.....	23

3.2. POPULAÇÃO ESTUDADA.....	23
3.3. EXAMES LABORATORIAIS.....	24
3.3.1. Avaliação hematológica.....	24
3.3.2. Eletroforese Quantitativa em Acetato de Celulose pH 8,0 - 9,0.....	24
3.3.2.1. Reagentes.....	25
3.3.2.2. Preparação do Hemolisado com Saponina 1%.....	25
3.3.2.3. Eletroforese em Acetato de Celulose pH 8,6.....	26
3.3.2.4. Coloração e Descoloração das fitas de Acetato Celulose.....	26
3.3.3. Teste de Solubilidade Qualitativo em Papel de filtro (Teste da Mancha).....	27
3.3.3.1. Reagentes.....	27
3.3.3.2. Teste de Solubilidade.....	27
3.3.4. Cromatografia Líquida de Baixa Pressão (LPLC) (Troca Iônica).....	28
3.4. AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA E DE ANEMIA NORMOCÍTICA E NORMOCRÔMICA.....	28
4. RESULTADOS.....	29
5. DISCUSSÃO.....	39
6. CONCLUSÕES.....	45
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXOS.....	54

RESUMO

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças de caráter genético caracterizadas pela síntese de cadeias polipeptídicas estruturalmente anormais ou diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina. Dentre as variantes estruturais da hemoglobina, ou hemoglobinas anormais, as mais comuns são as hemoglobinas S e C, ambas resultantes da substituição de um único aminoácido na cadeia polipeptídica beta. Estudos realizados no Brasil mostram uma alta prevalência de heterozigotos para HbS e HbC. A frequência destas variantes na população brasileira é muito variável, pois está relacionada com os grupos raciais formadores de cada região. O povoamento da cidade de Ouro Preto, em 1698, motivado pela procura de ouro foi composto principalmente por portugueses e escravos africanos, contexto que favoreceu a mestiçagem entre os povos. Considerando que esses povos apresentam genes para as hemoglobinas anormais com frequências variadas, é esperado que se encontrem essas alterações genéticas na nossa população. O presente estudo teve como objetivo principal avaliar a frequência de hemoglobinas anormais nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC) da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP). No período de agosto de 2008 a setembro de 2010, foram triados 943 pacientes de ambos os sexos e diferentes faixas etárias para a frequência de variantes da hemoglobina, tendo como foco a hemoglobina falciforme, também conhecida como hemoglobina S. O diagnóstico foi realizado mediante a realização de eletroforese de hemoglobina em pH alcalino e as amostras positivas para alguma variante foram confirmadas por cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC) e pelo teste de solubilidade. A prevalência de variantes estruturais de hemoglobina foi de 6,6%, sendo 4,88% para o traço falciforme (HbAS), 1,59 % para o genótipo AC e 0,11% para o genótipo SC. Não foram detectados indivíduos homozigotos para nenhum dos tipos de hemoglobinas variantes. Os resultados encontrados foram superiores aos encontrados nos estados de Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Goiás, mostrando a dispersão dos genes para a HbS e HbC na população de Ouro Preto. Por essa razão, concluímos que é importante realizar programas com maior abrangência na população para estudo da epidemiologia das hemoglobinas variantes e de outras hemoglobinopatias resultantes de uma diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina, no município de Ouro Preto.

PALAVRAS-CHAVE: hemoglobinas variantes, hemoglobinopatias, hemoglobina S, hemoglobina C, traço falciforme.

ABSTRAT

Hemoglobinopathies are a genetic diseases group, characterized by either reduced synthesis of one or more normal globin chains or the synthesis of a structurally abnormal globin chain. Among the hemoglobin structural variants, the most common are the S and C hemoglobin, both resulting from an amino acid substitution in beta chain. Studies in Brazil show the high prevalence of HbS and HbC heterozygotes. The frequency of these variants in our population is very variable because it relates to racial groups in each region. The population of the city of Ouro Preto, in 1698, motivated by the pursuit of gold, was composed mainly of Portuguese and African slaves, a context that favored miscegenation between peoples. Considering that these groups have genes for abnormal hemoglobins with varying frequencies, is expected to find these genetic alterations in our population. The present study aimed at assessing the frequency of abnormal hemoglobins in patients seen by the Pilot Laboratory of Clinical Analyses (LAPAC) School of Pharmacy, Federal University of Ouro Preto (UFOP). From August 2008 to September 2010 were screened 943 patients of both sexes and different age groups for frequency of hemoglobin variants, with a focus on sickle cell hemoglobin, also known as hemoglobin S. The diagnosis was made through the implementation of hemoglobin electrophoresis at alkaline pH and positive samples were confirmed by some variant of low-pressure liquid chromatography (LPLC) and solubility test. The prevalence of structural variants of hemoglobin was 6.6% and 4.88% for sickle cell trait (HbAS), 1.59% for the AC genotype and 0.11% for genotype SC. Homozygous were not detected for any hemoglobins variant types. The results were higher than those found in the states of Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, Goiás and São Paulo, showing the dispersal of genes for HbS and HbC in the population of Ouro Preto. For this reason, we conclude that it is important to programs with greater coverage in the population for the study of the epidemiology of hemoglobin variants and other hemoglobinopathies due to a decreased synthesis of one or more globin chains, in Ouro Preto.

KEYWORDS: variant hemoglobins, hemoglobinopathies, hemoglobin S, hemoglobin C, sickle cell trait.

SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

AMH	Anemia microcítica hipocrômica
ANN	Anemia normocítica normocrômica
BIS-TRIS	Bis(2-hydroxyethyl)amino-tris(hydroxymethyl)methane
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DF	Doença falciforme
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
GAG	Guanina-adenina-guanina
GTG	Guanina-timina-guanina
GTI	Grupo de Trabalho Interministerial
HbA	Hemoglobina A
HbA ₂	Hemoglobina A ₂
HbA ₁ C	Hemoglobina glicada
HbAC	Heterozigose para hemoglobina C
HbAS	Heterozigose para hemoglobina S
HbC	Hemoglobina C
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina fetal
HbM	Hemoglobina M
HbS	Hemoglobina falciforme
HbSC	Dupla heterozigose para hemoglobina S e C
HbSS	Homozigose para hemoglobina S
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HU	Hidroxiuréia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
KH ₂ PO ₄	Fosfato de potássio monobásico
K ₂ HPO ₄	Fosfato de potássio bibásico
LAPAC	Laboratório Piloto de Análises Clínicas
LPLC	Cromatografia líquida de baixa pressão
PAF	Programa de anemia falciforme

SUS	Sistema Único de Saúde
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
VCM	Volume corpuscular médio

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1** - Estrutura quaternária da hemoglobina.....3
- Figura 1.2** - Sucessão das diferentes cadeias de globinas e as diferentes hemoglobinas presentes no embrião, feto (após a 12^a semana) e adulto. A HbF ($\alpha_2\gamma_2$) é a hemoglobina predominante durante a vida fetal. Após o nascimento, com a repressão da síntese da cadeia γ e aumento da síntese da cadeia β , ocorre a troca da HbF pela HbA, que se completa entre o 3^o e 4^o mês de vida.....4
- Figura 1.3** - Eritrócitos alongados, frequentemente curvados que apresentam uma ou duas extremidades pontiagudas (Hemácias em Foice ou Drepanócitos).....7
- Figura 1.4** - Frequência do gene S em diferentes regiões do Brasil; DF = Doença Falciforme. (CANÇADO & JESUS, 2007).....14
- Figura 4.1** - Eletroforese de hemoglobina em fita de Acetato de Celulose, tampão alcalino (pH 8,6). O hemolisado das amostras do sangue periférico colhido em EDTA foi preparado com clorofórmio. Após aplicação dos padrões e das amostras na fita de Acetato Celulose, efetuou corrida eletroforética por 30 minutos em tampão Tris-Glicina, pH 8,6. As amostras 1, 2 e 3 são padrões para hemoglobina normal (Hb AA), heterozigose para HbC (HbAC) e traço falciforme (HbAS), respectivamente. As amostras 4 a 10 respectivamente pertencem a pacientes com HbAA, HbAC, HbAA, HbAS, HbAA, HbAC e HbAS.....31
- Figura 4.2** - Cromatogramas de hemoglobinas por cromatografia de troca catiônica pela técnica de Cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC). A separação das diferentes hemoglobinas pelo programa DiaFAST Hemoglobina A₁C se baseia na competição entre os diferentes tipos de hemoglobina carregada positivamente (Tampão Bis-Tris, pH 6,5) e os íons potássio presentes no tampão de eluição com os sítios de carga negativa presentes na resina. Gráficos: 1- paciente com perfil hemoglobínico normal, 2- paciente com HbAC (heterozigose para hemoglobina C), 3- paciente com HbAS (heterozigose para hemoglobina S) e 4- paciente com HbSC (dupla heterozigose para hemoglobina S e C).....32
- Figura 4.3** - Visualização do teste de solubilidade da HbS em papel de filtro. O teste foi realizado pela adição de 20 μ L de sangue em 0,2 mL de solução de ditionito de sódio a 1% em tampão fosfato 0,1M pH 6,5 e após homogeneização 10 μ L da suspensão foi colocada em papel de filtro Whatman n^o 6. HbAA: Controle negativo; HbAS: controle positivo pra o traço falciforme. Amostra 1: paciente negativo para HbS e amostras 2 e 3: pacientes positivos para traço falciforme na eletroforese em fita de acetato celulose, pH 8,5 e LPLC.....32

LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Frequência de pacientes do sexo masculino e feminino de acordo com a faixa etária.....	30
Tabela 4.2 - Características das hemoglobinas encontradas nas amostras analisadas.....	33
Tabela 4.3 - Perfil hemoglobínico identificado nas amostras analisadas.....	33
Tabela 4.4 - Distribuição das hemoglobinas normais e das variantes em relação à idade nos pacientes do sexo feminino.....	35
Tabela 4.5 - Distribuição das hemoglobinas normais e das variantes em relação à idade nos pacientes do sexo masculino.....	36
Tabela 4.6 – Frequência de anemias microcítica e hipocrômica e normocítica e normocrômica nos pacientes do sexo feminino, conforme faixa etária e perfil de hemoglobina.....	37
Tabela 4.7 - Frequência de anemias microcítica e hipocrômica e normocítica e normocrômica nos pacientes do sexo masculino, conforme faixa etária e perfil de hemoglobina.....	37
Tabela 4.8 - Comparação dos achados com a frequência do gene S nas diferentes regiões do Brasil.....	38

1. INTRODUÇÃO

Roney Luiz de Carvalho Nicolato

1.1. INTRODUÇÃO

A hemácia é o produto final das células do sistema eritropoiético. Este sistema destina-se unicamente a produzir células apropriadas para a síntese, transporte e proteção da hemoglobina, pigmento respiratório criado especialmente para transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos e uma pequena fração de CO₂ tecidual para os pulmões. A hemácia ou eritrócito também produz uma enzima, a anidrase carbônica, que desempenha um papel essencial na conversão do CO₂ gerado durante o metabolismo respiratório em HCO₃⁻. Assim, a hemácia tem como funções principais: manter o estado funcional da hemoglobina e da anidrase carbônica. A deficiência numérica de hemácias vai determinar uma deficiência de O₂ a nível tecidual. As hemácias em seu estado normal se apresentam sob a forma de discos bicôncavos anucleados e devido à grande deformabilidade e elasticidade da membrana destas células, elas são capazes de percorrer milhares de metros quadrados, circular através de pertuitos menores do que o seu diâmetro e sobreviver na circulação durante 100-120 dias (LUDVIGSEN, 1998).

1.2. HEMOGLOBINA

No homem, como em todos os vertebrados, o transporte de O₂ é realizado por pigmentos respiratórios localizados nas hemácias, as hemoglobinas. Essas são compostas pela junção de um pigmento, o grupo prostético heme com um tetrâmero de proteínas, as globinas (Figura 1.1) (LEHNINGER et al., 2006). A hemoglobina é a proteína mais estudada e conhecida em seus aspectos fisiológico, genético e bioquímico (NAOUM, 2004). Nos adultos, a molécula de hemoglobina normal (HbA) é composta por duas globinas do tipo alfa (α) e duas do tipo beta (β), compondo um tetrâmero do tipo $\alpha_2\beta_2$, de 574 aminoácidos com formato globular e grupos heme, que são compostos por um anel porfirínico no qual se acomoda um átomo central de ferro, ao qual o O₂ se liga reversivelmente. Para o exercício de sua função, as quatro cadeias de globina da HbA são dobradas e ajustadas de maneira globular, formando uma molécula com dimensões de 50 x 55 x 64 nm e com peso molecular de 64.458 daltons (NAOUM & DOMINGOS, 1997).

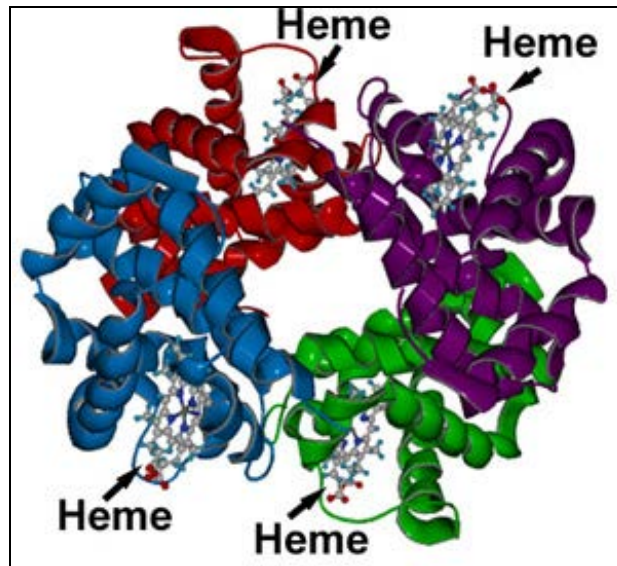


Figura 1.1 - Estrutura quaternária da hemoglobina

Fonte: <http://portaldoprofessor.mec.gov.br/fichaTecnicaAula.html?aula=922>

Decorrente de sua composição molecular, a HbA é também denominada $\alpha_2\beta_2$. As cadeias das globinas α e β são decodificadas a partir de genes localizados nos cromossomos 16 e 11, respectivamente. No desenvolvimento humano, os genes das globinas apresentam um padrão de expressão diferente. Os genes do “cluster” α estão agrupados no braço curto do cromossomo 16, enquanto os genes do “cluster” β estão agrupados no braço curto do cromossomo 11. Embora localizados em cromossomos diferentes, estão orientados na mesma ordem sequencial em que são temporalmente expressos (MANIATIS et al., 1980; ANTONARAKIS et al., 1985).

Nos estágios embrionários iniciais prevalece a produção da hemoglobina Gower 1. Esta hemoglobina consiste de duas cadeias ε (cluster β) e duas cadeias ζ (cluster α). Durante o período de transição entre o estágio embrionário e fetal, as hemoglobinas Gower 2 ($\alpha_2\varepsilon_2$) e Portland ($\zeta_2\gamma_2$) também são detectadas. A Figura 1.2 mostra que aproximadamente no início da oitava semana de gestação, as cadeias ζ produzidas são gradualmente substituídas por cadeias α , prevalecendo a produção de cadeias α e cadeias de globinas γ diferentes, designadas $G\gamma$ e $A\gamma$, até por volta da 36^a semana gestacional. O que difere uma cadeia γ da outra é somente a presença de glicina ou alanina na posição 136, respectivamente. Após a oitava semana de vida gestacional, a Hb fetal ($\alpha_2\gamma_2$) torna-se a hemoglobina predominante ao

longo do período fetal. No entanto, após o nascimento, as cadeias γ são gradualmente substituídas pelas cadeias β e δ . Por volta do sexto mês após o nascimento 97% - 98% do conteúdo hemoglobínico eritrocitário é representado pelo tetrâmero $\alpha_2\beta_2$ (HbA), enquanto a HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) está presente em aproximadamente 2%. Pequenas quantidades de HbF também são encontradas no interior das hemácias presentes no sangue adulto. As globinas γ , β e δ são chamadas de cadeias não-alfa e em termos da composição de aminoácidos, as cadeias alfa e não-alfa consistem de 141 e 146 resíduos, respectivamente. Entre estas cadeias protéicas existe uma grande homologia, em termos de sequência dos aminoácidos que as compõem. As cadeias β diferem das cadeias δ e γ por 39 e 10 resíduos de aminoácidos, respectivamente (MANIATIS et al., 1980).

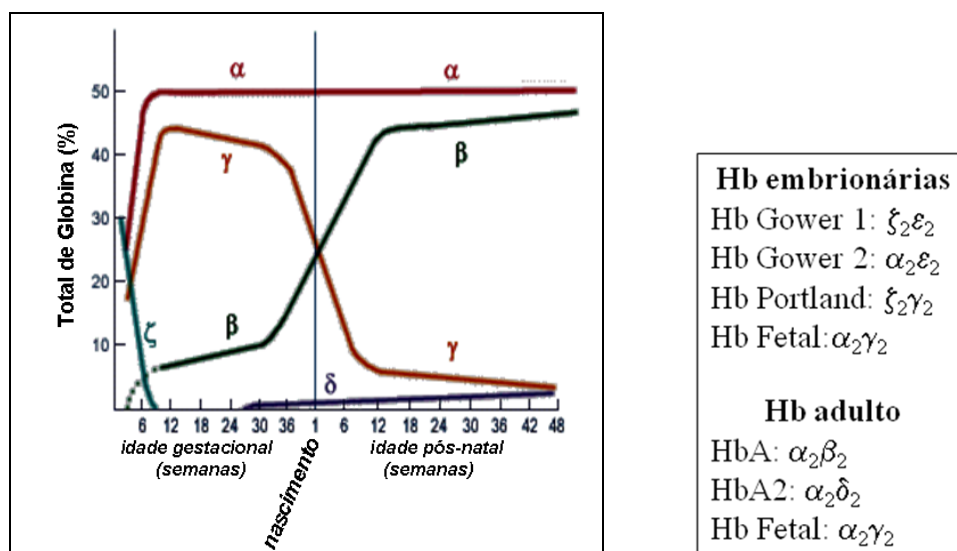


Figura 1.2 - Sucessão das diferentes cadeias de globinas e as diferentes hemoglobinas presentes no embrião, feto (após a 12ª semana) e adulto. A HbF ($\alpha_2\gamma_2$) é a hemoglobina predominante durante a vida fetal. Após o nascimento, com a repressão da síntese da cadeia γ e aumento da síntese da cadeia β , ocorre a troca da HbF pela HbA, que se completa entre o 3º e 4º mês de vida.

Com o advento da biologia molecular, estudos mais específicos relacionados à estrutura e função da hemoglobina e de suas formas mutantes vêm sendo realizados. Acredita-se que as primeiras alterações nas hemoglobinas ocorreram há 100 milhões de anos, onde os genes codificadores das globinas alfa e beta se diferenciaram e começaram a seguir rotas evolutivas independentes. Quando os primeiros primatas surgiram, há 70 milhões de anos, os genes da globina alfa e beta estavam bem definidos. Acredita-se que a própria evolução

humana tenha sido influenciada pela transformação evolutiva da hemoglobina (NAOUM, 2004). No entanto, a relação entre o desenvolvimento da espécie humana e o da hemoglobina pressupõe a existência de situações adaptativas e da pressão seletiva exercida pelo ambiente. Exemplos notáveis do processo evolutivo-adaptativo das hemoglobinas são encontrados na natureza, tais como: o aumento da concentração dessas moléculas em indivíduos que vivem em regiões acima de três mil metros e a presença do *Plasmodium falciparum* em determinadas regiões geográficas, o que favoreceu a fixação do alelo HbS (NAOUM, 2004). Ao longo do processo evolutivo, os genes das globinas foram alvos de inúmeras mutações, tanto na região decodificadora, quanto nas regiões responsáveis pelo controle de sua própria expressão gênica, (LCR, região controladora do gene). As mutações nos genes das globinas alfa e beta deram origem às HbS, HbC, HbD, as talassemias alfa e beta, entre outras, sendo comumente denominadas hemoglobinopatias (STEINBERG & HEBBEL, 1983).

As hemoglobinopatias resultam de alterações envolvendo genes estruturais que expressam as cadeias de globina, levando a formação das moléculas de hemoglobinas com características bioquímicas diferentes das hemoglobinas normais, sendo também chamadas de variantes da hemoglobina. Mais de 800 variantes de hemoglobina já foram descritas até o momento. A maioria delas resulta de substituições de um único par de bases, sendo que grande parte destas mutações é expressa pela síntese anormal de cadeias globínicas com substituição de um dos seus aminoácidos (STEINBERG & ADAMS, 1978). De acordo com o fenótipo clínico, as variantes estruturais são divididas em três classes: variantes que causam anemia hemolítica, exemplificada pela hemoglobina falcêmica (HbS) e pela hemoglobina C (HbC), variantes com transporte de oxigênio alterado, tal como a metemoglobina (HbM), e as hemoglobinas variantes com fenótipos de talassemia, por exemplo a hemoglobina E (HbE). Dentre as variantes de hemoglobinas estruturais, mais de 75% delas são resultantes de uma única substituição de aminoácidos na globina α ou β . Algumas variantes estruturais das hemoglobinas são altamente prejudiciais, uma vez que a substituição do aminoácido altera a função ou a estabilidade da molécula da hemoglobina, resultando em um quadro clínico bem definido. As variantes de hemoglobina encontradas com maior frequência na população brasileira são a HbS e a HbC, ambas de origem africana e capaz de provocar uma anemia hemolítica crônica quando presentes em homozigose ou dupla heterozigose (BAUDIN et al.,

1986), fato bem caracterizado nos estudos de prevalência de hemoglobinopatias realizados em diferentes regiões do Brasil (ZAGO et al., 1983).

A hemoglobina S é formada pela substituição de um aminoácido na cadeia beta, na sexta posição, onde o resíduo de ácido glutâmico é substituído por um resíduo de valina. Por outro lado, a hemoglobina C é formada pela substituição do ácido glutâmico por uma lisina na sexta posição da cadeia beta. Em homozigose, ambos os genes codificam cadeias betas anormais (β^S ou β^C), e neste caso, a HbA não está presente em decorrência da falta do alelo normal para cadeia beta. Nos indivíduos heterozigotos tanto para a HbS (HbAS) como para a HbC (HbAC), cerca de 60% da hemoglobina é HbA e aproximadamente 40% é HbS ou HbC, respectivamente. Nesta situação, o indivíduo é assintomático. No entanto, nos indivíduos homozigotos para a HbS (HbS/S) ou para a HbC (HbC/C) quase toda a hemoglobina é do tipo HbS ou HbC, respectivamente. A homozigose para estas variantes de hemoglobina ocasiona um quadro de anemia hemolítica crônica e no caso de uma homozigose para a HbS há o desenvolvimento de uma anemia hemolítica crônica conhecida como “anemia falciforme”. As complicações clínicas observadas em um indivíduo homozigótico para a HbS são mais graves do que as observadas num indivíduo homozigoto para a HbC, daí o porquê da literatura dar uma maior ênfase à fisiopatologia da anemia falciforme. No entanto, a dupla heterozigose para β^S e β^C (HbSC) também ocasiona uma severa anemia hemolítica crônica (WHO, 1982). Tendo em vista as manifestações clínicas para um indivíduo que possui HbS de forma homozigótica ou em dupla heterozigose, torna-se importante um maior enfoque ao processo fisiopatológico e às características clínicas da anemia falciforme.

1.3. ANEMIA FALCIFORME

Descrita pela primeira vez em 1904 por James Herrick (HERRICK, 1910), a anemia falciforme é a anemia hemolítica decorrente da presença de hemoglobinopatia mais comum no Brasil. Sua etiologia é gênica, com padrão autossômico recessivo devido a uma mutação de ponto com a troca do sexto códon GAG por GTG no gene que expressa a cadeia de globina beta, resultando no aparecimento de uma hemoglobina anormal. Essa mutação leva à substituição de um ácido glutâmico por uma valina na sexta posição da cadeia beta. O ácido glutâmico ao ser substituído pela valina modifica a estabilidade e a característica físico-

química da hemoglobina. Esta hemoglobina modificada, denominada HbS (nomenclatura vinda da língua inglesa “sickle”) em situações de baixas tensões de oxigênio, tem uma leve redução na solubilidade. Esta leve redução na solubilidade da desoxi-HbS provoca a agregação e polimerização das moléculas de desoxi-HbS e o meio intra-eritrocitário passa de um estado líquido fluido para um estado gelatinoso viscoso, o qual é responsável pela redução da elasticidade e deformabilidade das hemácias dentro da microcirculação. Com isto a hemácia contendo HbS, dependendo do grau de oxigenação, adquire um formato de foice e passa a ser chamada de hemácia falciforme (PAULING et al., 1949; NAOUM & DOMINGOS, 1997).

Quando o nível de oxigênio aumenta, o processo de falcização é inicialmente reversível, mas a constante falcização e desfalcização lesa a membrana celular da hemácia a tal ponto que a torna completamente rígida (Figura 1.3). Desta forma, mesmo nos períodos de oxigenação adequada, as hemácias não voltam mais ao seu estado normal (CHIEN et al., 1970).

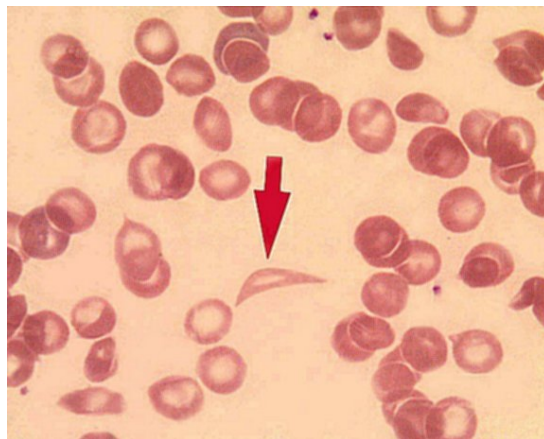


Figura 1.3 - Eritrócitos alongados, frequentemente curvados que apresentam uma ou duas extremidades pontiagudas (Hemácias em Foice ou Drepanócitos).

Fonte: http://www.olharvital.ufrj.br/2006/imagens/edicoes/041/ciencia_e_vida.jpg

A hemácia ao se tornar falciforme apresentará uma menor capacidade de transporte de oxigênio para os tecidos, uma dificuldade circulatória e uma redução da sua vida útil, pois são fagocitados prematuramente pelo sistema monocítico-macrofágico, ocasionando anemia hemolítica crônica, geralmente, de importante magnitude (GLADWIN & VICHINSKY, 2008).

1.3.1. Genética da Doença Falciforme

A doença falciforme é uma alteração genética, caracterizada por um tipo de hemoglobina mutante designada por hemoglobina S. O termo doença falciforme define as hemoglobinopatias nas quais duas hemoglobinas são anormais, sendo que uma delas necessariamente é a HbS. É uma condição genética autossômica recessiva decorrente de defeitos na estrutura da hemoglobina (Hb) associada ou não a defeitos de síntese, as talassemias (WEATHERALL & CLEGG, 2001). As hemoglobinopatias decorrentes dos defeitos na estrutura da Hb são mais frequentes em povos africanos, enquanto as talassemias decorrentes de defeitos na síntese da Hb, em povos do Mediterrâneo, da Ásia e da China (WEATHERALL & CLEGG, 2001). Apesar dessa predileção étnica, a DF está presente em todos os continentes como consequência das migrações populacionais (SCHECHTER, 2008). No Brasil, que reconhecidamente apresenta uma das populações de maior heterogeneidade genética do mundo (PARRA et al., 2003), a maior prevalência da doença ocorre nas Regiões Norte e Nordeste (CANÇADO & JESUS, 2007).

As pessoas com DF obrigatoriamente herdam uma mutação materna e outra paterna. As mutações herdadas podem estar em estado homozigótico (SS), único genótipo que pode ser denominado “anemia” falciforme (ZAGO & PINTO, 2007), ou heterozigótico composto, ou seja, a doença é causada pela herança da HbS em combinação com outro defeito (estrutural ou de síntese) na hemoglobina (SC, SD, SE, S beta-talassemia, S alfa-talassemia). Assim, quando um casal é formado pela união de uma pessoa com traço S e outra pessoa heterozigota para HbC, HbD, talassemia, etc, ocorre o aparecimento de uma hemoglobinopatia do tipo HbSC, HbSD e HbS-talassemia, etc, caracterizando o termo doença falciforme. Desta forma, todas as hemoglobinopatias, incluindo a anemia falciforme (HbSS), são chamadas de doenças falciformes. A forma mais comum da anemia falciforme acontece quando uma criança herda um gene de hemoglobina falciforme da mãe e outro do pai. É necessário que cada um dos pais tenha pelo menos um gene falciforme, o que significa que cada um é portador de um gene de hemoglobina falciforme e um gene de hemoglobina normal (ZAGO et al., 1983).

A maioria dos genitores de crianças com DF são heterozigotos simples, ou seja, apresenta um gene da HbA (normal) associada com a hemoglobina variante (SCHECHTER, 2008). Nos indivíduos homozigotos (HbSS), quase toda a hemoglobina é do tipo S, e há o

desenvolvimento da anemia falciforme. Nos indivíduos heterozigotos (HbAS), cerca de 40% da hemoglobina é do tipo S e aproximadamente 60% é HbA, o que define o traço falciforme, com características clínicas bem mais amenas. A anemia falciforme não deve ser confundida com traço falciforme, pois os portadores do traço falciforme geralmente são assintomáticos e não apresentam anemia. No entanto, estes indivíduos, podem em determinadas circunstâncias tais como hipóxia, acidose, desidratação e vasoconstrição apresentar complicações graves e até mesmo fatais (CHARACHE, 1988; PLATT et al., 1994).

1.3.2. Características da Anemia Falciforme

A anemia falciforme é uma doença crônica, com períodos de agudização conhecidos como crises vaso-oclusivas ou crises dolorosas. Estas ocorrem pela obstrução de pequenos vasos sanguíneos, decorrentes da presença de hemácias falciformes, com redução de uma adequada circulação sanguínea local, levando à hipóxia, necrose e severa dor. Cada surto vaso-oclusivo perdura por 3 a 10 dias e vários agentes desencadeadores têm sido descritos. Dentre eles destaca-se infecção, desidratação, acidose, hipotermia, “stress” emocional e exercícios físicos intensos. A dor que acomete o local da insuficiência vascular é irradiada, e os locais mais comumente comprometidos são os ossos, pulmões, fígado, cérebro, baço e pênis (THORNTON & SAMS, 1993).

A hemólise, por uma via metabólica complexa, compromete o metabolismo do óxido nítrico, o que ocasiona uma vasculopatia proliferativa com consequentes alterações endoteliais que geram um estado inflamatório crônico. O endotélio lesado expõe o fator tecidual, que desencadeia a cascata da coagulação e libera múltiplos do Fator de von Willebrand. Além disso, nas hemácias falciformes ocorre uma expressão anômala de moléculas de adesão celular, ocasionando uma maior interação entre as hemácias falcizadas e os elementos celulares do sangue e endotélio vascular. (HEBBEL et al., 2004; WOOD & GRANGER, 2007; KATO et al., 2007). Portanto, os pilares fisiopatogênicos da vaso-oclusão na anemia falciforme são o fenômeno da eritrofalcização, a maior interação entre células endoteliais, leucócitos e plaquetas, a vasculopatia proliferativa, o estado inflamatório crônico e a hipercoagulabilidade (OKOLI et al., 2009; BARFIELD et al., 2010).

A vida útil de uma hemácia falciforme passa de 120 para aproximadamente 20 dias, acarretando numa gradual desidratação dos tecidos com redução das funções orgânicas, crises de dor recorrentes, infecções bacterianas frequentes e um quadro de anemia hemolítica severa, criando a necessidade de uma constante produção de novos eritrócitos (PAULING et al., 1949; SOARES et al., 2010).

A evolução da doença pode gerar complicações em qualquer parte do organismo, principalmente nas áreas mais comprometidas pela hipóxia e pelo infarto. Nos bebês, há um comprometimento no desenvolvimento psicomotor e uma maior suscetibilidade a contrair infecções graves. Nas crianças, na fase inicial da doença, o baço geralmente encontra-se aumentado. Porém, com o passar dos anos, a fibrose contínua desse órgão produz uma contração progressiva do mesmo, ocasionando o processo denominado auto-esplenectomia. A esplenectomia funcional predispõe os portadores de anemia falciforme a infecções produzidas por pneumococos e, particularmente, a osteomielite causada por *Salmonella*. Em 50% dos adultos, os infartos do tecido subcutâneo produzem úlceras nos membros inferiores (PLATT et al., 1994).

Os pacientes com anemia falciforme geralmente apresentam palidez na pele e nas mucosas, escleróticas ictericas, alterações cardíacas em decorrência da hipóxia miocárdica e complicações no sistema nervoso central, ocasionando cefaléia, convulsões, hemiplegia e derrame cerebral precoce. Também é possível encontrar alterações ósseas, hepatomegalia, hematúria, insuficiência pulmonar, insuficiência renal e cálculos pigmentares na vesícula produzidos pela hiperbilirrubinemia. Ocasionalmente ocorrem alterações oculares, caracterizadas por infartos retinianos, retinite proliferante e deslocamento de retina (PLATT et al., 1994; GACON & DONATIEN, 2001).

A anemia falciforme encurta a longevidade dos doentes e, até o momento, não há um tratamento totalmente eficaz para a doença. O ácido fólico, que em alguns casos é usado, como complemento, junto com a administração de vitamina B₁₂, é indispensável e deve ser usado diariamente devido à sua fundamental importância no processo de produção e maturação de novas hemácias que estão sendo produzidas. Periodicamente, também se faz necessário o uso de antibióticos em razão da suscetibilidade dos pacientes às infecções oportunistas (LAWRENCE et al., 2000; GALACTEROS, 2001).

Além do uso de ácido fólico, vitamina B₁₂ e antibióticos, a transfusão continua entre as formas mais frequentemente utilizadas no tratamento das complicações agudas e crônicas da anemia falciforme. Outra forma de tratamento é o uso de hidroxiuréia (HU). Apesar de a hidroxiuréia apresentar um efeito citotóxico, ela tem se tornado um valioso fármaco, pois ao inibir a enzima ribonucleotídeo redutase, ela produz vários efeitos benéficos aos pacientes com anemia falciforme, tais como: aumento da produção de HbF, aumento da hidratação do glóbulo vermelho, aumento da taxa hemoglobínica, maior produção de óxido nítrico e diminuição da expressão de moléculas de adesão. Até o momento, ela é considerada a terapia farmacológica de maior sucesso para a anemia falciforme. (LANZKRON et al., 2008; PLATT, 2008).

Devido ao fato de ainda não ter um tratamento eficaz e seguro na prevenção das complicações clínicas da anemia falciforme, a identificação dos pacientes antes do início sintomatológico é de fundamental importância no sentido de buscar medidas que visam diminuir os episódios vaso-oclusivos, também denominados de crises falcêmicas (ZAGO & PINTO, 2007). Nessas crises, pode haver dor intensa, lesões isquêmicas teciduais e danos em todos os órgãos e sistemas (cérebro, coração, fígado, rins, pele, olhos, esqueleto e pulmões) (PLATT et al., 1994; ANVISA, 2002; ZAGO & PINTO, 2007); sendo que a maioria dos desfechos fatais é precedida de episódios agudos, como, por exemplo, a síndrome torácica aguda (PLATT, 2000; PLATT, 2008; GLADWIN & VICHINSKY, 2008).

1.3.3. Aconselhamento Genético

A anemia falciforme por ser uma doença crônica, incurável, embora tratável, geralmente traz um alto grau de sofrimento aos seus portadores, e desta forma, sob o ponto de vista médico, genético e psicossocial, merece uma atenção especial.

A prevenção da doença falciforme resume-se a dois campos de atuação: diagnóstico precoce da anemia falciforme e identificação de pessoas portadoras de traço falciforme para informação sobre o risco reprodutivo. A identificação e o tratamento precoces são requisitos indispensáveis para o aumento da expectativa de vida das crianças com anemia falciforme, por isso a recente inclusão da identificação de hemoglobinopatias no teste do pezinho (BRASIL, 2001). Outra vantagem atribuída ao diagnóstico precoce é a possibilidade de

orientar casais heterozigóticos sobre o risco reprodutivo. O processo de orientação ocorre por meio de sessões de aconselhamento genético, ocasião em que os futuros casais são informados sobre as características genéticas que possuem e os possíveis riscos envolvidos (MODELL, 1990; PAIVA E SILVA & RAMALHO, 1997).

Pessoas que apresentam risco de gerar filhos com hemoglobinopatias graves têm o direito de serem informadas, por meio do aconselhamento genético, a respeito de todas as implicações que a doença pode trazer, pois este tem como objetivo permitir aos indivíduos a tomada de decisões conscientes e equilibradas a respeito da procriação.

1.3.4. Anemia Falciforme no Brasil

No Brasil, a anemia falciforme tem sido apontada como questão central para a saúde pública, em virtude das características epidemiológicas que apresenta. A anemia falciforme é uma doença hereditária, resultante de uma mutação no gene que expressa a globina β , componente estrutural da molécula de hemoglobina, e está presente, principalmente, nos negros (ZAGO, 2002). A prevalência média do traço falciforme, no Brasil, gira em torno de 2%, sendo que esse número pode variar segundo as características étnicas da população estudada, chegando, por exemplo, a 5,5% na Bahia onde há forte presença de negros e mestiços na população (NAOUM, 2000; ZAGO, 2002). Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde, a cada ano nascem no Brasil cerca de 2.500 crianças portadoras de Anemia Falciforme, e, destas, 20% não completam 5 anos de idade, por complicações diretamente relacionadas à anemia falciforme (OMS, 1990).

Com a criação do Programa Nacional de Direitos Humanos, o governo federal na busca da construção de uma cidadania completa com o povo afro-brasileiro criou um Grupo de Trabalho Interministerial (GTI), integrado por representantes de oito ministérios e duas secretarias, bem como por oito representantes da sociedade civil provenientes do Movimento Negro. Considerando o amplo elenco das questões que envolvem a situação da população negra no País, o GTI resolveu dividir o trabalho em 16 áreas, a partir das quais constituiu os chamados Grupos Temáticos, cada qual sob a responsabilidade de um coordenador (GREGORI & SANTOS, 1998).

A estratégia inicial estabelecida pelos integrantes do Grupo Temático Saúde consistiu na realização de uma Mesa Redonda sobre Saúde da População Negra, em abril de 1996, com a participação de cientistas, militantes da sociedade civil, médicos e técnicos do Ministério da Saúde. Como conclusão, organizou-se um quadro esquemático, em que se explica de forma metodologicamente organizada, sob a forma de blocos, a problemática da saúde da população negra. O bloco das doenças geneticamente determinadas engloba as doenças que têm berço hereditário, ancestral e étnico. Nesse bloco, destaca-se a anemia falciforme, por ser uma doença que incide predominantemente sobre a população afro-descendente (GREGORI & SANTOS, 1998).

Mediante uma análise criteriosa, perceberam que não há justificativa técnica para a criação de vários programas governamentais de saúde específicos para a população negra, como pretendiam algumas correntes do setor. A única exceção foi o Programa de Anemia Falciforme, por ser uma doença predominantemente incidente sobre a população afro-descendente e já contar com sinalizadores estatísticos suficientes e convincentes para justificar prioridade como problema de saúde pública. O Programa de Anemia Falciforme (PAF) foi elaborado por especialistas com a finalidade de organizar e potencializar recursos disponíveis, efetivando um conjunto de atividades visando o diagnóstico precoce, o aconselhamento genético, a distribuição de medicamentos e o acompanhamento ambulatorial e hospitalar. Os técnicos que têm trabalhado com essa doença estimam a existência de dois a dez milhões de portadores do traço falcêmico e 8 mil a 50 mil doentes, segundo cálculos elaborados com base em probabilidades estatísticas. O PAF trabalha com os patamares inferiores a essas estimativas. Em números reais, o cadastro nacional tem o registro de 4 mil doentes, ficando a diferença por conta da não-notificação ao órgão central dos casos diagnosticados como outras doenças ou sem diagnóstico por falta de acesso aos serviços de saúde. Em recente estudo, estimou-se que 80% das pessoas acometidas pela doença morrem antes de completar trinta anos de idade e que 85% das mortes por Anemia Falciforme não são registrados como tal, no Brasil (GREGORI & SANTOS, 1998).

O primeiro passo rumo à construção de tal programa foi dado com a institucionalização da Triagem Neonatal no Sistema Único de Saúde (SUS) do Brasil, por meio da Portaria do Ministério da Saúde de 15 de Janeiro de 1992. No dia 6 de junho de 2001, pela Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde, foi criado o Programa Nacional de Triagem

Neonatal (PNTN), incluindo a triagem para as hemoglobinopatias. A inclusão da eletroforese de hemoglobina nos testes de triagem neonatal representou um passo muito importante no reconhecimento da relevância das hemoglobinopatias como um problema de saúde pública no Brasil e também a garantia, por igual, aos testes de triagem a todos os recém-nascidos brasileiros, independente da origem geográfica, da etnia e da classe socioeconômica (CANÇADO & JESUS, 2007).

No dia 16 de agosto de 2005 foi publicada a Portaria nº 1.391, que institui, no âmbito do SUS, diretrizes para a Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras hemoglobinopatias (BRASIL, 2005). Diante disto, o Ministério da Saúde, pela Coordenação Geral da Política Nacional de Sangue e Hemoderivados vem trabalhando na regulamentação e na implantação das medidas estabelecidas na Portaria nº 1.391, como também na organização de uma rede de assistência às pessoas com outras hemoglobinopatias em todos os estados do Brasil.

No Brasil a distribuição do gene falciforme (gene S) é bastante heterogênea, pois está relacionada com a descendência negróide ou caucasóide da população (Figura 1.4). Esta figura mostra os principais dados da distribuição da Doença Falciforme no Brasil e o quanto o gene S está disperso na população de uma forma heterogênea, com maior prevalência nos estados em que há uma maior concentração de afro-descendentes.

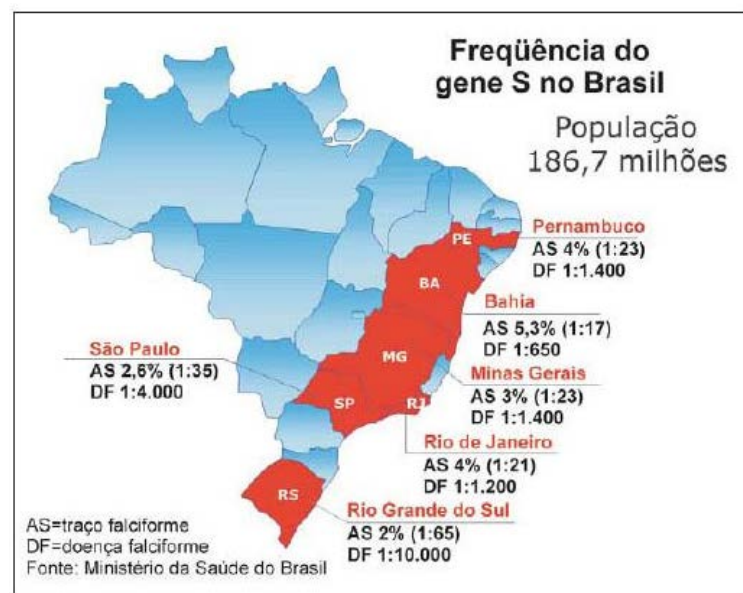


Figura 1.4 - Frequência do gene S em diferentes regiões do Brasil; DF = Doença Falciforme. (CANÇADO & JESUS, 2007).

Diante do exposto, fica nítido a importância de garantir ao indivíduo com doença falciforme o amplo acesso à saúde por meio de uma política de atenção integral a essas pessoas desde a triagem neonatal até medidas preventivas e tratamento das complicações agudas e crônicas que podem se desencadear com a presença da doença.

1.3.5. Anemia Falciforme no Contexto dos Serviços de Saúde Pública de Ouro Preto

A saúde é o resultado de um conjunto de fatores sociais, econômicos, políticos e culturais, que se combinam de forma particular em cada sociedade em conjunturas específicas, resultando em sociedades mais ou menos saudáveis. A situação da saúde da população de cada sociedade, em geral, está estreitamente relacionada com o seu modo de vida e com os processos que o reproduzem e transformam. Para que a saúde possa ser promovida não basta apenas a mobilização do setor saúde e a atuação de seus profissionais, como também ações políticas e intersetoriais, com a mobilização da sociedade e de outros segmentos do poder público (RAMALHO et al., 2003).

A saúde pública tem como características e objetivos essenciais o estudo e a solução dos problemas que condicionam a saúde dos indivíduos integrados no seu meio ambiente, segundo planos e programas coordenados (FERREIRA, 1990). O objeto de trabalho da Saúde Pública no campo das ações de saúde tem como perspectiva a promoção e proteção da saúde individual e coletiva (ZAGO, 2001).

O Sistema Único de Saúde (SUS), nascido com a Constituição de 1988, representa o maior avanço político, democrático e social na área da promoção, proteção e recuperação da saúde, integrando as medidas assistenciais com as preventivas. A idéia básica do SUS parte do fato de que no município, menor unidade da federação, é onde vive o cidadão, que conhece os problemas e as prioridades da comunidade em que vive. “O município é responsável, em primeira instância, pela situação da saúde de sua população, organizando os serviços que estão sob sua gestão e/ou participando na construção do acesso aos demais serviços” (NOB-SUS 01/96, 1997). A descentralização político-administrativa do SUS (com predominância na municipalização de serviços e ações), o acesso universal e igualitário às disponibilidades do sistema, a participação da comunidade, a gratuidade do atendimento e o controle social são as vigas mestras do SUS.

Segundo a Divisão Territorial do Brasil, o município de Ouro Preto é um dos maiores em área territorial (1274 Km²) do estado de Minas Gerais, está localizado a 98 km de Belo Horizonte, numa região mineradora que faz parte da mesoregião metropolitana de Belo Horizonte. Ao avaliar a composição da população por raça no Brasil e em Minas Gerais observa-se que a população negra representa 44,66% e 45,43%, respectivamente. Por outro lado, se levarmos em consideração somente à cor preta, no estado de Minas Gerais, o número de indivíduos com esta cor representa 7,8% (IBGE, 2000). Apesar da média estadual da população preta ser de 7,8%, alguns municípios, devido a fatores históricos de seus primeiros habitantes, podem ter uma menor ou maior proporção de habitantes com esta cor. Um dos municípios que se enquadra nesta condição é Ouro Preto, um dos locais onde se estabeleceram quilombos e que possui uma percentagem de pessoas de cor preta atingindo uma cifra de 11,78%. Por outro lado, a percentagem de pessoas que se declararam negra atinge um valor de 60,18%, valor relativamente alto comparado com alguns municípios de Minas Gerais (IBGE, 2000). Assim, no município de Ouro Preto é de se esperar uma maior incidência de pessoas portadoras do gene para HbS do que em grande parte dos demais municípios de Minas Gerais. No entanto, os relatórios sobre a Morbidade Hospitalar do SUS por local de internação em Minas Gerais - MS/SVS/DASIS - DATASUS (<http://www.datasus.gov.br/>), até a presente data, não possui nenhum registro de internações e de taxa de mortalidade em decorrência de anemia falciforme na cidade de Ouro Preto. Em termos de registro sobre doença falciforme no município de Ouro Preto, a única informação que se conhece são os resultados do exame “Teste do Pezinho” realizado nos recém-nascidos somente a partir de fevereiro de 1998. Por outro lado, não se conhece nenhum registro informativo sobre o padrão das hemoglobinas dos ouro-pretanos que nasceram antes de fevereiro de 1998.

Atualmente, a Secretaria Municipal de Saúde de Ouro Preto possui convênios com várias entidades, visando ampliar o atendimento à população e a melhoria da qualidade de vida dos ouro-pretanos. No que se refere à realização de exames complementares, foi firmado um convênio entre a Prefeitura Municipal de Ouro Preto e o Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC), pertencente à Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP).

O LAPAC foi fundado em 1965 e tem como principal finalidade fornecer condições reais para as atividades de Ensino, Pesquisa e Extensão. O laboratório oferece a oportunidade de estágio supervisionado em Análises Clínicas, o que aprimora a formação acadêmica do aluno farmacêutico-analista clínico. Além disso, o LAPAC desenvolve atividades de pesquisa clínica com a finalidade de estabelecer prevalência e fatores determinantes das principais patologias do município, auxiliando a equipe de saúde no diagnóstico e monitoramento de patologias diversas para os usuários do SUS. Os dados gerados são analisados estatisticamente e são usados como base para a proposição de novas intervenções nas diretrizes dos serviços de saúde, contribuindo para melhoria da qualidade de vida da população. Anualmente, o LAPAC atende cerca de 10.000 pacientes encaminhados pelo SUS e realiza aproximadamente 50.000 exames provenientes de várias especialidades médicas.

Mediante a importância de um programa de assistência à saúde dos portadores de doença e anemia falciforme, a avaliação da incidência de hemoglobina S nos pacientes atendidos pelo LAPAC será de extrema importância para a obtenção de informações sobre a frequência do gene S e de outras variantes de hemoglobina na população de Ouro Preto, principalmente a população de faixa etária superior a 10 anos. Além disso, o resultado servirá como um suporte de medidas a serem tomadas pelos profissionais de Atenção Básica à Saúde do município de Ouro Preto, no sentido de prevenir as complicações clínicas que esta variante de hemoglobina pode trazer para quem a possui.

1.4. JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

Em termos de morbidade, atualmente, a anemia falciforme é considerada um problema de saúde pública no Brasil. Isto se deve ao fato de ser a doença hereditária de maior frequência (RAMALHO, 1986) e de alta morbimortalidade (PAIVA E SILVA et al., 1993), principalmente quando o diagnóstico é tardio e quando lesões em diversos órgãos já são evidentes (ZAGO, 2001).

Considerando a descendência da população ouro-pretana, a falta de informações sobre a frequência da HbS no município de Ouro Preto, a política de saúde para a população negra e a ação do Ministério da Saúde, no âmbito do Sistema Único de Saúde se faz necessário uma mobilização dos profissionais da saúde do município para efetivar uma prática

multiprofissional entre eles. Isto proporcionará o estabelecimento de um tratamento coerente com as atuais propostas de assistência ao paciente portador de anemia falciforme, incrementando novas orientações às pessoas em geral e principalmente àqueles indivíduos acometidos pela anemia falciforme, visando garantir melhor qualidade de vida à população.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a frequência de hemoglobinopatias nos pacientes do município de Ouro Preto/MG e distritos atendidos pelo LAPAC no período de agosto de 2008 a setembro de 2010.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Identificar os pacientes portadores de traço falciforme.
- 2.2.2. Identificar os pacientes portadores de doença falciforme.
- 2.2.3. Identificar os pacientes portadores de anemia falciforme.
- 2.2.4. Identificar outras variantes de hemoglobina.
- 2.2.5. Correlacionar a frequência de anemia com a presença ou não de hemoglobinopatias.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1. Equipamentos

Analizador DiaFAST - Drew Scientific Limited - Reino Unido, E.U.A. Sistema de cubas (~150 mL cada) para tampões da eletroforese horizontal, em acrílico, com eletrodos de platina; construído no próprio laboratório.

Contador Hematológico "18 Parâmetros" ABX/Micros 60 - HORIBA ABX - Montpellier, França.

Microscópio óptico, Nikon.

3.1.2. Materiais para Eletroforese

Ácido Acético, Merck

Ácido Tricloroacético, Merck

Aplicador de amostras

EDTA (Ácido etilenediaminotetraacético), Merck

Etanol, Merck

Fita úmida em Acetato de Celulose (2,5 x 14cm), Cellogel

Glicina, Merck

Metanol, Merck

Padrões de HbS e HbC, Helena Daignóstica

Papel absorvente Watman n°5

Saponina, Merck

Tiras de acetato de celulose da Cellogel

Tris-hidroximetil-aminometano, Merck

3.1.3. Materiais para o Teste de Solubilidade

Ditionito de sódio

KH_2PO_4 anidro, Merck

K_2HPO_4 anidro, Merck

Papel absorvente Watman n° 5

Placa escavada de kline, em vidro (6 x 8cm x 4mm), 12 escavações, Perfecta, Brasil

Saponina, Merck

3.1.4. Amostras de Sangue

As amostras de sangue foram obtidas por punção venosa de pacientes que voluntariamente concordaram em participar do projeto. Após a coleta as amostras foram dispensadas em tubos, devidamente rotulados, contendo EDTA como anticoagulante.

3.1.5. Corantes

Corante May Grünwald (C 004), Bioclin, Brasil

Corante Giemsa (C002), Bioclin/QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda, Brasil

Ponceau S, Sigma Chemical Co., E.U.A.

3.2. POPULAÇÃO ESTUDADA

A todos os pacientes, independente da idade e sexo, que procuraram os serviços oferecidos pelo LAPAC, durante o período de agosto de 2008 a setembro de 2010, foram ofertados, de forma gratuita, três exames adicionais (hemograma, eletroforese de hemoglobina em pH alcalino, testes de solubilidade de hemoglobina e Cromatografia Líquida de Baixa Pressão (troca iônica) para as amostras positivas para alguma variante de hemoglobina). Os pacientes foram informados sobre o projeto e seus objetivos. No dia agendado para a realização do(s) exame(s), inicialmente, o paciente ou o seu responsável recebeu uma explicação sobre a importância do projeto. Aqueles que concordaram em participar do projeto foram cadastrados (ANEXO 1) e após assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 2A e 2B) preencheram uma ficha de identificação (ANEXO 3) e uma amostra de sangue foi coletada para a realização dos exames adicionais especificados anteriormente. O estudo foi iniciado somente após a aprovação do Projeto pelo Comitê de Ética da UFOP (ANEXO 4), sob o número de registro CEP 2007/92, CAAE 0008.0.238.000-07.

3.3. EXAMES LABORATORIAIS

3.3.1. Avaliação hematológica

Após a homogeneização das amostras de sangue colhidas em EDTA, foram realizados no contador hematológico "18 Parâmetros" ABX/Micros 60, a determinação de número de hemácias ($10^{12}/L$), hematócrito (L/L), concentração de hemoglobina (g/dL), global de leucócitos ($10^9/L$), do número de plaquetas ($10^9/L$) e índices hematimétricos. As distensões de sangue periférico foram coradas pelo método de May Grünwald - Giemsa para a avaliação morfológica dos elementos figurados do sangue e para a contagem diferencial dos leucócitos em microscópio óptico sob imersão.

3.3.2. Eletroforese Quantitativa em Acetato de Celulose pH 8,0 - 9,0

As eletroforeses de hemoglobina em pH alcalino foram feitas conforme o método descrito por Marengo-Rowe, 1965, com modificações. Para as eletroforeses foram utilizadas fitas de acetato celulose como suporte, tampão Tris-Glicina, pH 8,6 e um padrão de hemoglobinas normais e das variantes mais comuns (HbS e HbC).

Em pH alcalino, a hemoglobina é uma proteína que se encontra carregada negativamente, migrando em direção ao pólo positivo. Esse método identifica as hemoglobinas normais e grande parte das variantes. As diferentes mobilidades verificadas entre as diversas hemoglobinas com defeitos estruturais se devem às alterações de cargas elétricas, causadas por substituições de aminoácidos de diferentes pontos isoelétricos (pI). As hemoglobinas que não envolvem alterações de cargas elétricas, geralmente apresentam mobilidade eletroforética semelhante à da HbA; nesse grupo situa-se a maioria das hemoglobinas instáveis.

3.3.2.1. Reagentes

3.3.2.1.1. Tampão: Tris-Glicina, pH 8,6

Tris-hidroximetil-aminometano.....	7,05g
Glicina.....	11,30g
Água destilada q.s.p.....	1000mL

3.3.2.1.2. Saponina 1%

Saponina.....	1g
Água destilada q.s.p.....	100mL

3.3.2.1.3. Solução Corante

Ponceau S.....	0,5g
Ácido Tricloroacético.....	5,0g
Etanol.....	50mL
Água destilada q.s.p.....	100mL

3.3.2.1.4. Solução Descorante

Metanol.....	40mL
Ácido Acético glacial.....	80mL
Água destilada q.s.p.....	920mL

3.3.2.2. Preparação do Hemolisado com Saponina 1%

Para preservar a HbH e Hb instáveis, os hemolisados foram preparados com sangue recente e saponina 1%. Para obter uma solução de hemoglobina livre de proteínas plasmáticas o hemolisado foi preparado com papa de hemácias e não com o sangue total.

3.3.2.2.1. Papa de Hemácias

Centrifugar 1 mL de sangue com anticoagulante a 1.500 rpm, durante 5 minutos; remover o plasma e lavar os eritrócitos por duas a três vezes com solução salina a 0,85%. Centrifugar novamente nas mesmas condições e desprezar o sobrenadante.

3.3.2.2.2. Hemolisado

Em um volume de eritrócitos lavados adicionaram-se dois volumes de saponina. Após homogeneizar e centrifugar a 1.500 rpm, durante 5 minutos, a solução de hemoglobina sobrenadante ou hemolisado, foi retirada, com o auxílio de uma pipeta, e transferida para um frasco limpo e devidamente etiquetado.

3.3.2.3. Eletroforese em Acetato de Celulose pH 8,6

Em cada compartimento eletrolítico da cuba de eletroforese colocou-se igual volume de tampão (Tris-Glicina, pH=8,6). Em seguida, as fitas de acetato celulose foram imersas na solução tampão por 15 minutos. Após o equilíbrio das fitas no tampão, estas foram enxugadas entre duas folhas de papel absorvente e, posteriormente, ajustadas no suporte da cuba de eletroforese. Em seguida, as amostras e os padrões de HbA, HbS e HbC (hemolisado) foram aplicadas nas fitas a 2 cm do compartimento do pólo negativo (catodo). Após aplicação das amostras e dos padrões, a corrida eletroforética foi realizada com a aplicação de 300 a 400 volts por 30 ou 20 minutos, respectivamente.

3.3.2.4. Coloração e Descoloração das fitas de Acetato Celulose

As fitas foram coradas por imersão em 100 mL de solução corante, Ponceau S a 0,5% em ácido tricloroacético a 5% preparado em etanol: água na proporção de 1:1, durante 10 min sob agitação.

As fitas foram descoradas por imersão em 100 mL de solução descorante, metanol: ácido acético: água na proporção de 1:2:20, durante 30 min a 4 horas. Várias trocas desta solução foram efetuadas durante este período.

3.3.3. Teste de Solubilidade Qualitativo em Papel de filtro (Teste da Mancha)

A hemoglobina S é insolúvel em uma solução com baixa tensão de oxigênio. Esta insolubilidade cria um halo central quando a solução contendo o sangue hemolisado é adicionada sobre um papel de filtro. Não permite a visualização de linha por detrás da microplaca devido a sua turbidez. Em amostras normais a visualização não é prejudicada.

3.3.3.1. Reagentes

3.3.3.1.1. Tampão Fosfato 100mM-saponina, pH 6,5

KH ₂ PO ₄ anidro.....	3,78g
K ₂ HPO ₄ anidro.....	9,33g
Saponina PA.....	2,50g
Água destilada qsp.....	250mL

3.3.3.1.2. Solução de Ditionito de sódio (preparar no momento de usar)

Ditionito de sódio.....	10mg
Tampão Fosfato 100mM-saponina, pH 6,5.....	1mL

3.3.3.2. Teste de Solubilidade

O procedimento utilizado foi adaptado a partir da metodologia descrita por Naoum & Domingos, 1997. Resumidamente, em uma placa escavada de Kline 20 µL de sangue total foram homogeneizados com 40 µL da solução de ditionito de sódio 1% em solução tampão fosfato pH 6,5, preparado no momento de usar. Em seguida, 10 µL dessa mistura foram aplicados em papel de filtro grau quantitativo. A hemoglobina S precipitada não se difunde no papel de filtro, formando um botão central facilmente identificado com halos mais claros nas bordas, enquanto o teste negativo apresenta uma mancha homogênea de sangue no papel de filtro.

3.3.4. Cromatografia Líquida de Baixa Pressão (LPLC) (Troca Iônica)

As amostras (hemolisados) foram injetadas no analisador DiaFAST. Nesse analisador, o programa DiaFAST Hemoglobin A1C permite a detecção e identificação de várias variantes de hemoglobina, utilizando LPLC associada à cromatografia de troca catiônica. As amostras foram diluídas em solução hemolisante, tampão Bis-Tris pH 6,0, e mantidas a temperatura ambiente. Cada amostra foi automaticamente e sequencialmente injetada no sistema de fluxo do tampão e posteriormente aplicada na coluna de troca catiônica, onde as diferentes hemoglobinas foram separadas. A hemoglobina separada passa por uma célula de fluxo do fotômetro onde a absorvância em 415 nm é medida. Um integrador embutido no sistema realizou a integração dos dados brutos coletados para cada análise. Em seguida, o programa do sistema organizou os valores das leituras das absorvâncias versus o tempo de retenção e expressou o resultado sob a forma de um cromatograma. Cada cromatograma acompanhado de um relatório de identificação, composto por percentual relativo e tempo de retenção de cada pico detectado, foi impresso e posteriormente escaneado.

3.4. AVALIAÇÃO DA FREQUÊNCIA DE ANEMIA MICROCÍTICA E HIPOCRÔMICA E DE ANEMIA NORMOCÍTICA E NORMOCRÔMICA

A avaliação da frequência de anemia microcítica e hipocrômica e de anemia normocítica e normocrômica foi baseada nos critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde que considera anemia as situações em que os valores de hemoglobina estão abaixo de 11 g/dL para crianças entre seis meses e seis anos, 13 g/dL para homens e 12 g/dL para mulheres e crianças entre seis e 14 anos (DEMAEYER et al., 1989) e nos critérios estabelecidos na literatura pesquisada sobre os valores referência para VCM (Volume Corpuscular Médio) e HCM (Hemoglobina Corpuscular Média), que atribui uma faixa de normalidade para VCM e HCM como sendo 78 a 98 fL e 25 a 34 pg, respectivamente. Assim para determinar a presença de microcitose e hipocromia, foi considerado microcitose quando o VCM foi menor que 80 fL e hipocromia quando o HCM foi menor que 24 pg, sem diferença entre os sexos em ambos os parâmetros. A anemia normocítica e normocrômica foi considerada nos casos em que havia uma baixa concentração de hemoglobina acompanhada de HCM e VCM normais (STIENE-MARTIN et al., 1997).

4. RESULTADOS

4.1. RESULTADOS

No período deste estudo foram triados 943 pacientes para a frequência de variantes da hemoglobina, tendo como foco a hemoglobina falciforme, também conhecida como hemoglobina S. Participaram do processo de avaliação pacientes que residem na cidade de Ouro Preto e distritos.

Os resultados mostraram que, de um total de 943 amostras de sangue, 309 eram do sexo masculino e 634 do sexo feminino, distribuídos em seis faixas etárias de maneira bastante heterogênea (Tabela 4.1). Em relação aos pacientes do sexo masculino a maioria, 115 pacientes (12,20%), apresentaram idade entre 41 e 60 anos, seguido de 78 pacientes (8,27%) com idade entre 0 a 10 anos, tal resultado nos permite agrupar estes pacientes, basicamente, em dois grupos de faixa etária. Por outro lado os pacientes do sexo feminino uma distribuição diferente com 209 pacientes (22,16%) com idade entre 41 e 60 anos, seguido de 197 pacientes (20,98%) com idade entre 21 e 40 anos e finalmente 103 pacientes (10,92%) com idade entre 0 a 10 anos.

Tabela 4.1 - Frequência de pacientes do sexo masculino e feminino de acordo com a faixa etária.

Faixa etária (em anos)	Masculino		Feminino		Total	
	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%
0 - 10	78	8,27	103	10,92	178	18,88
11 - 20	38	4,03	76	8,06	114	12,09
21 - 40	47	4,98	197	20,89	244	25,87
41 - 60	115	12,20	209	22,16	324	34,36
61 - 80	29	3,08	45	4,77	74	7,85
> 80	2	0,21	4	0,42	6	0,64
Total	309	32,77	634	67,31	943	100

O perfil hemoglobínico foi qualitativamente avaliado por eletroforese em fita de Acetato de Celulose pH 8,5, cujo perfil está mostrado na Figura 4.1. As amostras de sangue que mostraram hemoglobinas anormais foram analisadas por cromatografia de troca catiônica pelo método de Cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC), cujos cromatogramas estão ilustrados na Figura 4.2. Além disto, as amostras que mostraram positivas para a hemoglobina S, tanto pela eletroforese em acetato celulose pH alcalino quanto pela cromatografia de troca iônica, foram submetidas ao teste de solubilidade, cujo resultado está ilustrado na Figura 4.3.

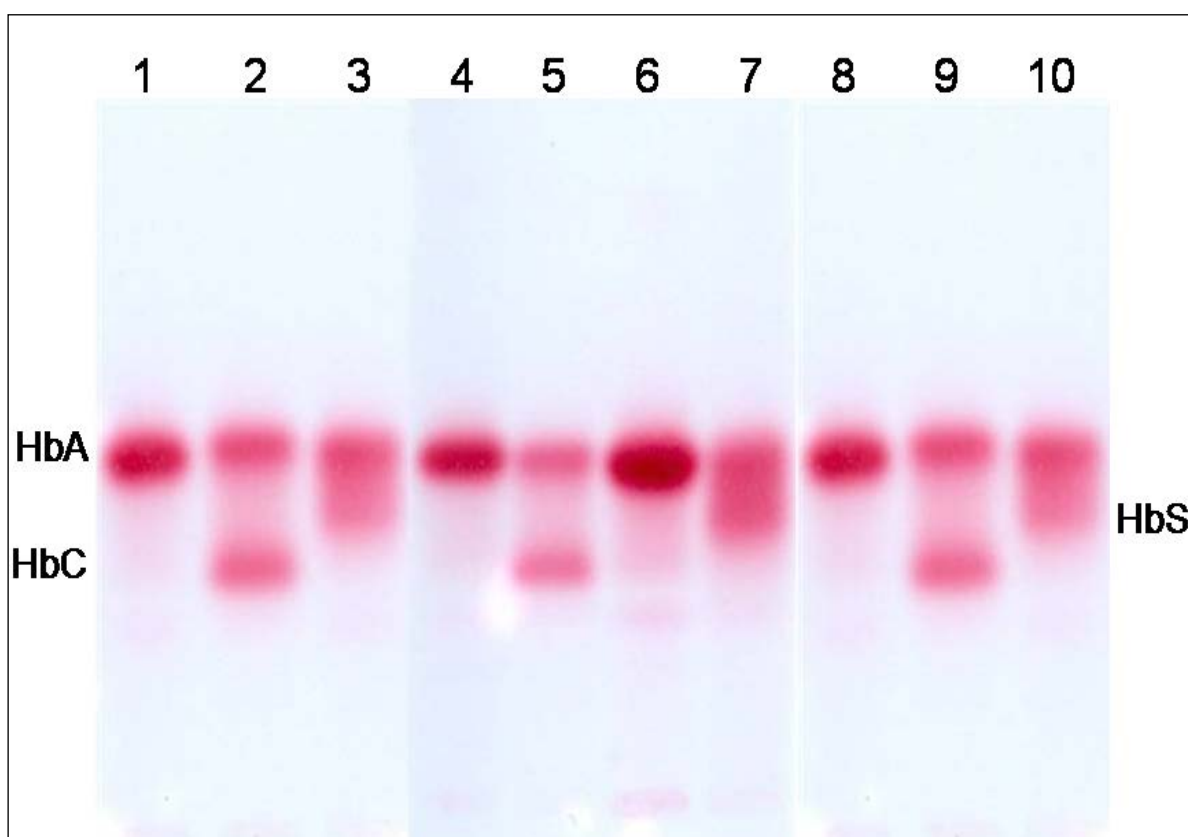


Figura 4.1: Eletroforese de hemoglobina em fita de Acetato de Celulose, tampão alcalino (pH 8,6). O hemolisado das amostras do sangue periférico colhido em EDTA foi preparado com clorofórmio. Após aplicação dos padrões e das amostras na fita de Acetato Celulose, efetuou corrida eletroforética por 30 minutos em tampão Tris-Glicina, pH 8,6. As amostras 1, 2 e 3 são padrões para hemoglobina normal (Hb AA), heterozigose para HbC (HbAC) e traço falciforme (HbAS), respectivamente. As amostras 4 a 10 respectivamente pertencem a pacientes com HbAA, HbAC, HbAA, HbAS, HbAA, HbAC e HbAS.

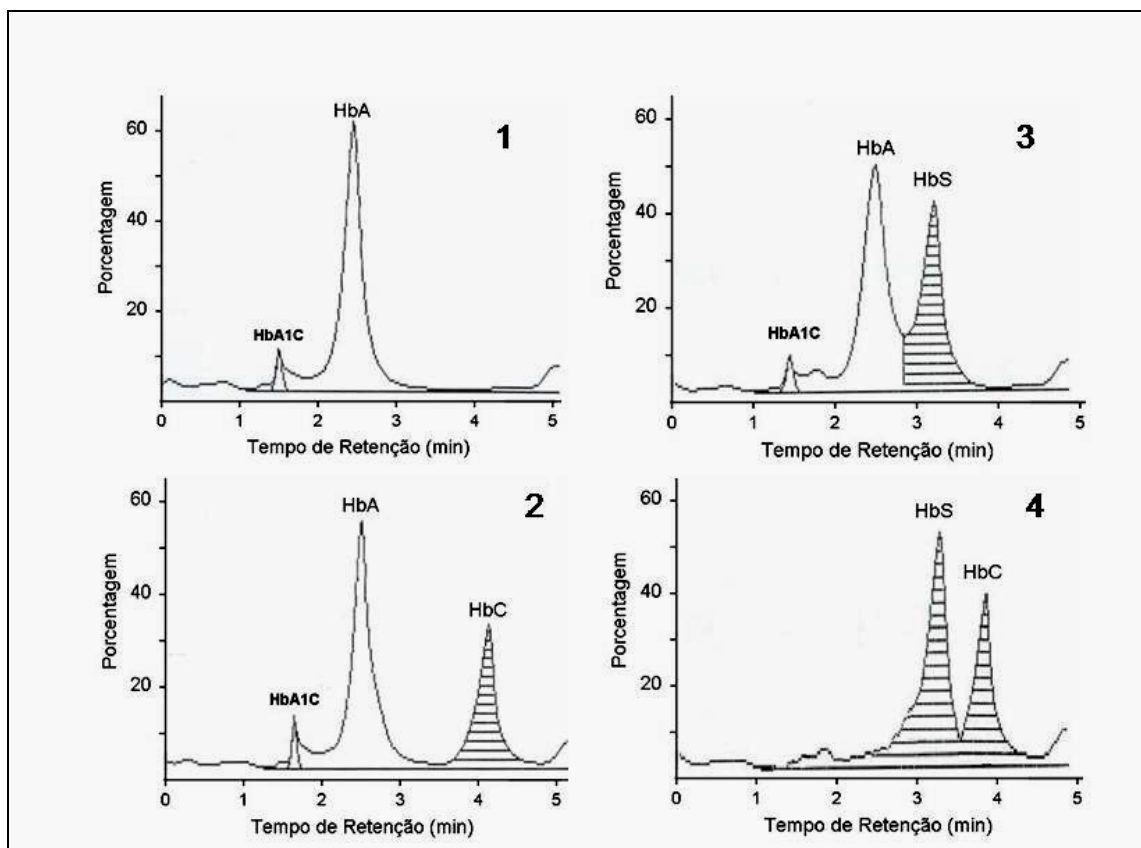


Figura 4.2: Cromatogramas de hemoglobinas por cromatografia de troca catiônica pela técnica de Cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC). A separação das diferentes hemoglobinas pelo programa DiaFAST Hemoglobina A₁C se baseia na competição entre os diferentes tipos de hemoglobina carregada positivamente (Tampão Bis-Tris, pH 6,5) e os íons potássio presentes no tampão de eluição com os sítios de carga negativa presentes na resina. Gráficos: 1- paciente com perfil hemoglobínico normal, 2- paciente com HbAC (heterozigose para hemoglobina C), 3- paciente com HbAS (heterozigose para hemoglobina S) e 4- paciente com HbSC (dupla heterozigose para hemoglobina S e C).

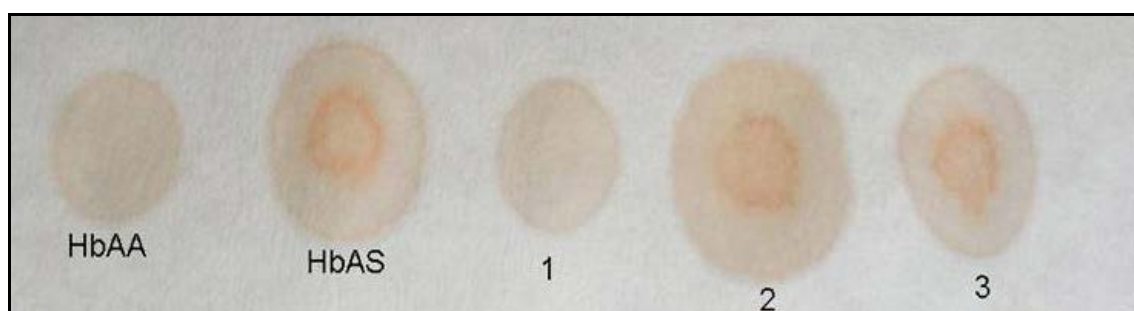


Figura 4.3: Visualização do teste de solubilidade da HbS em papel de filtro. O teste foi realizado pela adição de 20 μ L de sangue em 0,2 mL de solução de ditionito de sódio a 1% em tampão fosfato 0,1M pH 6,5 e após homogeneização 10 μ L da suspensão foi colocada em papel de filtro Whatman n° 6. HbAA: Controle negativo; HbAS: controle positivo - traço falciforme. Amostra 1: paciente negativo para HbS e amostras 2 e 3: pacientes positivos para traço falciforme na eletroforese em fita de acetato celulose, pH 8,5 e LPLC.

A Tabela 4.2 mostra que a presença de hemoglobina anormal foi identificada em 62 (6,6%) amostras. Os resultados do perfil hemoglobínico apresentado pelas análises das amostras estão sumarizados na Tabela 4.3. Dentre as 62 amostras que apresentaram hemoglobina anormal (Tabela 4.2 e 4.3), a HbAS, diagnosticada pela eletroforese em fita de Acetato de Celulose pH 8,5 e confirmada por cromatografia e pelo teste de solubilidade, foi identificada em 46 (4,88%) amostras. Além da presença prevalente do traço falciforme, a heterozigose para a HbC (HbAC) e a dupla heterozigose para HbS e HbC (HbSC), conhecida como doença falciforme, foram identificadas em 15 (1,59%) e em 1 (0,11%) das amostras analisadas, respectivamente.

Tabela 4.2 - Características das hemoglobinas encontradas nas amostras analisadas.

Características das hemoglobinas	Casos (n)	%
Hemoglobinas normais	881	93,4
Hemoglobinas anormais	62	6,6
Total	943	100

Tabela 4.3 - Perfil hemoglobínico identificado nas amostras analisadas.

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

HbAA: homozigose para HbA, HbAS: traço falciforme e HbAC: heterozigose para HbC

A Tabela 4.4 mostra que 94,48% dos pacientes do sexo feminino que foram avaliados para a presença de hemoglobinopatias possuem um padrão normal de hemoglobina (HbAA) e entre estes pacientes 31,55% possuem faixa etária entre 41 e 60 anos. Em relação aos portadores de traço falciforme (HbAS) e aos pacientes heterozigotos para a HbC (HbAC) foram encontradas uma frequência de 4,26% e 1,26%, respectivamente, sendo que a maior frequência de HbAS (1,74%) e de HbAC (0,95%) foi observada em pacientes com faixa etária entre 21 e 40 anos, ressaltando maior prevalência de heterozigose para as HbS e HbC em mulheres que estão em idade fértil.

Ao avaliar a distribuição das hemoglobinas normais e das variantes nos pacientes do sexo masculino de acordo com a faixa etária foi possível observar que 91,26% dos pacientes apresentaram HbAA (Tabela 4.5). Em relação às variantes de hemoglobina encontradas nestes pacientes, o traço falciforme representou 6,15%, a heterozigose para a HbC (HbAC) representou 2,27% e a dupla heterozigose para a HbS e HbC (HbSC) representou 0,32%. Entre estes pacientes a HbAS foi mais frequente (2,27%) nos pacientes com faixa etária entre 41 e 60 anos e uma maior frequência para HbAC (1,29%) foi observada nos pacientes com faixa etária entre 0 a 10 anos.

Ao avaliar a frequência de anemia microcítica e hipocrômica nos pacientes do sexo feminino e portadores de variantes de hemoglobina foi possível observar que apenas uma paciente com idade entre 14 e 60 anos, portadora de HbAS, apresentou anemia microcítica e hipocrômica (Tabela 4.6). A Tabela 4.7 mostra que somente um paciente do sexo masculino, portador de traço falciforme e com faixa etária entre 0 e 6 anos apresentou anemia microcítica e hipocrômica. Entre os pacientes portadores de variante de hemoglobina não foi observado nenhum caso de anemia normocítica e normocrômica, independente do sexo e faixa etária.

A Tabela 4.8 mostra uma avaliação comparativa entre a frequência do gene S na população estudada e a encontrada nas diferentes regiões do Brasil. Nesta avaliação foi possível observar que a frequência do gene S na população estudada foi menor do que a frequência observada no estado da Bahia, mas foi maior do que a encontrada nos estados de Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Goiás.

Tabela 4.4 - Distribuição das hemoglobinas normais e das variantes em relação à idade nos pacientes do sexo feminino.

Perfil Hemoglobínico	Idade (anos)												Total	
	0 a 10		11 a 20		21 a 40		41 a 60		61 a 80		> 80			
	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%
AA	98	15,45	74	11,67	180	28,39	200	31,55	43	6,78	4	0,63	599	94,48
AS	4	0,63	1	0,16	11	1,74	9	1,42	2	0,32	0	0	27	4,26
AC	1	0,16	1	0,16	6	0,95	0	0	0	0	0	0	8	1,26
SC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Total													634	100

HbAA: homozigose para HbA, HbAS: traço falciforme, HbAC: heterozigose para HbC e HbSC: dupla heterozigose para HbS e C

Tabela 4.5 - Distribuição das hemoglobinas normais e das variantes em relação à idade nos pacientes do sexo masculino.

Perfil Hemoglobínico	Idade (anos)												Total	
	0 a 10		11 a 20		21 a 40		41 a 60		61 a 80		> 80			
	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%	Casos (n)	%
AA	70	22,65	34	11,00	43	13,91	106	34,30	27	8,74	2	0,64	282	91,26
AS	4	1,29	3	0,97	4	1,29	7	2,27	1	0,32	0	0	19	6,15
AC	4	1,29	1	0,32	0	0	1	0,32	1	0,32	0	0	7	2,27
SC	0	0	0	0	0	0	1	0,32	0	0	0	0	1	0,32
Total													309	100

HbAA: homozigose para HbA, HbAS: traço falciforme, HbAC: heterozigose para HbC e HbSC: dupla heterozigose para HbS e C

Tabela 4.6 - Frequência de anemias microcítica e hipocrômica e normocítica e normocrômica nos pacientes do sexo feminino, conforme faixa etária e perfil de hemoglobina

Faixa etária (em anos)	A.M.H.				*A.N.N.			
	Casos (n)	AA	AS	AC	Casos (n)	AA	AS	AC
0 – 6	2	2	0	0	2	2	0	0
6 – 14	1	1	0	0	0	0	0	0
14 – 60	9	8	1	0	4	4	0	0
61 – 80	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	15	14	1	0	6	6	0	0

A.M.H.: Anemia Microcítica e Hipocrômica, A.N.N.: Anemia Normocítica e Normocrômica
HbAA: homozigose para HbA, HbAS: traço falciforme e HbAC: heterozigose para HbC

Tabela 4.7 - Frequência de anemias microcítica e hipocrômica e normocítica e normocrômica nos pacientes do sexo masculino, conforme faixa etária e perfil de hemoglobina

Faixa etária (em anos)	A.M.H.				*A.N.N.			
	Casos (n)	AA	AS	AC	Casos (n)	AA	AS	AC
0 – 6	3	2	1	0	0	0	0	0
6 – 14	0	0	0	0	0	0	0	0
14 – 60	3	3	0	0	0	0	0	0
61 – 80	1	1	0	0	1	1	0	0
Total	7	6	1	0	1	1	0	0

A.M.H.: Anemia Microcítica e Hipocrômica, A.N.N.: Anemia Normocítica e Normocrômica.
HbAA: homozigose para HbA, HbAS: traço falciforme e HbAC: heterozigose para HbC

Tabela 4.8 - Comparação dos achados com a frequência do gene S nas diferentes regiões do Brasil

Cidade/Estado	HbAS	HbAC	Doença Falciforme
Ouro Preto	4,88	1,59	0,11
Bahia	5,30 ^a	0,5-1,0 ^c	0,15 ^a
Pernambuco	4,00 ^a	0,60 ^b	0,07 ^a
Rio de Janeiro	4,00 ^a	0,40 ^b	0,08 ^a
Minas Gerais	3,00 ^a	0,73 ^d	0,07 ^a
São Paulo	2,60 ^a	0,57 ^b	0,03 ^a
Rio Grande do Sul	2,00 ^a	0,40 ^b	0,01 ^a
Goiás	2,20 ^c	1,00 ^c	0,50 ^a

a: CANÇADO & JESUS, 2007; b: SILVA & YAMAGUCHI, 2007; c: MELO-REIS et al., 2006; d: MELO et al., 2000.

5. DISCUSSÃO

5.1. DISCUSSÃO

A cidade de Ouro Preto, tombada pela UNESCO como Patrimônio Histórico e Cultural da Humanidade, localizada na região central do estado de Minas Gerais, distando cerca de 90 km da capital Belo Horizonte e 800 km de Brasília, está situada na extremidade sudeste da região conhecida como Quadrilátero Ferrífero, na zona minerometalúrgica do estado de Minas Gerais.

O município desenvolveu-se a partir da descoberta de abundantes depósitos de ouro aluvionar no final do século XVII, tendo rapidamente se tornado o segundo maior centro populacional na América Latina e também capital da Província de Minas Gerais. Fundada em 1698, a histórica cidade nasceu da aglomeração dos arraiais surgidos nas áreas de mineração presentes nas encostas dos montes Ouro Preto e Itacorumbim, no vale do rio Funil (CURY, 2004).

As notícias das descobertas de ouro geraram um grande fluxo migratório para as regiões mineradoras, de tal maneira que no início do ciclo do ouro, tentou-se usar da mão de obra livre, mas o trabalho árduo passou a afastar as pessoas e, então, o escravo africano passou a ser largamente trazido para o município. Os negros mineiros vieram sobretudo do estado da Bahia ou diretamente da Angola. Naquela época, um escravo ficava em média sete anos trabalhando na mineração do ouro, o que obrigava os colonos a trazer cada vez mais africanos, que passaram a compor a maioria da população mineira no século XVIII (http://pt.wikipedia.org/wiki/Demografia_de_Minhas_Gerais).

Segundo o censo 2000 do IBGE, 60,2% dos moradores da cidade de Ouro Preto são indivíduos afro-descendentes, também considerados afro-brasileiros. Esta percentagem, resultante do somatório dos indivíduos que se declararam negros (11,78%) e pardos (48,42%), é muito superior à população afro-brasileira observada no Brasil (44,1%), o que pode ter contribuído para a introdução do gene da hemoglobina S na população ouro-pretana, apesar deste gene não ser exclusivo dos indivíduos de origem africana, mesmo sendo herdada e mais frequente nas pessoas dessa origem. Além disso, o processo de colonização é relatado como de grande influência na dispersão dos genes anormais, principalmente a doença falciforme que se originou na África e foi trazida para a América pela imigração forçada dos escravos (ORLANDO et al., 2000; DIALLO & TCHERNIA, 2002).

Os benefícios do diagnóstico e da intervenção precoce no acompanhamento das doenças falciformes têm levado à ampla difusão em todo mundo de programas para a detecção dessas condições (BRANDELISE et al., 2004). Com a introdução da investigação de hemoglobinas variantes no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), no ano de 2001, Portaria GM/MS nº 822 de 06 de junho de 2001, iniciou-se um trabalho de identificação do padrão hemoglobínico dos recém-nascidos, assim como de seus pais e familiares próximos. Apesar desta oportunidade, aproximadamente 25% das famílias não retornaram para fazer o teste confirmatório, dificultando o processo de triagem e identificação da totalidade que tem acesso ao teste disponibilizado pela rede pública de saúde. Além disso, no início da implantação da Portaria GM/MS nº 822/01, os serviços de saúde pública foram encontrados, em sua grande maioria, sem aporte financeiro e técnico para a identificação dos pacientes com hemoglobinopatia e/ou portadores do traço falciforme. De qualquer forma, naquela época, constatou-se a necessidade de uma avaliação da presença do traço falciforme, por meio de estudos populacionais, no sentido de permitir o diagnóstico de heterozigotos e o aconselhamento genético (PAIXÃO et al., 2001).

O presente estudo evidenciou uma frequência de 4,88% para o traço falciforme e 1,59% para a HbAC nas amostras de sangue de pacientes atendidos pelo LAPAC no período de agosto de 2008 a setembro de 2010. A frequência encontrada para o traço falciforme é superior ao relatado por Naoum, 2000, que mostra uma variação de 2% para a prevalência média de portadores do traço falciforme no Brasil e esta pode aumentar de acordo com a região e a etnia da população em estudo. Estudos realizados por Silva Filho, 2002, mostram uma prevalência de 3,2% do traço falciforme em trabalhadores no estado do Rio de Janeiro. Na Bahia, o traço falciforme apresentou uma frequência de 6,9 a 15,4%, em indivíduos afro-descendentes (GONÇALVES et al., 2003), caracterizando a herança genética, advinda de várias regiões da África, quando do advento da escravatura.

A detecção de heterozigotos é uma informação genética importante para identificar famílias que possuem risco de gerar crianças portadoras de doença falciforme, possibilitando o acesso desta família ao aconselhamento familiar. Os genes de HbS e HbC identificados na amostra apresentaram-se distribuídos de forma heterogênea entre as diferentes faixas etárias em ambos os sexos, principalmente entre os pacientes do sexo masculino (Tabelas 4.4 e 4.5), não havendo relato de nenhum caso de HbAC em pacientes do sexo feminino acima de 60 anos.

A população brasileira se caracteriza por apresentar grande heterogeneidade genética, oriunda da contribuição que lhes deram os seus grupos raciais formadores e dos diferentes graus de miscigenação nas várias regiões do país (NAOUM, 1997). Em nosso estudo 62 pacientes apresentaram heterozigose para variante estrutural de hemoglobina. Destes 46 apresentaram HbAS, representando 74,2% do total dos portadores, 15 apresentaram HbAC, representando 24,2% dos portadores de variante estrutural, e 1 paciente apresentou dupla heterozigose para as hemoglobinas S e C (HbSC), representando 1,6% dos pacientes portadores de hemoglobinopatias. Em relação à frequência de heterozigose para as hemoglobinas S e C, nossos resultados mostraram frequências superiores às encontradas em um dos maiores estudos de prevalência e distribuição de hemoglobinopatias realizado no Brasil, em 1987, em que 3,08% dos indivíduos analisados apresentaram padrões hemoglobínicos alterados, e destes, 2,49% eram variantes estruturais (NAOUM et al., 1987). Neste mesmo estudo, a condição HbAS foi a mais prevalente, representando 60,95% do total dos portadores, enquanto que a condição HbAC foi detectada em 14,27% dos casos (NAOUM et al., 1987).

Em indivíduos portadores do traço falciforme (HbAS), existe produção tanto de HbA quanto de HbS, o que resulta em um fenótipo normal (BALLAS, 2001). No entanto, situações em que os pais são portadores assintomáticos de um único gene mutado (heterozigotos AS) e ao transmitir geneticamente, cada um deles, o gene falciforme, pode gerar uma criança com dois genes anormais (homozigoto SS), ou seja, com doença falciforme ativa (BOOKCCHIN & LEW, 1996).

As manifestações clínicas da doença falciforme são resultantes de dois processos característicos: anemia severa e vaso-oclusão. A anemia resulta da meia-vida mais curta das células eritróides contendo primariamente HbS; enquanto as hemácias normais circulam por aproximadamente 120 dias, as que contêm HbS circulam por apenas 10 a 20 dias, levando os pacientes a apresentarem anemia de moderada a severa. O segundo, e fisiopatologicamente mais complexo, resultado da homozigose para HbS é a vaso-oclusão. O efeito intravascular causado pela mudança espacial da Hb leva à formação de feixes helicoidais que alteram sobremaneira a permeabilidade da membrana a íons, a relação hemácia/vaso e a agregação hemácia/hemácia e hemácia/vaso (BALLAS, 1996).

As diversas formas de doença falciforme se caracterizam por anemia crônica e fenômenos de vaso-oclusão de intensidade variável, que levam episódios de dores ósteo-

articulares que podem ser incapacitantes, exigindo internações hospitalares frequentes (ADAM et al., 2008). Na infância, as infecções e crises de vaso-oclusão intra-esplênica (sequestro esplênico) são as principais causas de mortalidade, podendo atingir 20% das crianças afetadas antes dos 5 anos de idade (BALLAS, 2001). As crianças que ultrapassam essa barreira inicial enfrentam os efeitos da vaso-oclusão crônica. Ao longo dos anos, essas pequenas trombozes passam a ser o fator determinante para o desgaste dos órgãos, que leva aos infartos pulmonares, hepáticos e cerebrais, insuficiência renal e retardo do crescimento e da maturação sexual, com comprometimento progressivo de múltiplos órgãos. Tais fenômenos alteram expressivamente a qualidade de vida do indivíduo, com redução da capacidade de trabalho e da expectativa de vida (BALLAS, 2001).

No Brasil, o gene falciforme distribuiu-se heterogeneamente, sendo mais frequente onde a proporção de antepassados negros da população é maior (Região Nordeste e os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais). Nessas regiões, Zago e colaboradores, 1983, relataram o surgimento de um novo caso de doença falciforme para cada 1.000 nascimentos e a presença de um portador do traço falciforme em cada 27 nascimentos. A Tabela 8 mostra que a população ouro-pretana em estudo apresenta uma frequência de 4,88% para a HbAS e que esta é superior à encontrada nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Pernambuco, Rio Grande do Sul, Goiás e Minas Gerais, sendo inferior somente à que foi observada no estado da Bahia. Uma frequência superior àquela encontrada para o estado de Minas Gerais pode ser explicada pela alta porcentagem de afro-brasileiros residentes no município de Ouro Preto, 60,18%, conforme informações do Censo de 2000, valor que é relativamente alto comparado com outros municípios do estado de Minas Gerais (IBGE, Censo 2000).

Além da avaliação da frequência de variantes de hemoglobina, fez-se também um estudo da frequência de pacientes do sexo masculino e feminino de acordo com a faixa etária (Tabela 1). Nesse estudo foi possível observar que houve uma maior frequência de pacientes, independente do sexo, com faixa etária entre 41 e 60 anos. Por outro lado, ao avaliar a frequência de pacientes com variantes de hemoglobina (Tabelas 4.2 e 4.3), não se observou uma maior prevalência de HbAS nos pacientes com idade entre 41 e 60 anos (Tabelas 4.4 e 4.5) e sim uma maior frequência de HbAS (1,74%) nos pacientes do sexo feminino (Tabela 4.4) com idade entre 21 e 40 anos do que entre as de 41 e 60 anos (1,42%). Em relação aos pacientes do sexo masculino, os achados para a frequência de HbAS foram, respectivamente, 1,29% e 2,27% para as faixas etárias de 21 a 40 anos e 41 a 60 anos (Tabela 4.5). Estes

achados são de grande relevância, principalmente por estes pacientes, heterozigotos para o gene falciforme, estarem em idade fértil e também em termos de um posterior trabalho abordando estudos de aconselhamento genético no sentido de alertá-las para a importância do diagnóstico neonatal dos filhos que venham ter e não no sentido de alterar a decisão de ter filhos. Uma maior frequência de HbAS observada nos pacientes do sexo masculino pode ser em decorrência da maior preferência pela mão de obra masculina de origem africana trazida para a cidade de Ouro Preto, principalmente durante o período do ciclo do ouro.

Em relação aos pacientes, independente do sexo, com faixa etária entre 0 a 20 anos, a frequência de HbAS e HbAC foi baixa quando comparada à observada em pacientes com idade acima de 20 anos. Este resultado pode ser consequência do número de pacientes com faixa etária entre 0 a 20 anos ser menor do que os pacientes com faixa etária entre 21 a 60 anos ou em decorrência da existência do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) que incluiu a pesquisa de hemoglobinopatias, implantado em 2001 pelo Ministério da Saúde por meio da Portaria nº 822/01.

Em relação à frequência das anemias microcítica e hipocrômica e normocítica e normocrômica, os resultados encontrados foram baixos, independente do sexo e idade (Tabelas 4.6 e 4.7). Uma baixa frequência, principalmente para a anemia microcítica e hipocrômica pode ser decorrente da presença de anemia ferropênica, por ser uma das anemias de maior prevalência na população brasileira (BAGNI et al., 2009), apesar de não ter sido realizada dosagem de ferro sérico e ferritina nestes pacientes.

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

6. CONCLUSÕES

6.1. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo mostram que a frequência de variantes estruturais de hemoglobina foi de 6,6%, sendo 4,88% para o traço falciforme (HbAS), 1,59% para o genótipo AC e 0,11% para o genótipo SC. Não foram detectados indivíduos homocigotos para nenhum dos tipos de hemoglobinas variantes na amostra analisada. Os resultados encontrados foram superiores aos encontrados nos estados de Pernambuco, Rio de Janeiro, Minas Gerais, São Paulo e Goiás, mostrando a dispersão dos genes para a HbS e HbC na população de Ouro Preto. Os resultados obtidos ressaltam a necessidade e a importância de realizar programas com maior abrangência na população para estudo da epidemiologia das hemoglobinas variantes e de outras hemoglobinopatias resultantes de uma diminuição da síntese de uma ou mais cadeias de globina, no município de Ouro Preto. Nos casos de indivíduos diagnosticados com anemia falciforme, deve ser realizado um trabalho adequado de orientação para conscientizar esses pacientes não só em relação aos cuidados individuais, mas em termos de aconselhamento genético, uma vez que a detecção de portadores destas alterações genéticas é de extrema importância para a saúde pública em termos de representar uma fonte de novos heterocigotos e de possíveis homocigotos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7.1. REFERÊNCIAS

- ADAM, S.; JONASSAINT, J.; KRUGER, H.; KAIL, M.; ORRINGER, E. P.; ECKMAN, J. R.; ASHLEY-KOCH, A.; TELEN, M. J.; DE CASTRO, L. M. Surgical and obstetric outcomes in adults with sickle cell disease. *The American Journal of Medicine*, v. 121, n. 10, p. 916-921, 2008.
- ANTONARAKIS, S. E.; KAZAZIAN-JUNIOR, H. H.; ORKIN, S. H. DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters. *Human Genetics*, v. 69, n. 1, p. 1-14, 1985.
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília, Ministério da Saúde, 2002.
- BAGNI, U. V.; BAIÃO, M. R.; SANTOS, M. M. A. S.; LUIZ, R. R.; VEIGA, G. V. Efeito da fortificação semanal do arroz com ferro quelato sobre a frequência de anemia e concentração de hemoglobina em crianças de creches municipais do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 25, n. 2, p. 291-302, 2009.
- BALLAS, S. K. Sickle cell disease: current clinical management. *Seminars in Hematology*, v. 38, n. 4, p. 307-314, 2001.
- BALLAS, S. K.; MOHANDAS, N. Pathophysiology of vaso-occlusion. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 10, n. 6, p. 1221-1239, 1996.
- BARFIELD, W. D.; BARRADAS, D. T.; MANNING, S. E.; KOTELCHUCK, M.; SHAPIRO-MENDOZA, C. K. Sickle cell disease and pregnancy outcomes: women of African descent. *American Journal of Preventive Medicine*, v. 38, suppl. 4, p. 542-549, 2010.
- BAUDIN, V.; PAGNIER, J.; LABIE, D.; GIROT, R.; WAJCMAN, H. Heterogeneity of sickle cell disease as shown by density profiles: effects of fetal hemoglobin and alpha thalassemia. *Haematologia*, v. 19, n. 3, p. 177-184, 1986.
- BOOKCHIN, R. M.; LEW, V. L. Pathophysiology of sickle cell anemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 10, n. 6, p. 1241-1253, 1996.
- BRANDELISE, S.; PINHEIRO, V.; GABETTA, C. S.; HAMBLETON, I.; SERJEANT, B.; SERJEANT, G. Newborn screening for sickle cell disease in Brazil: the Campinas experience. *Clinical and Laboratory Haematology*, v. 26, n. 1, p. 15-19, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 822/GM de 06 de junho de 2001. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. Disponível em:
< <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2001/GM/GM-822.htm> >.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 1.391/GM de 16 de Agosto de 2005. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde, as diretrizes para a Política Nacional de Atenção

- Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias. Brasília: Ministério da Saúde, 2005. Disponível em:
< <http://dtr2001.saude.gov.br/sas/PORTARIAS/Port2005/GM/GM-1391.htm> >.
- CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 204-206, 2007.
- CHARACHE, S. Sudden death in sickle trait. *The American Journal of Medicine*, v. 84, n. 3, p. 459-461, 1988.
- CHIEN, S.; USAMI, S.; BERTLES, J. F. Abnormal rheology of oxygenated blood in sickle cell anemia. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 49, n. 4, p. 623-634, 1970.
- CURY, I. *Cartas Patrimoniais*. 3^a. ed. Rio de Janeiro: IPHAN, 2004.
- DEMAEYER, E. M.; DALLMAN, P.; GURNEY, J. M.; HALLBERG, L.; SOOD, S. K.; SRIKANTIA, S. G. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care - A guide for health administrators and programme managers, World Health Organization - Geneva, 1989.
- DIALLO, D.; TCHERNIA, G. Sickle cell disease in Africa. *Current Opinion in Hematology*, v. 9, n. 2, p. 111-116, 2002.
- FERREIRA, F. A. G. *Moderna Saúde Pública*, 6^a edição, v.1; Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1990.
- GACON, P. H.; DONATIEN, Y. Cardiac manifestations sickle cell anemia. *La Presse médicale*, v. 30, n. 17, p. 841-845, 2001.
- GALACTEROS F. Physopathological basis of sickle cell disease. Management and current therapeutics. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, v. 94, n. 2, p.77-79, 2001.
- GLADWIN, M. T.; VICHINSKY, E. Pulmonary complications of sickle cell disease. *The New England Journal of Medicine*, v. 359, n. 21, p. 2254-2265, 2008.
- GONÇALVES, M. S.; BONFIM, G. C; MACIEL, E.; CERQUEIRA, I.; LYRA, I.; ZANETTE, A.; BOMFIM, G.; ADORNO, E. V.; ALBUQUERQUE, A. L.; PONTES, A.; DUPUIT, M. F.; FERNANDES, G. B.; DOS REIS, M. G. β^S -haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, v. 36, n. 10, p. 1283-1288, 2003.
- GREGORI, J.; SANTOS, H. Grupo de Trabalho Interministerial para Valorização da População Negra, Brasília-DF, 1998. Disponível em:
< http://www.planalto.gov.br/publi_04/COLECAO/RACIAL2.HTM >.
- HEBBEL, R. P.; OSAROGIAGBON, R.; KAUL, D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. *Microcirculation*, v. 11, n. 2, p. 129-151, 2004.

- HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Archives of Internal Medicine*, v. 6, n. 5, p. 517-521, 1910.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Censo Demográfico 2000, Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA), 2000. Disponível em:
< http://www.ibge.gov.br/censo/plano_divulg.php >.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Indicadores de Desenvolvimento Sustentável: Censo demográfico de 2000. Rio de Janeiro: IBGE, 2002, p. 1-376.
- KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Reviews*, v. 21, n. 1, p. 37-47, 2007.
- LANZKRON, S.; STROUSE, J. J.; WILSON, R.; BEACH, M. C.; HAYWOOD, C.; PARK, H.; WITKOP, C.; BASS, E. B.; SEGAL, J. B. Systematic review: hydroxyurea for the treatment of adults with sickle cell disease. *Annals of Internal Medicine*, v. 148, n. 12, p. 939-955, 2008.
- LAWRENCE, P. R.; RYAN, K. M.; HARNEY, K. M. Sickle cell disease in children. Providing comprehensive care for a chronic condition. *Advance for nurse practitioners*, v. 8, n. 5, p. 48-55, 2000.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. *Princípios de Bioquímica*. 4ª ed. São Paulo: Sarvier, 2006.
- LUDVIGSEN, F. B. Hemoglobin synthesis and function, In: STIENE-MARTIN, E. A.; LOTSPEICH-STEININGER, C. A.; KOEPKE, J. A. (Eds.), *Clinical Hematology: principles, procedures, correlations*. Philadelphia/New York: Lippincott, 1998, p. 73-86.
- MANIATIS, T.; FRITSCH, E. F.; LAUER J.; LAWN, R. M. The molecular genetics of human hemoglobins. *Annual Review of Genetics*, v. 14, p. 145-178, 1980.
- MARENGO-ROWE, A. J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *Journal of Clinical Pathology*, v. 18, n. 6, p. 790-792, 1965.
- MELO, S. M. A.; ARANTES, S. C. F.; BOTELHO FILHO, A.; ROCHA, A. F. S. Prevalência de hemoglobinopatias em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia - MG. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 22, supl. 51, 2000.
- MELO-REIS, P. R.; NAOUM, P. C.; DINIZ-FILHO, J. A. F.; DIAS-PENNA, K. G. B.; MESQUITA, M. M.; BALESTRA, F. A.; TERNES, Y. M. F.; MASCARENHAS, C. C.; CHEN, L. C. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 42, n. 6, p. 425-430, 2006.

- MODELL, B. Etica del diagnóstico prenatal y asesoramiento genético. Foro Mundial de la Salud (OMS), v. 11, n. 2, p. 179-186, 1990.
- NAOUM, P. C. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier; 1997.
- NAOUM, P. C. Prevalência e controle da hemoglobina S. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 22, supl. 2, p. 142-148, 2000.
- NAOUM, P. C.; ALVARES FILHO, F.; DOMINGOS, C. R. B.; FERRARI, F.; MOREIRA, H. W.; SAMPAIO, Z. A.; MAZIERO, P. A.; CASTILHO, E. M. Hemoglobinas anormais no Brasil: prevalência e distribuição geográfica. Revista Brasileira de Patologia Clínica, v. 23, n. 3, p. 68-79, 1987.
- NAOUM, P. C.; DOMINGOS, C. R. B. Técnicas laboratoriais para identificação das hemoglobinas normais e anormais, In: NAOUM, P. C. (Ed.), Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997, p. 155-156.
- NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. Biologia social da doença falciforme. In: NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. (Eds), Doenças das Células Falciformes. São Paulo: Sarvier, 2004, p. 188-190.
- NOB - Norma Operacional Básica do Sistema Único de Saúde/NOBSUS 96 - Brasília: Ministério da Saúde, 1997, 34 p.
- OKOLI, K.; IRANI, F.; HORVATH, W. Pathophysiologic considerations for the interactions between obstructive sleep apnea and sickle hemoglobinopathies. Medical Hypotheses, v. 72, n. 5, p. 578-580, 2009.
- OMS - ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas: Informe de un Grupo de Estudio de la OMS. Serie de Informes Técnicos 797. Ginebra: 1990, p. 97-132.
- ORLANDO, G. M.; NAOUM, P. C.; SIQUEIRA, F. A. M.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 22, n. 2, p. 111-121, 2000.
- PAIVA E SILVA, R. B.; RAMALHO, A. S.; CASSORLA, R. M. S. A anemia falciforme como problema de saúde pública no Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 27, n. 1, p. 54-58, 1993.
- PAIVA E SILVA, R. B.; RAMALHO, A. S. Riscos e benefícios da triagem genética: o traço falciforme como modelo de estudo em uma população brasileira. Cadernos de Saúde Pública, v. 13, n. 2, p. 285-294, 1997.
- PAIXÃO, M. C.; CUNHA FERRAZ, M. H.; JANUÁRIO, J. N.; VIANA, M. B.; LIMA, J. M. Reliability of isoelectrofocusing for the detection of HbS, HbC, and HbD in a pioneering population-based program of newborn screening in Brazil. Hemoglobin, v. 25, n. 3, p. 297-303, 2001.

- PARRA, F. C.; AMADO, R. C.; LAMBERTUCCI, J. R.; ROCHA, J.; ANTUNES, C. M.; PENA, S. D. J. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 100, n. 1, p. 177-182, 2003.
- PAULING, L.; ITANO, H. A.; SINGER, S. J.; WELLS, I. C. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science*, v. 110, n. 2865, p. 543-548, 1949.
- PLATT, O. S. The acute chest syndrome of sickle cell disease. *The New England Journal of Medicine*, v. 342, p. 1904-1907, 2000.
- PLATT, O. S. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *The New England Journal of Medicine*, v. 358, n. 13, p. 1362-1369, 2008.
- PLATT, O. S.; BRAMBILLA, D. J.; ROSSE, W. F.; MILNER, P. F.; CASTRO, O.; STEINBERG, M. H.; KLUG, P. P. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *The New England Journal of Medicine*, v. 330, n. 23, p. 1639-1644, 1994.
- RAMALHO, A. S. As hemoglobinopatias hereditárias: um problema de saúde pública no Brasil. Ribeirão Preto: Editora da Sociedade Brasileira de Genética, 1986, p. 119-128.
- RAMALHO, A. S.; MAGNA, L. A.; PAIVA E SILVA, R. B. A portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 19, n. 4, p. 1195-1199, 2003.
- SCHECHTER, A. N. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. *Blood*, v. 112, n. 10, p. 3927-3938, 2008.
- SILVA FILHO, I. L.; FARAH, M. B.; GONÇALVES, M. S.; FLEURY, M. K. Hemoglobinopatias em trabalhadores expostos a riscos ocupacionais. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 24, n. 4, p. 300-301, 2002.
- SILVA, K. R.; YAMAGUCHI, M. U. Os benefícios da inclusão das hemoglobinopatias na triagem neonatal. *Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR*, v. 11, n. 1, p. 67-73, 2007.
- SOARES, F. F.; ROSSI, T. R. A.; BRITO, M. G. S.; VIANNA, M. I. P.; CANGUSSU, M. C. T. Condições de saúde bucal e fatores sociodemográficos de crianças de 6 a 96 meses com doença falciforme no Estado da Bahia. *Revista de Odontologia da UNESP*, v. 39, n. 2, p. 115-121, 2010.
- STEINBERG, M. H.; ADAMS, J. G. Laboratory diagnosis of sickling hemoglobinopathies. *The Southern Medical Journal*, v. 71, n. 4, p. 413-416, 1978.
- STEINBERG, M. H.; HEBBEL, R. P. Clinical diversity of sickle cell anemia: genetic and cellular modulation of disease severity. *American Journal of Hematology*, v. 14, n. 4, p. 405-416, 1983.

- STIENE-MARTIN, E. A.; LOTSPEICH-STEININGER, C. A.; KOEPK, J. A. Clinical Hematology: Principles, Procedures, Correlations, 2nd. ed, Philadelphia: Lippincott, 1997.
- THORNTON, J. B.; SAMS, D. R. Preanesthesia transfusion and sickle cell anemia patients: case report and controversies. *Special Care in Dentistry*, v. 13, n. 6, p. 254-257, 1993.
- WEATHERALL, D. J.; CLEGG, J. B. Inherited haemoglobin disorders: a increasing global health problem. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 79, n. 8, p. 704-712, 2001.
- WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Working Group on the Community Control of Hereditary Anaemias. Hereditary anaemias: genetic basis, clinical features, diagnosis, and treatment. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 60, n. 5, p. 643-660, 1982.
- WOOD, K. C.; GRANGER, D. N. Sickle cell disease: role of reactive oxygen and nitrogen metabolites. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, v. 34, n. 9, p. 926-932, 2007.
- ZAGO, M. A. Anemia falciforme e doenças falciformes. In: Ministério da Saúde, Secretaria de Políticas de Saúde. Manual de Doenças mais importantes, por razões étnicas, na população brasileira afro-descendente. Brasília: Ministério da Saúde, 2001, p. 14-35. Disponível em:
< http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_eticas.pdf >. Acesso em 10/08/2010.
- ZAGO, M. A. Considerações Gerais. In: Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2002, cap. 1, p. 9-12. Disponível em: < <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa/diagnostico.pdf> >. Acesso em 11/08/2010.
- ZAGO, M. A.; COSTA, F. F.; TONE, L. G.; BOTTURA, C. Hereditary hemoglobin disorders in a Brazilian population. *Human Heredity*, v. 33, n. 2, p. 125-129, 1983.
- ZAGO, M. A.; PINTO, A. C. S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 207-214, 2007.

ANEXO 1: Cadastro do Paciente

Nº: <input style="width: 100%;" type="text"/>	Laboratório Piloto de Análises Clínicas Escola de Farmácia - UFOP
CADASTRO DO PACIENTE	
Nome: _____	
End: _____	
CEP: _____ Cidade: _____ Est: _____	
Idade: _____ Sexo: _____ Tel: _____	
Já teve Anemia? SIM () Desde que idade? _____ anos NÃO SEI ()	
Têm familiares com hemoglobinopatia? SIM () NÃO ()	
Têm familiares com Anemia Falciforme? SIM () NÃO ()	
Medicação em uso: _____	
Nome do Médico: _____	
Está com algum sintoma? SIM () Há _____ meses NÃO ()	

DATA: ___/___/___

Resp.: _____

FICHA DO PACIENTE	
Nº: <input style="width: 100%;" type="text"/>	Laboratório Piloto de Análise Clínicas Escola de Farmácia – UFOP
CADASTRO DO PACIENTE	
Nome: _____	
Idade: _____ Sexo: <input type="checkbox"/> _____ Já teve anemia? Sim <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/>	
Está com sintoma? Sim <input type="checkbox"/> Há _____ meses Não <input type="checkbox"/>	
Data: ___/___/___ Resp.: _____	

ANEXO 2:

ANEXO 2A: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
 ESCOLA DE FARMÁCIA - DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS
 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROJETO DE PESQUISA: “Avaliação da Incidência de Hemoglobinopatias em Pacientes Atendidos no Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia - UFOP”

Prezado (a) Sr.(a),

O presente trabalho de pesquisa tem por objetivo obter um maior conhecimento sobre a incidência de hemoglobinopatias nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP a partir de resultados de exames laboratoriais. O termo hemoglobinopatias é usado para descrever as hemoglobinas anormais que podem induzir o rompimento precoce das hemácias e desencadear um quadro de anemia hemolítica bastante grave. As hemoglobinopatias são herdadas de ambos os pais. Quando somente um deles é o transmissor, o filho ou a filha tem apenas o traço e não apresenta nenhuma manifestação grave de anemia. No entanto, se o pai e mãe forem transmissores, em cada gravidez, há 25% de risco de nascer uma criança portadora de uma forma grave de hemoglobinopatia e ter um quadro grave de anemia hemolítica. A coleta de amostras de sangue venoso inclui um pequeno risco de acidente de punção, representado, principalmente por extravasamento sanguíneo subcutâneo de pequena gravidade. Para minimizar este risco, a coleta de sangue será realizada por um profissional farmacêutico, com capacidade técnica e experiência, que estará atento para fazer a compressão imediata do local da punção, visando estancar o pequeno sangramento. Será utilizado material descartável de boa qualidade (agulhas e tubos a vácuo), visando o êxito da coleta. Você está sendo convidado(a) para participar desta pesquisa como voluntário (a). Se você quiser participar poderá fazê-lo doando 3 mL de seu sangue para o uso exclusivo nesta pesquisa. Após a realização dos exames, as amostras serão guardadas, no LAPAC, por um período de 2 a 3 anos, e serão usadas somente nos casos em que houver a necessidade de repetir algum dos exames. Ao terminar o projeto, todos os registros e resultados obtidos serão guardados em segredo no LAPAC, em arquivo próprio, por 5 anos, sob a responsabilidade dos professores Roney Luiz de Carvalho Nicolato e Carmen Aparecida de Paula. Se você não quiser participar, não tem problema e não irá atrapalhar a assistência recebida pelo seu médico. Para qualquer dúvida sobre esta pesquisa você deverá entrar em contacto pessoalmente ou por telefone com as pessoas responsáveis por este projeto, cujos nomes estão relacionados abaixo.

- Prof^ª. Dr^ª. Carmen Aparecida de Paula (Tel. 3559-1649 ou 3559-1646)

Orientadora do projeto, professora de Hematologia Clínica da Escola de Farmácia da UFOP

- Prof. Roney Luiz de Carvalho Nicolato (Tel. 3559-1649 ou 3559-1646)

Professor de Estágio Supervisionado em Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP e

Responsável pelos serviços prestados pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC)

Eu, _____ Identidade: _____, declaro que obtive todas as informações necessárias e esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas e, por estar de acordo, assino o presente documento em duas vias de igual teor e forma, ficando uma em minha posse.

Assinatura: _____ Data: ____/____/____

Agradecemos a sua valiosa participação!

Assinatura do responsável pela coleta do termo: _____ Data: ____/____/____

Comitê de ética em pesquisa – COEP – UFOP (Tel. 3559-1367)

Campus Universitário – Morro do Cruzeiro – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da UFOP.

ANEXO 2B: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para menores de 18 anos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE 18 ANOS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO
ESCOLA DE FARMÁCIA - DEPTO. ANÁLISES CLÍNICAS

PROJETO DE PESQUISA: “Avaliação da Incidência de Hemoglobinopatias em Pacientes Atendidos no Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia - UFOP”

Prezado (a) Sr.(a),

O presente trabalho de pesquisa tem por objetivo obter um maior conhecimento sobre a incidência de hemoglobinopatias nos pacientes atendidos pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP a partir de resultados de exames laboratoriais. O termo hemoglobinopatias é usado para descrever as hemoglobinas anormais que podem induzir o rompimento precoce das hemácias e desencadear um quadro de anemia hemolítica bastante grave. As hemoglobinopatias são herdadas de ambos os pais. Quando somente um deles é o transmissor, o filho ou a filha tem apenas o traço e não apresenta nenhuma manifestação grave de anemia. No entanto, se o pai e mãe forem transmissores, em cada gravidez, há 25% de risco de nascer uma criança portadora de uma forma grave de hemoglobinopatia e ter um quadro grave de anemia hemolítica. A coleta de amostras de sangue venoso inclui um pequeno risco de acidente de punção, representado, principalmente por extravasamento sanguíneo subcutâneo de pequena gravidade. Para minimizar este risco, a coleta de sangue será realizada por um profissional farmacêutico, com capacidade técnica e experiência, que estará atento para fazer a compressão imediata do local da punção, visando estancar o pequeno sangramento. Será utilizado material descartável de boa qualidade (agulhas e tubos a vácuo), visando o êxito da coleta. O seu filho ou o menor que está sob a sua responsabilidade está sendo convidado para participar desta pesquisa. Se você concordar com a participação dele poderá fazê-la doando 3 mL do sangue dele para o uso exclusivo nesta pesquisa. Após a realização dos exames, as amostras serão guardadas, no LAPAC, por um período de 2 a 3 anos, e serão usadas somente nos casos em que houver a necessidade de repetir algum dos exames. Ao terminar o projeto, todos os registros e resultados obtidos serão guardados em segredo no LAPAC, em arquivo próprio, por 5 anos, sob a responsabilidade dos professores Roney Luiz de Carvalho Nicolato e Carmen Aparecida de Paula. Se você não quiser participar, não tem problema e não irá atrapalhar a assistência recebida pelo seu médico. Para qualquer dúvida sobre esta pesquisa você deverá entrar em contacto pessoalmente ou por telefone com as pessoas responsáveis por este projeto, cujos nomes estão relacionados abaixo.

- Prof^a. Dr^a. Carmen Aparecida de Paula (Tel. 3559-1649 ou 3559-1646)

Orientadora do projeto, professora de Hematologia Clínica da Escola de Farmácia da UFOP

- Prof. Roney Luiz de Carvalho Nicolato (Tel. 3559-1649 ou 3559-1646)

Professor de Estágio Supervisionado em Análises Clínicas da Escola de Farmácia da UFOP e

Responsável pelos serviços prestados pelo Laboratório Piloto de Análises Clínicas (LAPAC)

Eu, _____ Identidade: _____, declaro que obtive todas as informações necessárias e esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas e, por estar de acordo, assino o presente documento em duas vias de igual teor e forma, ficando uma em minha posse.

Nome do menor: _____

Assinatura do responsável: _____ Data: ____/____/____

Assinatura do responsável pela coleta do termo: _____ Data: ____/____/____

Agradecemos a sua valiosa participação!

Comitê de ética em pesquisa – COEP – UFOP (Tel. 3559-1367)

Campus Universitário – Morro do Cruzeiro – Instituto de Ciências Exatas e Biológicas da UFOP

ANEXO 3: IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

QUESTIONÁRIO:

Nome: _____ Idade: _____
 Identidade: _____ Sexo: F () M ()
 Endereço: _____ Telefone: _____

- 1) Com quantos anos você descobriu que tinha anemia? _____
- 2) Como você descobriu que estava com anemia? _____
- 3) Faz controle com o médico?
 Sim () Não ()
- 4) Ao ano, quantas vezes vai ao médico?
 () 1 vez ao mês
 () De 6 em 6 meses
 () 2 em 2 meses
 () Não sei
 () 3 em 3 meses Outros _____
- 5) Qual foi a sua última consulta?
 Data: _____
- 6) Você faz exames no laboratório?
 () Sim () Não
- 7) Qual foi a última vez que fez exames?
 Data: _____
- 8) Você queixa de algum sintoma?
 () Sim () Não
 () Todos os dias
 () Dias alternados
 () 1 vez por semana
 () Outros _____
- 9) Você possui outra doença?
 () Sim () Não
- 10) Você tem algum acompanhamento por:
 () Nutricionista
 () Cardiologista
 () Oftalmologista
- 11) Ao ano, quantas vezes faz exames?
 () 1 vez ao mês
 () 6 em 6 meses
 () 2 em 2 meses
 () 3 em 3 meses
 () Não sei
 () Outros _____
- 12) Você utiliza qual tipo de tratamento?
 () analgésico (comprimido)
 Qual: _____
 () antibiótico (comprimido)
 Qual: _____
 () Dieta - Quem prescreveu? _____
 () Exercícios físicos
 Foi orientado? _____
 Por quem? _____ Qual? _____
 Quantas vezes por semana? _____
- 13) Os sintomas diminuíram com o tratamento ou dieta?
 Sim () Não () Não sei ()
- 14) Você já tem filhos?
 () Sim – Quantos? _____
 () Não
 () Não se aplica
- 15) Você possui algum familiar com anemia falciforme?
 () Sim () Não () Não sei
- 16) Qual é o grau de parentesco do familiar com anemia falciforme?
 () pai () tia __ materno __ paterno
 () mãe () avó __ materno __ paterno
 () irmão () tio __ materno __ paterno
 () irmã () avô __ materno __ paterno

ANEXO 4: Documento de Aprovação pelo Comitê de ética em Pesquisa da UFOP

**Comitê de Ética em Pesquisa
UFOP**



Certificado

REGISTRO CEP Nº.03/07

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação da incidência de Hemoglobinopatias em pacientes atendidos no Laboratório Piloto de Análises clínicas da Escola de Farmácia - UFOP", com registro CEP 2007/92, CAAE 0008.0.238.000-07, sob Coordenação da Prof^a. Carmem Aparecida de Paula, foi considerado Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, Câmara Humana, em 16 de outubro de 2007.

A handwritten signature in black ink, which appears to read 'Crôcco Afonso', is positioned above the printed name of the coordinator.

Prof. Luís Carlos Crôcco Afonso
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa