



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

EVERALDO RUIZ JÚNIOR

**PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM RECÉM-
NASCIDOS DO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA**

**Goiânia
2009**

EVERALDO RUIZ JÚNIOR

**PREVALÊNCIA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM RECÉM-
NASCIDOS DO MUNICÍPIO DE GOIÂNIA**

Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Goiás para obtenção do
Título de Mestre em Ciências da
Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio Sucasas da Costa
Co-orientador: Profa. Dra. Ana Lucia Sampaio Sgambatti de Andrade

**Goiânia
2009**

**Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno: Everaldo Ruiz Júnior

Orientador: Prof. Dr. Paulo Sergio Sucasas da Costa

Co-Orientadora: Profa. Dra. Ana Lúcia Sgambatti de Andrade

Membros:

1. Paulo Sergio Sucasas da Costa (Presidente)

2. Rita Goreti Amaral

3. Claudia Maria Salgado

4. Naflesia Bezerra Correa (Suplente)

5. Fátima Maria Lindoso da Silva Lima (Suplente)

Data: 20/10/2009

***Faça as coisas o mais simples que você puder,
porém não se restrinja às mais simples.***

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não é mérito de uma pessoa, mas sim da dedicação, esforço, disposição, paciência, e compreensão de muitos heróis anônimos que, todos os dias trabalham para ajudar a melhorar a vida das pessoas. Agradeço a todos e em especial:

- A Deus Pai, Filho e ao Espírito Santo de amor e sabedoria, porque sem Eles este esforço seria vazio.
- À minha esposa Mariane pela paciência, incentivo e companheirismo nesta empreitada.
- Ao meu filho Henrique que nasceu para trazer luz, amor e um novo sentido à minha vida.
- Aos meus pais Ivete e Everaldo, porque sem o incentivo deles eu não teria chegado até aqui.
- Aos meus sogros José Carlos e Maria José que me acolheram como filho desde a minha chegada.

- Ao meu mestre muito querido Paulo Sucasas que aceitou me orientar e me apoiar nesta pesquisa.
- À Profa. Dra. Ana Lúcia Sgambatti de Andrade, minha co-orientadora que nos guiou com correções e direcionamento durante a pesquisa.
- Ao Dr. Nelcivone e ao Dr. Luiz Murilo que me cederam parte dos dados da pesquisa.
- À equipe de profissionais da APAE de Anápolis que conseguiram os dados dos pacientes.
- Ao Excelentíssimo Secretário de Saúde Dr. Paulo Rassi que autorizou a realização da pesquisa neste Município.
- À Cíntia e outros profissionais da Divisão da Saúde da Mulher e do Adolescente pelo empenho na procura dos dados.
- Às secretárias do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Valdecina e Raquel.

- A todos os pacientes portadores de hemoglobinopatias e doença falciforme, que este trabalho contribua, de alguma forma, para a melhoria de suas vidas.
- Aos Professores Doutores Rita Goreti Amaral, Cláudio Rodrigues Leles e Naflésia Bezerra Corrêa, membros titulares do exame de qualificação, pelas valiosas sugestões no aprimoramento deste estudo.

SUMÁRIO

SIMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 HEMOGLOBINA NORMAL	1
1.2 HEMOGLOBINOPATIAS	1
1.3 HEMOGLOBINA S	2
1.3.1 Fisiopatologia da Doença Falciforme	4
1.3.2 Quadro Clínico da Doença Falciforme	5
1.3.3 Epidemiologia da Doença Falciforme	10
1.4 HEMOGLOBINA C	12
1.5 HEMOGLOBINA D	13
1.6 TECNICAS PARA PESQUISA DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS	14
1.6.1 Eletroforese em pH Alcalino e Ácido	15
1.6.2 Focalização Isoelétrica	16
1.6.3 Cromatografia Líquida de Alta Precisão	18
1.7 PROGRAMA DE TRIAGEM NEONATAL	19
1.7.1 Hemoglobinopatias na Triagem Neonatal	21
1.7.2 Importância da Detecção Precoce de Pacientes com Doença Falciforme	21

1.7.3	Triagem Neonatal e Ética -----	22
1.7.4	Tiagem Neonatal em Goiânia -----	23
2	OBJETIVOS -----	24
2.1	OBJETIVO GERAL -----	24
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS -----	24
3	MATERIAL E MÉTODOS -----	25
3.1	CASUÍSTICA -----	25
3.2	CARACTERÍSTICA DO ESTUDO -----	25
3.3	AMOSTRA -----	25
3.3.1	Critérios de Inclusão -----	25
3.3.2	Critérios de Exclusão -----	26
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA -----	26
3.5	ASPECTOS ÉTICOS -----	26
4	PUBLICAÇÃO -----	27
5	CONCLUSÕES -----	38
	REFERÊNCIAS -----	39
ANEXO 1	PARECER DO COMITÊ ÉTICA -----	45
ANEXO 2	CARTA DE SUBMISSÃO -----	46
ANEXO 3	NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO -----	47

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

APAE	Associação de Pais e Amigos de Excepcionais
FIE	Focalização Isoelétrica
HbA	Hemoglobina A
HbA2	Hemoglobina A2
HbC	Hemoglobina C
HbD	Hemoglobina D
HbF	Hemoglobina F
HbSC	Hemoglobinopatia SC
HbSD	Hemoglobinopatia SD
HPLC	Cromatografia líquida de alta precisão
OMS	Organização Mundial da Saúde
SUS	Sistema único de Saúde

RESUMO

As hemoglobinopatias são as desordens hereditárias mais comuns nos seres humanos, sendo as mais freqüentes as hemoglobinas S e C. O presente estudo avaliou a prevalência de hemoglobinopatias no Município de Goiânia através da análise da triagem neonatal, e comparou as prevalências de hemoglobinopatias entre a rede pública e privada. Amostras de sangue de 92.127 recém-nascidos foram analisadas. Um total de 61 recém-nascidos apresentaram hemoglobinopatia (7:10.000). Na rede pública e privada a prevalência foi de 7 e 3 por 10.000, respectivamente ($p=0,081$). Traço de hemoglobinopatia foi observado em 3.423 amostras (371:10.000); a rede pública com prevalência de 400:10.000 e a privada com 177:10.000 ($p=0,0001$). A doença falciforme teve prevalência de 4:10.000 nascimentos, sendo 5:10.000 na rede pública com e 2:10.000 na privada ($p=0,133$). Conclui-se que a doença falciforme apresenta alta prevalência e acomete crianças usuárias das redes pública e privada de saúde. A triagem neonatal é de extrema importância para a detecção precoce de pacientes com doença falciforme e de portadores assintomáticos.

Palavras chaves: hemoglobinopatia, anemia falciforme, prevalência

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are the most common inherited disorders in humans; the most frequent are hemoglobins S and C. This study evaluates the prevalence of hemoglobin patterns at the city of Goiânia, state of Goiás, Brazil, using neonatal screening. Prevalence was compared between exams from the public and private systems. Blood samples from 90,127 newborns were obtained. Hemoglobinopathies were identified in a total of 61 (7:10,000) newborns. The prevalence in public and private systems was 7 and 3 per 10,000 respectively ($p=0.081$). In 3,243 (371:10,000) hemoglobinopathy traits were detected. The public system's prevalence was 400:10,000 and in the private system it was 177:10,000 ($p=0.0001$). The prevalence of sickle cell disease was 4.3:10,000 live birth overall; in the public system, it was 5:10,000 and in the private system it was 2:10,000 ($p=0.133$). We can conclude that sickle disease is of high prevalence in children at public and private systems. The neonatal screening information is of paramount importance for early diagnosis of sickle disease and people with sickle traits.

Key words: hemoglobinopathies, sickle cell anemia, prevalence

1 INTRODUÇÃO

1.1 HEMOGLOBINA NORMAL

A molécula de hemoglobina, responsável pelo transporte de oxigênio, é o pigmento que se encontra dentro do glóbulo vermelho. Trata-se de uma proteína globular composta por quatro globinas associadas a um grupamento heme, complexo este formado por um átomo de ferro em uma estrutura porfirínica. A hemoglobina fetal (HbF – $\alpha_2 \gamma_2$) torna-se, no decorrer da gestação, a hemoglobina predominante ao longo do período fetal. Após o nascimento, as cadeias γ são gradualmente substituídas pelas cadeias β e δ . Por volta do 6º mês após o nascimento, 97 a 98% da hemoglobina é formada pelo tetrâmero $\alpha_2\beta_2$ (hemoglobina A – HbA), enquanto a hemoglobina A2 (HbA2 – $\alpha_2\delta_2$) está presente em aproximadamente 2 a 3%. Pequenas quantidades de HbF também são encontradas no sangue adulto normal. (TORRES et al., 2005)

1.2 HEMOGLOBINOPATIAS

As hemoglobinopatias resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina. Apresentam

padrão de herança autossômico recessivo e são as desordens hereditárias mais comuns em humanos (DAVIES et al., 2000). Afetam, aproximadamente, 7% da população mundial (PATRINOS et al., 2004).

Já foram descritas mais de 1.200 mutações distintas nos genes das cadeias globínicas (GLOBIN GENE SERVER, 2009). As hemoglobinopatias mais freqüentes e com significado clínico são as variantes estruturais para hemoglobinas S e C - HbS e HbC (ALMEIDA et al., 2001).

1.3 HEMOGLOBINA S

A HbS é formada por uma mutação de ponto na posição 6 do gene da globina β , trocando o ácido glutâmico por uma valina - cadeia β_s (NAOUM, 1999). A presença da hemoglobina S em um indivíduo pode causar doença falciforme. Nesta patologia os eritrócitos possuem a maior parte de sua hemoglobina do tipo S, assumindo, em condições de hipoxemia e acidemia, forma semelhante à de uma foice – daí o nome falciforme. Esta alteração ocorre devido à polimerização da hemoglobina S, que deforma os eritrócitos e os torna mais rígidos (figura 1). (COSTA, 2001).

A doença falciforme foi descrita pela primeira vez por Herrick (1910). Existem 4 genótipos principais para as doenças falciformes, permitindo classificá-las em:

1. HbSS – anemia falciforme
2. HbSC – hemoglobinopatia SC
3. HbS/beta 0 talassemia – S/beta 0 talassemia
4. HbS/beta + talassemia – S/beta + talassemia

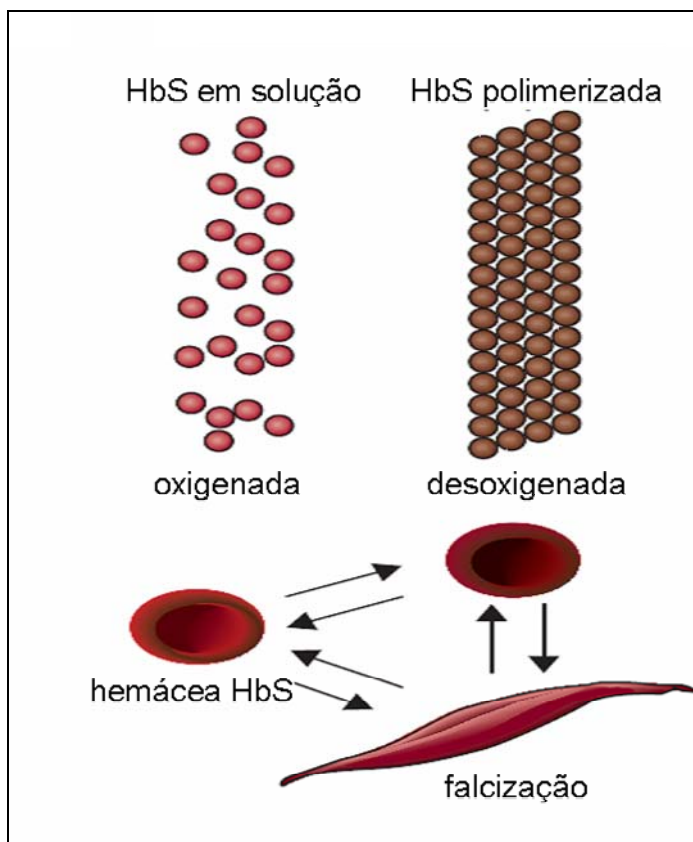


Figura 1 – Fisiopatologia do processo de falcização da Hemácia (modificado de Stuart MJ et al. 2004).

Esses genótipos apresentam graus variáveis de gravidade clínica, sendo as formas 2 e 4 as mais brandas e com melhor prognóstico. A anemia falciforme ocorre em indivíduos homozigotos para o gene β^s . Nos pacientes com S/beta 0 talassemia um dos genes recebidos possui a mutação para β^s e o outro possui uma deleção, de modo que não há produção da hemoglobina A. Quando há pouca quantidade de hemoglobina A associada à hemoglobina S denomina-se S/beta + talassemia. Os indivíduos heterozigotos que herdam

gene com produção normal de hemoglobina A e hemoglobina S possuem o traço falciforme – não há sintomatologia, sendo portadores assintomáticos do gene β^s (SERJEANT, 1999).

A hemoglobina S teve origem no continente Africano. A mutação no gene β da globina possui vantagem na medida em que os indivíduos heterozigotos (com traço falciforme) têm maior resistência à malária (NAGEL, 2001). A HbS foi introduzida no continente americano através do tráfico de escravos africanos que ocorreu entre os séculos VXI e XIX (ZAGO et al., 1992).

1.3.1 Fisiopatologia da doença falciforme

Quando a hemoglobina S é desoxigenada, a troca do ácido glutâmico por uma valina resulta em uma interação hidrofóbica com outra molécula de hemoglobina, desencadeando a formação de grandes polímeros. A polimerização da hemoglobina S desoxigenada é o evento primeiro na patogênese molecular da doença falciforme, que resulta na distorção da forma da hemácia e na acentuada diminuição da sua deformabilidade (BUNN, 1997).

Com estas condições a vida média das hemácias reduz de 120 para apenas 20 dias em circulação e ocorre o fenômeno de vaso-oclusão que é a principal característica desta doença (BUNN, 1997).

A polimerização da HbS resulta em alteração na homeostase de eletrólitos na hemácia com aumento do Ca^{++} no citosol que leva à ativação dos canais de K^+ (canais de Gardos). Ocorre saída de K^+ e água da célula com desidratação da hemácia e formação de células rígidas (corpos rígidos) que ficam irreversivelmente em forma de foice (STUART e NAGEL, 2004).

A hemácia falciforme expressa moléculas de adesão ao endotélio que agrava o quadro veno-oclusivo e que estão diretamente relacionadas com a gravidade da doença. O mecanismo de afoiçamento leva à modificação da camada bilipídica da membrana celular da hemácia com exteriorização da fosfatidilserina, este fenômeno leva a piora da anemia, aumento da adesão ao endotélio, ativação de fatores da coagulação (STUART e NAGEL, 2004).

Durante os fenômenos vaso-oclusivos ocorre ativação e migração de neutrófilos e outros leucócitos para sítios acometidos, estabelecendo um ambiente pró-inflamatório que agrava o quadro clínico do paciente, relacionando-se com um maior número de complicações agudas e crônicas. O endotélio dos indivíduos com doença falciforme também mostra sinais de ativação pró-inflamatória, com aumento da expressão de moléculas de adesão. Além disso, a concentração de óxido nítrico (NO), um potente vasodilatador, encontra-se diminuída nestes pacientes (STUART e NAGEL, 2004).

1.3.2 Quadro clínico da doença falciforme

As crises dolorosas são causadas por oclusões intermitentes da microcirculação e isquemia das regiões acometidas. Geralmente são de início agudo, durando em torno de 3 a 5 dias. A dor atinge mais frequentemente os ossos e articulações, podendo atingir também o tórax, o abdômen e a região dorsal. A dactilite (inflamação em dedo) ou síndrome mão-pé pode ser a primeira manifestação de dor nas crianças; caracteriza-se por dor e edema nas extremidades. O tratamento da crise pode ser ambulatorial, com analgésicos de baixa potência, ou em casos mais graves, pode haver a necessidade de

internação e utilização de opióides. Infecções, febre, hipóxia, desidratação, exposição ao frio, estresse emocional e níveis mais elevados de Hb, são fatores que podem desencadear as crises álgicas (GUALANDRO, 2001).

Os pacientes com doença falciforme, principalmente aqueles com anemia falciforme, possuem alterações na circulação esplênica que culmina com a auto-esplenectomia até os 5 anos de idade. Porém, muito antes da destruição anatômica do baço, a sua capacidade fagocítica mediada por opsoninas e a produção de anticorpos já se encontram diminuídas (asplenia funcional) (FALCÃO e DONADI, 1989). Como consequência, os pacientes com doença falciforme apresentam risco aumentado para adquirir infecções por organismos encapsulados, notadamente o *Haemophilus influenzae* tipo b e o *Streptococcus pneumoniae* (pneumococo). Desta forma os pacientes que apresentam febre devem ser considerados de risco elevado para infecção grave e é recomendado o uso de antibiótico via oral ou parenteral (ANVISA, 2001).

A utilização de penicilina profilática, utilizada dos 3 meses de vida até os 5 anos de idade, reduz drasticamente a ocorrência de sepse e meningite pneumocócica (GASTON et al., 1986).

O seqüestro esplênico, que ocorre principalmente entre os 5 meses e 2 anos de idade, é uma complicação resultante da estase (estagnação) aguda das células falciformes nos sinusóides do baço, que aumenta de volume em 2 cm ou mais à palpação, resultando em anemia, reticulocitose e plaquetopenia. Há uma queda súbita de pelo menos 20% do hematócrito basal. Os sintomas manifestados são: palidez muco-cutânea de instalação súbita, acompanhada de distensão e dor abdominal pela esplenomegalia, podendo ocorrer polidipsia. Os

episódios variam de intensidade, podendo se resolver espontaneamente ou levar a óbito em poucas horas. Como se trata de uma emergência, os responsáveis pelos pacientes com doença falciforme devem receber treinamento para detecção precoce do aumento esplênico. Os pacientes com hemoglobinopatia SC podem apresentar esta complicação até a adolescência. O tratamento consiste em reposição volêmica e transfusão de hemácias até o equilíbrio hemodinâmico (PEARSON et al., 1985).

A síndrome torácica aguda causa tosse, febre, dispnéia, infiltrados pulmonares e declínio no nível basal de hemoglobina. Afeta em torno de 40% dos pacientes com anemia falciforme. É uma das causas de internação da criança com doença falciforme e uma das principais causas de morte. As causas infecciosas da síndrome estão relacionadas em igual proporção à infecções virais, bacterianas, por micoplasma e *Chlamydothyla pneumoniae*. As causas não infecciosas incluem o edema pulmonar por hiper-hidratação, embolia gordurosa de medula óssea infartada e a hipoventilação por uso de analgésicos narcóticos administrados para combater a dor. O tratamento deve incluir oxigênio; transfusão simples ou de troca; antibiótico incluindo macrolídeos e penicilinas e controle cuidadoso da dor e hidratação (STUART e SETTY, 2001).

O Acidente Vascular Cerebral isquêmico é uma complicação neurológica que acontece em até 25% dos pacientes com anemia falciforme. Ocorre mais freqüentemente entre os 2 e 5 anos de idade. É recorrente em até 50% destes pacientes nos primeiros 3 anos após o acidente. Transfusões crônicas reduzem a recorrência destes episódios para menos de 10%. O tratamento da fase

aguda inclui transfusões de troca para reduzir a concentração de HbS para valores inferiores a 30%. Após esta fase há necessidade de terapia transfusional crônica por tempo indeterminado associada à quelação de ferro (OHENE-FREMPONG et al., 1998; PEGELOW et al., 1995).

Priapismo é a ereção dolorosa e persistente dos corpos cavernosos do pênis não associado ao desejo sexual. Na maioria dos casos é autolimitado e regride espontaneamente dentro de 24 horas. Quando persiste por alguns dias, além do desconforto físico, pode resultar em impotência. A hidratação oral, banhos quentes, o esvaziamento da bexiga e analgesia revertem em algumas horas a maioria das crises. Em casos persistentes, pode ser utilizada injeção intra-cavernosa de adrenalina, ou até mesmo tratamento cirúrgico (ANVISA, 2001; MANTADAKIS et al., 2000).

A crise aplástica ocorre em vários tipos de anemia hemolítica. Há a parada na produção de hemácias que ocasiona anemia severa nestes pacientes. A maioria recupera-se espontaneamente em alguns dias, porém pode haver descompensação hemodinâmica e raros óbitos se o quadro não for diagnosticado e tratado a tempo. A causa mais freqüente é a infecção pelo parvovirus B19. O tratamento consiste em transfusão de hemácias (SERJEANT et al., 1993).

A anemia da doença falciforme é do tipo hemolítica, com reticulocitose, aumento de bilirrubina indireta e icterícia. Os pacientes com doença falciforme mantêm níveis de hemoglobina entre 6 e 11g/dl. Por se tratar de anemia crônica, não há sintomas como taquicardia, dispnéia, claudicação intermitente. Desta forma a transfusão não é o tratamento mais indicado (ZAGO, 2001b).

Deve-se utilizar este procedimento apenas quando há queda nos níveis basais de hemoglobina que provoquem sintomas agudos, ou em situações especiais (FABRON, 1997). Os pacientes com anemia falciforme e S/beta 0 talassemia apresentam níveis mais baixos de hemoglobina e mais complicações, portanto recebem mais transfusões. Os pacientes com S/beta + talassemia e hemoglobinopatia SC apresentam curso mais benigno da doença e necessitam de transfusão com menor frequência (FABRON, 1997). As transfusões podem acarretar efeitos colaterais imediatos e tardios como reações transfusionais, transmissão de infecção, sensibilização do paciente e sobrecarga de ferro (NAOUM e NAOUM, 2004).

O tratamento que se dispõe para melhorar o quadro clínico de pacientes com apresentação grave da doença é a hidroxiuréia que provoca o aumento da hemoglobina fetal nas hemácias. Dessa forma, reduz-se a concentração de hemoglobina S e há diminuição da sintomatologia e das complicações (NAOUM e NAOUM, 2004).

As complicações crônicas da doença falciforme ocorrem devido a lesões teciduais repetidas de isquemia e reperfusão em vários órgãos. Nos olhos pode ocorrer retinite proliferativa, os rins tem sua função progressivamente diminuída e o desenvolvimento de hipertensão pulmonar é outra complicação séria descrita. Úlceras em membros inferiores e osteonecrose também são descritas (STUART e NAGEL, 2004).

O paciente com doença falciforme geralmente apresenta atraso no desenvolvimento somático e sexual, porém são férteis e podem ter filhos (ZAGO, 2001b).

1.3.3 Epidemiologia da doença falciforme

A doença falciforme é a patologia hereditária mais prevalente no Brasil (SILLA, 1999). Acomete mais a população negra, porém com a grande miscigenação também existem indivíduos caucasóides acometidos. Estima-se que cerca de 45% da população brasileira seja Afro-descendente, destes 6 a 10% são portadores do traço falciforme. Na população geral estima-se que 4% possuam traço falciforme. Há a expectativa que existam 7.200.000 indivíduos com traço falciforme e que ocorram 200.000 nascimentos anuais de crianças com traço falciforme no Brasil. Pessoas com anemia falciforme são estimadas em 25.000 a 30.000 e são esperados 3.500 nascimentos de crianças com anemia falciforme no Brasil (CANÇADO e JESUS, 2007).

Em alguns estados brasileiros existem estudos que identificaram a prevalência do gene da HbS. Em Pernambuco 4% (1:23) da população é portadora de traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:1.400 indivíduos (0,07%). Na Bahia 5,3% (1:17) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:650 pessoas (0,15%). No estado do Rio de Janeiro 5% (1:21) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:1.200 indivíduos (0,08%). No estado de São Paulo 2,8% (1:35) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:4000 pessoas (0,02%). No Rio Grande do Sul 1,5% (1:65) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:10.000 indivíduos (0,01%) (CANÇADO e JESUS, 2007).

No mundo a OMS estima que cerca de 5% da população sejam portadores de gene para hemoglobinopatias. Estima também que ocorram 300.000 nascimentos de crianças com hemoglobinopatias, sendo que 200.000 nascem no continente africano com anemia falciforme (WHO, 2005).

Estudos analisaram a prevalência de hemoglobinopatias através de exames em recém-nascidos. Na cidade de Fortaleza, Pinheiro et al. (2006) analisaram amostras de sangue de cordão de 389 recém-nascidos, a prevalência de crianças com traço falciforme foi de 3,8% e de anemia falciforme foi de 0,2% (1 recém-nascido detectado).

Em Natal, Rio Grande do Norte, Araújo et al. (2004) analisaram 1940 amostras de sangue de cordão umbelical de recém-nascidos de 3 maternidades públicas. Foram encontrados 29 indivíduos com traço falciforme – prevalência de 1,5%. E 1 paciente com anemia falciforme, 0,05% de prevalência.

Alguns estudos utilizaram o teste de triagem neonatal para estimar a prevalência do gene da HbS. No Distrito Federal Diniz et al. (2009) estuaram 116.271 exames realizados no Programa de Triagem Neonatal do Distrito Federal, sendo que a prevalência do traço falciforme foi de 3,23% (IC de 95%: 3,1 – 3,3%) e da anemia falciforme foi de 0,09%.

Watanabe et al. (2008) analisaram 548.810 exames de triagem neonatal do Serviço de Referência em Triagem Neonatal, Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional no Estado do Paraná e detectaram uma prevalência de anemia falciforme de 0,002% (12 crianças); 1,5% dos recém-nascidos apresentaram traço falciforme e a prevalência de S/beta talassemia foi de 0,003%.

1.4 HEMOGLOBINA C

A hemoglobina C (Hb C) é formada pela mutação de ponto na posição 6 do gene da cadeia globínica β , trocando o ácido glutâmico por uma lisina. O quadro clínico proporcionado pela Hb C se deve à sua capacidade de induzir à desidratação do eritrócito e a formação intracelular de cristais. Apenas os indivíduos homozigotos (Hb CC) apresentam sintomatologia, caracterizada por anemia hemolítica de leve a moderada (NAOUM, 1999).

A dupla heterozigose HbSC leva a uma doença falciforme grave, apesar de ser mais leve que a anemia falciforme, o que justifica o diagnóstico dos indivíduos heterozigotos (CLARKE e HIGGINS, 2000).

A tendência da HbC cristalizar induz à perda de potássio e de água pela célula, aumentando a concentração intracelular de hemoglobina e elevando a probabilidade da HbS se polimerizar (NAGEL et al., 2003).

No Estado do Rio Grande do Sul, Sommer et al. (2006) analisaram os resultados dos exames de recém-nascidos atendidos pelo Sistema Único de Saúde e rastreados no Laboratório de Referência em Triagem Neonatal, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dos 117.320 exames analisados, foi encontrada prevalência de traço da hemoglobinopatia C (HbAC) de 0,2% (1:521). A prevalência de HbSC foi de 0,001% (1:58.660).

Em estudo realizado por Araújo et al. (2004), com sangue de cordão de 1.940 recém-nascidos de Natal, Rio Grande do Norte, encontrou-se prevalência

de traço da Hemoglobinopatia C de 0,31%. Neste estudo não foi identificado nenhum caso de HbSC .

1.5 HEMOGLOBINA D

A HbD é a terceira variante de hemoglobina mais prevalente depois das hemoglobinas HbS e HbC. Originada da transversão GAA - CAA no códon 121, (éxon 3) do gene da globina beta. Essa mutação resulta na troca do ácido glutâmico por glutamina durante o processo de tradução. Essa hemoglobina é descrita tanto em heterozigose como em homozigose, além da combinação com HbS ou talassemias alfa ou beta. Os indivíduos heterozigotos e homozigotos são assintomáticos, enquanto os que apresentam associação com HbS ou talassemia beta podem desenvolver anemia hemolítica de discreta a moderada (PEREA, 1999).

Estudos de prevalência da HbD são escassos. No Estado do Rio Grande do Sul, Sommer et al. (2006) analisaram os resultados de 117.320 exames de recém-nascidos atendidos pelo Sistema Único de Saúde, rastreados no Laboratório de Referência em Triagem Neonatal, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Destes 0,04% apresentaram traço da hemoglobinopatia D (HbAD) .

No Rio de Janeiro, Lobo et al. (2003) analisaram 99.260 testes de triagem neonatal para hemoglobinopatias, foram encontrados 3 pacientes com hemoglobinopatia SD (HbSD), o que corresponde a uma prevalência de 0,003%.

1.6 TECNICAS PARA PESQUISA DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS

A metodologia utilizada para a triagem neonatal das hemoglobinopatias deve atender a três requisitos fundamentais: 1) identificar a HbS; 2) detectar a ausência da HbA (sugestiva de homozigoto FS – anemia falciforme –, um duplo heterozigoto para HbS/beta 0 talassemia; para identificar FS/C ou S/outra variante da β globina); 3) ser capaz de triar outras hemoglobinopatias potencialmente patológicas, como por exemplo, a interação HbS/beta + talassemia (GARRICK, 1989).

Os métodos devem ser suficientemente sensíveis para detectar níveis baixos de hemoglobina normal e anormal, ausência ou pequenas quantidades de HbA e também pequenas quantidades de HbS, HbC, HbD, HbE, e HbO_{Arab.}, uma vez que o sangue do recém-nascido é composto por cerca de 75% de HbF. (CHAPMAN, 1999).

O grande desafio da triagem neonatal é detectar pequenas quantidades de HbS em presença de grandes quantidades de HbF. Caso o recém-nascido possua HbS, o teste deve determinar a presença ou ausência de pequenas quantidades de HbA para diferenciar entre o traço falcêmico e a doença falciforme (PEARSON, 1989).

Resultados diferentes do teste de triagem neonatal podem indicar doenças falciformes como FS, FSC ou raramente outros genótipos como FSD. No caso de traço falciforme encontramos o resultado FAS. A presença do resultado FS indica que a criança pode ter anemia falciforme (homozigoto SS) ou HbS/beta 0 talassemia que são as formas mais graves da doença;

raramente encontra-se o paciente com anemia falciforme e persistência hereditária da HbF. Desta forma é recomendado que sejam feitos outros exames aos 2 meses e aos 6 meses para confirmação de crianças com triagem neonatal compatível com hemoglobinopatias (MICHLITSCH et al., 2009).

As técnicas utilizadas para a detecção de hemoglobinas são: eletroforese em pH alcalino e ácido, teste de solubilidade, focalização isoelétrica, cromatografia líquida de alta precisão e biologia molecular.

1.6.1 Eletroforese em pH Alcalino e Ácido

Na eletroforese convencional, a mistura de proteínas a ser analisada é aplicada em uma estreita zona sobre uma membrana próxima ao cátodo. Uma corrente elétrica direta é aplicada, direcionando a proteína ionizada através de um suporte-matriz - acetato de celulose, agarose, amido, poliacrilamida ou outros - tamponado em um pH específico, geralmente pH 8,6 para eletroforese alcalina e pH 6,2 para eletroforese ácida de hemoglobinas. A proteína ionizada migra em um pH único, a uma velocidade constante porque a carga da superfície da molécula é constante. À medida que o tempo avança, a banda protéica se estende e se torna mais difusa. É um procedimento cronometrado, pois a proteína continua a migrar a menos que a corrente elétrica seja interrompida (HOCKING, 1997).

A eletroforese de hemoglobinas é considerada o exame padrão ouro para o diagnóstico de hemoglobinopatias, mas pode apresentar dificuldades na determinação da hemoglobina durante o período neonatal, pois em meio alcalino, a HbF tem uma mobilidade intermediária entre a HbA e S. Além disso,

grandes quantidades de HbF podem dificultar a identificação precisa das demais. Para esclarecer esse fato, recorre-se então à eletroforese ácida, onde a HbF corre mais à frente, permitindo assim uma melhor definição das HbA e S (PEARSON, 1989).

A substituição de uma base nitrogenada do códon GAG para GTG no gene da globina beta S, resultará na substituição do ácido glutâmico por uma valina na posição 6 da globina beta. Isso irá provocar alterações elétricas que permitirão a sua separação no processo eletroforético (NAOUM, 2004).

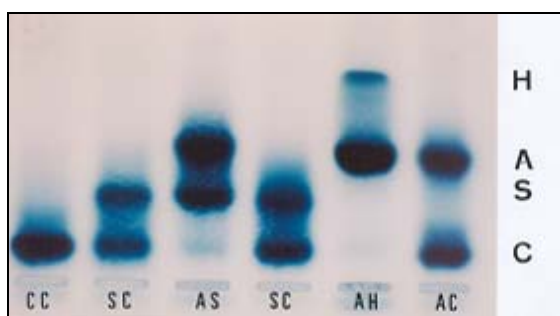


Figura2: Eletroforese alcalina de hemoglobinas em gel de agarose (www.hemoglobinopatias.com.br acessado em 24/08/2009).

1.6.2 Focalização Isoelétrica

A focalização isoelétrica é a eletroforese em um gradiente de pH. É um procedimento utilizado para determinar o ponto isoelétrico de substâncias anfotéricas como os peptídeos e as proteínas. As proteínas são compostas por aminoácidos que possuem cargas elétricas que variam de acordo com o pH, desta forma o ponto isoelétrico é o pH no qual a proteína possui carga líquida igual a zero (LEHNINGER et al., 2000).

As amostras de hemoglobinas são colocadas no gel através de um dispositivo padrão (*template*) e a corrente elétrica é aplicada. Os anfólitos, então, são ordenados pelo fluxo dessa corrente elétrica. Os anfólitos com pontos isoeletricos superiores ao pH médio inicial migrarão em direção ao cátodo, que é representado por uma tira de papel absorvente embebida em solução básica (etanolamina) onde há valores de pH progressivamente mais elevados até que esses igualem seu ponto isoeletrico ao do meio. Neste ponto, a carga resultante da molécula é zero, e o anfólito agora "neutro" não migra mais, permanecendo nesta posição. O mesmo fenômeno, mas de forma inversa, ocorre com os anfólitos que migram para o ânodo (solução ácida – ácido acético) (HOCKING, 1997).

A focalização isoeletrica é considerado método adequado para detectar hemoglobinas variantes mesmo que em pequena quantidade, como é o caso da triagem neonatal. Possibilita distinguir entre o homozigoto e o heterozigoto. Mostrou-se superior à eletroforese em acetato de celulose, pois apresentou melhor resolução e possibilitou a separação entre a HbS e a HbF. Em comparação à cromatografia líquida de alta precisão (HPLC), a focalização isoeletrica utiliza menor volume de amostra (10 a 50µl para 200 a 300µl) e apresenta maior velocidade de análise: até 80 amostras em cada corrida com duração de 110 minutos. Pelo método de HPLC, o tempo total seria de 4 horas. (DAUDT et al., 2002).

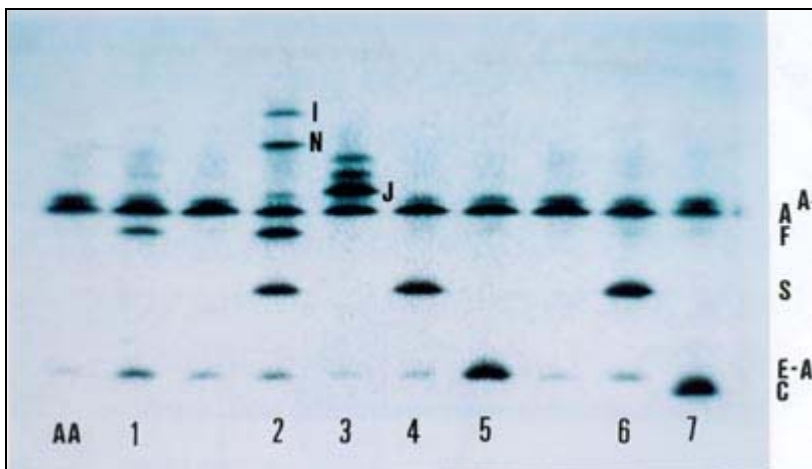


Figura 3: Focalização isoelétrica (www.hemoglobinopatias.com.br acessado em 24/08/2009)

1.6.3 Cromatografia Líquida de Alta Precisão

A HPLC permite a separação de muitas hemoglobinas variantes, desta forma, ao nascimento é possível identificar diversas condições como FS, FSC, FAS, FAC e outros (HUISMAN, 1989).

É um sistema automatizado que detecta, através de um fotômetro, alterações na absorbância que ocorre devido à eluição das hemoglobinas que estavam retidas em uma mini-coluna de troca catiônica e que são expostas a tampões de eluição com concentrações crescentes. Cada hemoglobina tem um tempo de retenção que é medido por meio de um cromatograma (gráfico de absorbância por tempo), este tempo é definido a partir da injeção da amostra até o ponto máximo de cada pico de absorbância. A identificação de hemoglobinas desconhecidas é feita pela comparação de seu tempo de retenção com o de uma hemoglobina conhecida. Ao fim de cada análise, automaticamente é impressa uma cópia do cromatograma e os dados do

relatório (MANUAL BIO-RAD-VARIANT SICKLE CELL SHORT PROGRAM INSTRUCTION, 2003).

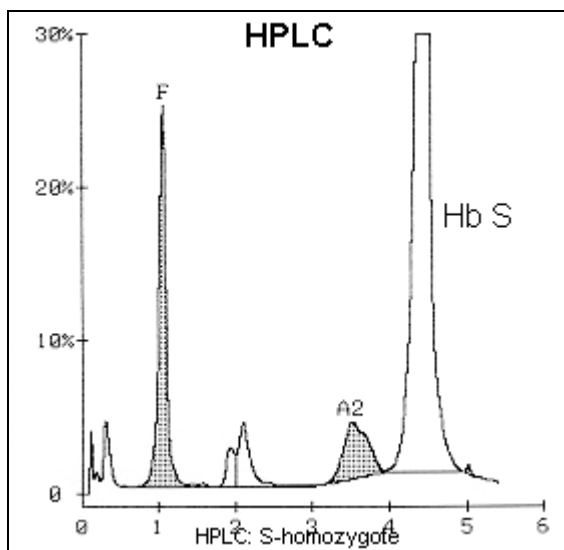


Figura 4: HPLC (www.hemoglobinopatias.com.br acessado em 24/08/2009)

1.7 PROGRAMA DE TRIAGEM NEONATAL

O pediatra Robert Guthrie, em 1960, desenvolveu uma técnica simples para a detecção da fenilcetonúria e um mecanismo para a coleta e transporte de amostras em papel de filtro. Neste momento se iniciava a triagem em larga escala de recém-nascidos, que abriu caminho para a detecção de outras patologias genéticas (THERRELL, 2001).

A triagem neonatal é reconhecida internacionalmente como um programa de saúde pública capaz de intervir em tempo adequado e que leva à redução significativa da morbidade, mortalidade e incapacidades provocadas pelas doenças pesquisadas (LLOYD-PURYEAR e FORSMAN, 2002).

Os testes de rastreamento ou triagem separam pessoas que aparentemente estão bem, mas que apresentam um fator de risco ou uma doença, daquelas que não as apresentam. Tem como objetivo examinar todos os membros de uma determinada população, independente de sua origem étnica ou do seu histórico familiar. A triagem neonatal refere-se a testes bioquímicos para detecção de distúrbios herdados, geralmente de origem metabólica, cujas manifestações são tratáveis por dietas ou medicamentos (THERREL, 2001).

Uma doença genética, para ser incluída no programa de triagem neonatal deve preencher alguns critérios: haver disponibilidade de tratamento; o início do tratamento deve ser precoce, antes que os sintomas se manifestem, reduzindo ou eliminando a gravidade da doença; a observação e o exame físico rotineiro não revelam o distúrbio no neonato, sendo necessária a realização de um teste para a sua detecção; o teste laboratorial disponível deve ser rápido e econômico e deve ser altamente sensível (sem falso-negativos) e razoavelmente específico (poucos falso-positivos); a doença deve ser freqüente e grave o suficiente para justificar a despesa da triagem, ou seja, a triagem deve ter uma relação de custo-benefício; a infra-estrutura social deve estar disponível para informar os genitores da criança e os médicos quanto ao resultado do teste de triagem; haver possibilidade de confirmar os resultados do teste e instituir o tratamento e a informação genética apropriados (THOMPSON e THOMPSON, 2002).

As hemoglobinopatias e a fibrose cística preenchem essas condições e por isso foram inseridas nos programas de triagem neonatal já existentes (RAMALHO et al., 2003).

1.7.1 Hemoglobinopatias na Triagem Neonatal

As hemoglobinopatias são as doenças genéticas mais comuns na população brasileira. Entretanto, não havia programa de detecção precoce, principalmente direcionado à doença falciforme. Os primeiros programas direcionados a estes pacientes contemplavam aqueles já sintomáticos, como o “Manual do Paciente com Doença Falciforme” criado pela Coordenação de Sangue e Derivados há mais de 10 anos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1998).

A inclusão da pesquisa das hemoglobinopatias, com ênfase na anemia falciforme nos programas de Triagem Neonatal, a partir da Portaria n.º 822 de 6 de junho de 2001, “corrigiu uma antiga distorção” ao adequar a triagem dos distúrbios metabólicos às características étnicas da população brasileira (RAMALHO et al., 2003).

1.7.2 Importância da Detecção Precoce de Pacientes com Doença Falciforme

A doença falciforme, de herança genética, destaca-se por apresentar várias complicações agudas que podem por em risco a vida dos pacientes. Nos primeiros anos, as infecções graves eram responsáveis por um grande número de óbitos em lactentes – cerca de 20 – 25%. Complicações como crises venoclusivas repetidas e graves, síndromes torácicas, seqüestro esplênico e outras também representavam risco de vida aos pacientes e se relacionavam a

complicações crônicas. Com o diagnóstico precoce, medidas como antibiótico profilático, vacinas especiais, tratamento adequado das intercorrências e observação rigorosa da gravidade da doença permitem que muitas complicações agudas e crônicas sejam evitadas ou amenizadas. O paciente pode desfrutar de melhor qualidade de vida e também de maior sobrevivência (CAMPANARO et al., 2007).

A triagem neonatal permite também o aconselhamento genético de pessoas portadoras de traço para hemoglobinas anormais (CAMPANARO et al., 2007).

1.7.3 Triagem Neonatal e Ética

A triagem neonatal deve ser implementada com a intenção educacional e de prevenção e promoção da saúde e não deve ser utilizada com motivações eugênicas (DINIZ e GUEDES, 2005).

Existem divergências sobre a obrigatoriedade da triagem neonatal, porém os benefícios para os pacientes diagnosticados, para os casais de risco que podem receber o aconselhamento genético e para a sociedade que pode ter seu patrimônio genético melhorado justificam a realização do exame de maneira universal (WILLIAMSON, 1993).

No Brasil, devido à grande miscigenação não deve ser feita conotação racial das hemoglobinopatias, portanto o exame de triagem neonatal deve ser conduzido de maneira adequada para não estimular o preconceito, a estigmatização, a perda de auto-estima e a invasão de privacidade (PAIVA E SILVA e RAMALHO, 1997).

1.7.4 Triagem Neonatal em Goiânia

A triagem neonatal começou a ser realizada no Estado de Goiás, no laboratório da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais – APAE – Anápolis, a partir do ano de 1994; até então, os exames colhidos eram encaminhados para outros estados (APAE – ANÀPOLIS, 2009).

A coleta de sangue em papel de filtro é realizada nas unidades básicas de saúde e encaminhadas até a APAE de Anápolis. Os exames realizados detectam hipotireoidismo congênito, fenilcetonúria, hiperplasia adrenal congênita e hemoglobinopatias (APAE – ANÀPOLIS, 2009).

Outra parcela da população que possui planos de saúde ou a rede privada realiza a triagem neonatal em laboratórios particulares. Este material é encaminhado para dois laboratórios de referência que realizam os exames.

É utilizada a focalização isoelétrica para detecção de hemoglobinas anormais nas amostras de todos os recém nascidos. Em casos positivos, a confirmação se realiza com a cromatografia líquida de alta precisão.

Tendo em vista a escassez de estudos populacionais da prevalência de hemoglobinopatias no Município de Goiânia e à importância do diagnóstico neonatal para acompanhamento clínico adequado, bem como estruturação da atenção à saúde destes pacientes foi proposto o presente estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Conhecer a prevalência de hemoglobinopatias no município de Goiânia, através da análise de exames de triagem neonatal.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência das hemoglobinopatias.
- Determinar a prevalência de doença falciforme.
- Determinar a prevalência de traço de hemoglobinopatias.
- Comparar a prevalência de hemoglobinopatias entre a rede pública e privada.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 CASUÍSTICA

Foram analisados os bancos de dados da triagem neonatal da APAE de Anápolis, da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia e dos dois laboratórios particulares de referência do Município de Goiânia, no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008. Nestes bancos de dados foram relacionadas todas as crianças, residentes no Município de Goiânia, que realizaram triagem neonatal e identificadas àquelas que possuíam: 1) hemoglobinopatias (padrão FS, FC, FD, FSC, FSD, FHb variante); 2) traço de hemoglobinopatia (padrão FAS, FAC, FAD, FAHb variante).

O banco de dados para identificação de doença falciforme da APAE de Anápolis e Secretaria Municipal de Saúde apresentava informações do período de janeiro de 2004 até dezembro de 2006. Os bancos de dados dos laboratórios particulares apresentaram informação de janeiro de 2004 a dezembro de 2008. Foram relacionadas todas as crianças, residentes no Município de Goiânia, que realizaram triagem neonatal e identificadas aquelas com padrão – FS, FSC, FSD – compatíveis com doença falciforme.

3.2 CARACTERÍSTICA DO ESTUDO

O estudo realizado foi observacional transversal. Nesse estudo foi realizado levantamento de um grupo de pessoas, algumas das quais portam a doença ou o gene estudado naquele momento e outras estão sadias. A fração

ou proporção do grupo que possui a doença ou o gene constituem a prevalência.

Este estudo também foi comparativo, entre a prevalência de hemoglobinopatias na rede pública e privada.

3.3 AMOSTRA

3.3.1 Critérios de Inclusão

Resultados de exames de recém-nascidos que realizaram o teste de triagem neonatal através dos sistemas público e privado, residentes no Município de Goiânia, no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008.

3.3.2 Critérios de Exclusão

Resultado inconclusivo em relação às hemoglobinopatias no exame de triagem neonatal.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para comparação das frequências foi utilizado o teste de Qui-quadrado. Em todos os testes fixou-se em 5% (alfa igual a 0,05) o nível de rejeição da hipótese de nulidade, com intervalo de confiança de 95%.

3.5 ASPECTOS ÉTICOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (protocolo nº 016/2009).

4 PUBLICAÇÃO

Artigo 1 – Prevalência de Hemoglobinopatias em Recém-nascidos do Município de Goiânia

Autores: Everaldo Ruiz Júnior, Ana Lúcia Sampaio Sgambatti de Andrade, Paulo Sergio Sucasas da Costa

Submetido aos Cadernos de Saúde Pública

Artigo1

Prevalência de Hemoglobinopatias em Recém-nascidos do Município de Goiânia

Resumo

As hemoglobinopatias são as desordens hereditárias mais comuns nos seres humanos, sendo as mais freqüentes as hemoglobinas S e C. O presente estudo avaliou a prevalência de hemoglobinopatias no Município de Goiânia através da análise da triagem neonatal, e comparou as prevalências de hemoglobinopatias entre a rede pública e privada. Amostras de sangue de 92.127 recém-nascidos foram analisadas. Um total de 61 recém-nascidos apresentaram hemoglobinopatia (7:10.000). Na rede pública e privada a prevalência foi de 7 e 3 por 10.000, respectivamente ($p=0,081$). Traço de hemoglobinopatia foi observado em 3.423 amostras (371:10.000); a rede pública com prevalência de 400:10.000 e a privada com 177:10.000 ($p=0,0001$). A doença falciforme teve prevalência de 4:10.000 nascimentos, sendo 5:10.000 na rede pública com e 2:10.000 na privada ($p=0,133$). Conclui-se que a doença falciforme apresenta alta prevalência e acomete crianças usuárias das redes pública e privada de saúde. A triagem

neonatal é de extrema importância para a detecção precoce de pacientes com doença falciforme e de portadores assintomáticos.

Palavras chaves: hemoglobinopatia, anemia falciforme, prevalência

Abstract

Hemoglobinopathies are the most common inherited disorders in humans; the most frequent are hemoglobins S and C. This study evaluates the prevalence of hemoglobin patterns at the city of Goiânia, state of Goiás, Brazil, using neonatal screening. Prevalence was compared between exams from the public and private systems. Blood samples from 90,127 newborns were obtained. Hemoglobinopathies were identified in a total of 61 (7:10.000) newborns. The prevalence in public and private systems was 7 and 3 per 10,000 respectively ($p=0.081$). In 3,243 (371:10,000) hemoglobinopathy traits were detected. The public system's prevalence was 400:10,000 and in the private system it was 177:10,000 ($p=0.0001$). The prevalence of sickle cell disease was 4.3:10,000 live birth overall; in the public system, it was 5:10,000 and in the private system it was 2:10,000 ($p=0.133$). We can conclude that sickle disease is of high prevalence in children at public and private systems. The neonatal screening information is of paramount importance for early diagnosis of sickle disease and people with sickle traits.

Key words: hemoglobinopathies, sickle cell anemia, prevalence

Introdução

As hemoglobinopatias resultam de mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa (α) e beta (β) da molécula de hemoglobina. Possuem padrão de herança autossômico recessivo e são as desordens hereditárias mais comuns em humanos ¹.

As hemoglobinopatias mais frequentes e com significado clínico são as variantes estruturais para hemoglobinas S e C (HbS e HbC) ².

A HbS é formada por uma mutação de ponto na posição 6 do gene da globina β , trocando o ácido glutâmico por uma valina - cadeia β s ³. Esta hemoglobina, quando em

condições de hipoxemia e acidemia, se polimeriza e deforma os eritrócitos que adquirem o formato de foice. Estes eritrócitos são mais rígidos e capazes de obstruir a microvasculatura. São destruídos pelo baço, causando anemia hemolítica. Tais alterações ocorrem em indivíduos homozigotos para a hemoglobina S (HbSS), portadores de anemia falciforme ou doença das células falciformes. Pacientes heterozigotos com S/beta 0 talassemia também possuem sintomatologia grave. Aqueles heterozigotos para HbS e HbC (hemoglobinopatia SC) e aqueles com S/beta + talassemia possuem doenças falciformes menos severas ⁴.

Os indivíduos heterozigotos com HbS e HbA são portadores de traço falciforme e não apresentam sintomatologia. A importância de sua detecção se deve ao aconselhamento genético populacional ⁵.

Além da anemia hemolítica, o paciente com doença falciforme apresenta complicações agudas como crise venoclusiva, seqüestro esplênico, crise aplástica, síndrome torácica aguda, priapismo, acidente vascular cerebral, infecções graves e complicações crônicas como insuficiência renal, hipertensão pulmonar, úlceras de membros inferiores e asplenia funcional ⁴.

A doença falciforme é a patologia genética mais prevalente no Brasil. Foi introduzida pelo tráfico de escravos africanos a partir do século VXI e disseminou -se devido à grande miscigenação da população brasileira ⁶.

Dados do Ministério da Saúde estimam prevalência de 4% da população brasileira com traço falciforme, o que significa o acometimento de 7.200.000 indivíduos e uma taxa de 200.000 recém-nascidos detectados anualmente com traço falciforme. Pacientes com anemia falciforme são estimados em 25.000 a 30.000 na população brasileira com 3.500 nascimentos anuais de crianças portadoras de anemia falciforme ⁷.

No Estado de Pernambuco foi observado que 4% (1:23) da população é portadora de traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:1.400 indivíduos (0,07%). Na Bahia, 5,3% (1:17) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:650 pessoas (0,15%). No estado do Rio de Janeiro 5% (1:21) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:1.200 indivíduos (0,08%). No estado de São Paulo 2,8% (1:35) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:4000 pessoas (0,02%). No Rio Grande do Sul 1,5%

(1:65) da população possui traço falciforme e a doença falciforme ocorre em 1:10.000 indivíduos (0,01%)⁷.

Alguns estudos utilizaram o teste de triagem neonatal para estimar a prevalência do gene da HbS. No Distrito Federal foram analisados 116.271 exames realizados no Programa de Triagem Neonatal do Distrito Federal, sendo que a prevalência do traço falciforme foi de 323:10.000 e da anemia falciforme foi de 9:10.000 nascimentos⁸.

Watanabe et al. (2008), analisaram 548.810 exames de triagem neonatal do Serviço de Referência em Triagem Neonatal, Fundação Ecumênica de Proteção ao Excepcional no Estado do Paraná e detectaram uma prevalência de anemia falciforme de 0,002% (12 crianças); 1,5% dos recém-nascidos apresentaram traço falciforme e a prevalência de S/beta talassemia foi de 0,003%⁹.

A doença falciforme pode levar a letalidade de 20% - 25% nos primeiros 5 anos de vida. Por isso o diagnóstico precoce e a instituição de tratamento adequado nos primeiros meses de vida é de extrema importância para a diminuição da morbidade e mortalidade relacionadas à doença.¹⁰

A inclusão da pesquisa das hemoglobinopatias, com ênfase na anemia falciforme nos programas de Triagem Neonatal, a partir da Portaria n.o 822 de 6 de junho de 2001, "corrigiu uma antiga distorção" ao adequar a triagem dos distúrbios metabólicos às características étnicas da população brasileira¹¹.

No Município de Goiânia a triagem neonatal da rede pública é realizada na Associação de Pais e Amigos de Excepcionais (APAE) de Anápolis e, na rede privada, realiza-se a triagem neonatal em dois laboratórios particulares de referência.

Este estudo teve como objetivo apresentar a prevalência de hemoglobinopatias detectadas em recém-nascidos do Município de Goiânia no período de janeiro de 2004 a dezembro de 2008 e comparar as prevalências entre a rede pública e privada.

Material e Métodos

Foi realizado um estudo transversal por meio da análise dos bancos de dados da triagem neonatal da APAE de Anápolis, da Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia e dos dois laboratórios particulares de referência do Município de Goiânia, no período de

janeiro de 2004 a dezembro de 2008. Nestes bancos de dados foram relacionadas todas as crianças, residentes no Município de Goiânia, que realizaram triagem neonatal e identificadas àquelas que possuíam: 1) hemoglobinopatias (padrão FS, FC, FD, FSC, FSD, FHb variante); 2) traço de hemoglobinopatia (padrão FAS, FAC, FAD, FAHb variante).

O banco de dados para identificação de doença falciforme da APAE de Anápolis e Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia apresentava informações do período de janeiro de 2004 até dezembro de 2006. Os bancos de dados dos laboratórios particulares apresentaram informação de janeiro de 2004 a dezembro de 2008. Foram relacionadas todas as crianças, residentes no Município de Goiânia, que realizaram triagem neonatal e identificadas aquelas com padrão – FS, FSC, FSD – compatíveis com doença falciforme.

As amostras de sangue capilar de recém-nascidos obtidas em papel filtro foram analisadas através dos métodos de Focalização Isoelétrica (FIE) que detecta hemoglobinas anormais com precisão no período neonatal. Em resultados positivos, a confirmação foi feita através da Cromatografia Líquida de Alta Precisão (HPLC).

Os cálculos da prevalência foram feitos com o número de crianças identificadas como portadoras de hemoglobinopatia, traço de hemoglobinopatia e doença falciforme, pelo número de exames coletados.

As análises estatísticas foram feitas utilizando-se o programa Epi Info 6; na comparação das frequências utilizou-se o teste qui-quadrado. Em todos os testes fixou-se em 5% (alfa igual a 0,05) o nível de rejeição da hipótese de nulidade, com intervalo de confiança de 95%.

O projeto de pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (Protocolo nº 016/2009), e desenvolvido integralmente segundo os princípios éticos estabelecidos na Resolução n. 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

Resultados

Foram realizados 92.127 exames de triagem neonatal em recém-nascidos do Município de Goiânia.

Na rede pública foram analisados 80.436 exames, o que corresponde a 85,4%; na rede privada foram analisados 11.691 exames, correspondendo a 14,5% do total. Destes exames foram detectados 61 hemoglobinopatias, com prevalência de 7:10.000 nascimentos ou 1:1.510, e 3.423 com traço de hemoglobinopatia, com prevalência de 371:10.000 ou 1:27.

Os casos de doença falciforme provenientes da rede pública estavam disponíveis de janeiro de 2004 a dezembro de 2006. Durante este período foram realizados 48.775 exames. Somando-se aos exames da rede privada obtém-se 60.446, com um total de 26 casos compatíveis com doença falciforme, prevalência de 4:10.000 ou 1:2.324.

Na rede pública foi encontrada prevalência de 400:10.000 (1:25) de traço de hemoglobinopatia, enquanto que na rede privada, esta prevalência foi de 177:10.000 ou 1:56 ($p=0,0001$). As hemoglobinopatias tiveram prevalência de 7:10.000 ou 1:1.387 na rede pública e 3:10.000 ou 1:3.897 na rede privada ($p=0,081$). A doença falciforme teve prevalência na rede pública de 5:10.000 ou 1:2.032 e na rede privada de 2:10.000 ou 1:5.845 ($p=0,133$). A Tabela 1 sumariza os dados citados.

Discussão

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a prevalência de doença falciforme em Goiânia, Goiás é menor do que a encontrada em outros estados como o Rio de Janeiro, Pernambuco, Minas Gerais e Bahia. No Distrito Federal, geograficamente próximo à Goiânia, a prevalência de doença falciforme foi de 9:10.000, também mais elevada. Estudos realizados no estado do Paraná, Rio Grande do Sul e São Paulo mostram prevalência menor de doença falciforme^{7 8 9}. Estas variações dependem da contribuição de afro-descendentes na constituição da população das diferentes localidades. Entretanto, um estudo realizado no Ceará com 389 recém-nascidos não evidenciou diferença significativa da prevalência de doença falciforme entre mães de etnias diferentes, destacando a grande miscigenação da população brasileira¹².

Observa-se elevada prevalência de heterozigotos, que se repete em vários estados brasileiros (2% - 5,3% da população)⁷. Este fato reforça a importância da triagem neonatal de todos os recém-nascidos brasileiros. Este procedimento permite o aconselhamento genético de famílias e casais de risco e o início precoce do tratamento

para aqueles com doença falciforme, que é de fundamental importância para o aumento da sobrevivência destes pacientes, assim como para a melhoria de sua qualidade de vida ⁴.

Detectamos uma prevalência de traço de hemoglobinopatia maior em exames da rede pública, demonstrando que o gene da HbS e de outras hemoglobinas anormais circula mais entre a população que não tem acesso à planos de saúde. Desta forma, ênfase deve ser dada a programas de triagem e de aconselhamento genético para a população que utiliza o sistema público de saúde, que é constituída, em sua maioria, por afro-descendentes com baixo poder aquisitivo ¹³.

Não houve diferença significativa na prevalência da doença falciforme entre as redes pública e privada, apesar da razão de prevalência público: privado ser de 2,5. Isto se deve ao pequeno número de pessoas acometidas, não sendo suficiente para atingir significância estatística. A grande miscigenação da população também contribui e serve de alerta para que os profissionais de saúde sempre incluam a doença falciforme no diagnóstico diferencial em atendimentos de urgência, independente de cor, raça ou classe social do paciente. Com mais casos sendo documentados, esta diferença provavelmente tornar-se-á significativa.

Estudo realizado com 404 estudantes universitários de diversas regiões do estado de Goiás mostrou prevalência de traço de hemoglobinopatia de 4,8%, valor que não possui diferença significativa ao encontrado neste estudo (IC: 3,01% - 7,49%). Não foi detectado algum indivíduo com hemoglobinopatia entre os estudantes ¹⁴.

Trabalho realizado com a triagem neonatal da APAE de Anápolis durante o ano de 2005, analisou 80.284 recém-nascidos do Estado de Goiás. Foi encontrada prevalência de traço de hemoglobinopatia de 4,4%; valor mais elevado do que o encontrado neste estudo (IC: 4,26% - 4,54%). Pacientes com hemoglobinopatia foram 64 – prevalência de 0,08% ou 1:1.254 – que não possui diferença com o presente estudo (IC: 0,06% - 0,10%). Os indivíduos com doença falciforme representaram prevalência de 0,07% ou 1:1.434, que não difere de forma significativa do resultado deste estudo (IC: 0,05% - 0,09%) ¹⁵. As diferenças encontradas provavelmente se devem ao fato do presente estudo também considerar a rede privada na estimativa da prevalência, o que diminuiu a frequência de recém-nascidos com traço de hemoglobinopatia .

Os estudos publicados nos últimos anos e que utilizaram a triagem neonatal para verificar a prevalência de hemoglobinopatias analisaram apenas o serviço público^{8,9}. Na presente investigação, a rede privada foi responsável por 14,5% dos casos e esta parcela da população contribuiu para a determinação mais precisa da prevalência das patologias estudadas.

No Município de Goiânia, estimou-se uma população de 1.244.645 em 2007¹⁶. Portanto pode-se estimar cerca de 535 pacientes com doença falciforme neste município. Além disso, deve-se considerar que Goiânia é referência para tratamento de pacientes com anemia falciforme de outras cidades. Apenas dois hospitais com serviço de hematologia atendem às internações pelo SUS, o que torna os leitos destes hospitais insuficientes. Os pacientes – adultos e crianças – muitas vezes são internados em instituições que não possuem serviço especializado e preparado para o atendimento adequado e que sigam protocolos de investigação e tratamento padronizados.

Esforços devem ser feitos para que haja o aumento de serviços com condições de atendimento integral e multidisciplinar aos pacientes com doença falciforme. Esta necessidade torna-se mais evidente levando-se em consideração o conhecimento da prevalência da doença.

Conclui-se que a doença falciforme apresenta alta prevalência no Município de Goiânia e acomete crianças que realizam exames na rede pública ou privada. A triagem neonatal é de extrema importância para a detecção precoce de pacientes com doença falciforme e outras hemoglobinopatias, dessa forma o tratamento adequado pode ser instituído o mais rápido possível, o que contribui para o aumento da sobrevida e para melhoria na qualidade de vida destes indivíduos. Os portadores assintomáticos e suas famílias podem receber aconselhamento genético adequado com o intuito educacional e de esclarecimento.

Referências

1. Davies SC, Cronin E, Gill M, Greengross P, Hickman M, Normand C. Screening for sickle cell disease and thalassaemia: a systematic review with supplementary research. *Health Technol Assess* 2000; 4:1-99.

2. Almeida AM, Henthorn JS, Davies SC. Neonatal screening for haemoglobinopathies: the results of a 10-year programme in an English Health Region. *Br J Haematol* 2001; 112:32-5.
3. Naoum PC. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Editora Sarvier; 1999.
4. Costa FF. Anemia Falciforme. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. Hematologia . Fundamentos e Prática. 1ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2001. p. 289-307.
5. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem* 2000; 46:1284-90.
6. Zago MA, Figueiredo MS, Ogo SH. Bantu β s – cluster haplotype predominates among brazilian blacks. *Am J Phys Anthropol* 1992; 88:295-8.
7. Cançado RD, Jesus AJ. A doença falciforme no Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2007; 29:203-6.
8. Diniz D, Guedes C, Barbosa L, Tauil PL, Magalhães I. Prevalência do traço e da anemia falciforme em recém-nascidos do Distrito Federal, Brasil, 2004 a 2006. *Cad Saude Publica* 2009; 25:188-94.
9. Watanabe AM, Pianovski MAD, Zanis-Neto J, Lichtvan LCL, Chautard-Freire-Maia EA, Domingos MT, Wittig EO. Prevalência da hemoglobina S no Estado do Paraná, Brasil, obtida pela triagem neonatal. *Cad Saude Publica* 2008; 24:993-1000.

10. Campanaro CM, Lyra IM, Viana MB, Araújo PIC, Figueira CMG, Anjos AC, Braga JAP. Doença Falciforme. In: Braga JAP, Tone LG, Loggetto SR. Hematologia para o Pediatra. São Paulo: Atheneu, 2007. p 73-89
11. Ramalho AS, Silva ID, Pagotti M, Teixeira RC. Abortamentos espontâneos em portadores do traço falciforme (AS). Rev Bras Hematol Hemoter. 2003; 25:265-6.
12. Pinheiro LS, Gonçalves RP, Tomé CAS, Alcântara AEE, Marques ARC, Silva MM. Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. Rev Bras Ginecol Obstet 2006; 28: 122-5.
13. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Diretoria de Pesquisas. Coordenação de População e Indicadores Sociais. Síntese de Indicadores Sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro: IBGE; 2008.
14. Melo-Reis PR, Naoum PC, Diniz-Filho JAF, Dias-Penna KGB, Mesquita MM, Balestra FA, et al. Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil. J Bras Patol Med Lab 2006; 42: 425-30.
15. André MAI, Castro F. Detecção de Hemoglobinas Variantes Triadas na APAE – Anápolis no Ano de 2005 [Dissertação de Especialização]. Goiânia: Programa de Pós-Graduação em Hematologia Laboratorial, Universidade Católica de Goiás; 2007.
16. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. IBGE cidades. www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1 (acessado em 29/Jul/2009)

Tabela 1

Comparação de Prevalências entre a Rede Pública e Privada

	Número	Prevalência	IC (%)	RP	
Hemoglobinopatias					
Rede Pública	58	0,07% ou 1:1.387	0,05 – 0,09		
Rede Privada	3	0,03% ou 1:3.897	0,01 – 0,08	2,3	p=0,081
Traço de Hemoglobinopatia					
Rede Pública	3.217	4% ou 1:25	3,8 – 4,1		
Rede Privada	206	1,77% ou 1:56	1,5 – 2,09	2,25	*p=0,0001
Doença Falciforme					
Rede Pública	24	0,05% ou 1:2.032	0,03 – 0,07		
Rede Privada	2	0,02% ou 1:5.845	0,01 – 0,07	2,5	p=0,133

IC (intervalo de 95% de confiança), RP (razão de prevalência público / privado)

5 CONCLUSÕES

- No Município de Goiânia, a prevalência de hemoglobinopatias foi de 7:10.000 ou 1:1.510 recém-nascidos vivos, de traço de hemoglobinopatias foi de 371: 10.000 ou 1:27 recém-nascidos vivos e de doença falciforme foi de 4:10.0000 ou 1:2.324 recém-nascidos vivos.
- A prevalência de traço de hemoglobinopatia foi maior nas crianças que utilizaram a rede pública. Não houve diferença significativa na prevalência entre rede pública e privada para hemoglobinopatias e doença falciforme

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, A. M.; HENTHORN, J. S.; DAVIES, S. C. Neonatal screening for haemoglobinopathies: the results of a 10-year programme in an English Health Region. **Br J Haematol**. v.112, p. 32-5. 2001
- ANVISA. Ministério da Saúde. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doença Falciformes**. Brasília : ANVISA, 2001.
- APAE – ANÁPOLIS / GOIÁS. **Laboratório**. [http:// www.apaeaps.org.br](http://www.apaeaps.org.br) (acessado em 28/set/2009).
- ARAÚJO, M. C. P. E.; SERAFIM, E. S. S.; CASTRO-JR., W. A. P.; MEDEIROS, T. M. D. Prevalência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos da cidade de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil. **Cad Saude Publica**. v. 20, n. 1, p. 123-8, jan./fev. 2004.
- BUNN, H. F. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. **N Engl J Med**. Massachussets, v.337, n.11, p.762-769, 1997.
- CAMPANARO, C. M.; LYRA, I. M.; VIANA, M. B.; ARAÚJO, P. I. C.; FIGUEIRA, C. M. G.; ANJOS, A. C.; BRAGA, J. A. P. Doença Falciforme. In: BRAGA, J. A. P.; TONE, L. G.; LOGGETTO, S. R. **Hematologia para o Pediatra**. São Paulo: Atheneu, 2007.
- CANÇADO, R. D.; JESUS, A. J. A doença falciforme no Brasil. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v. 29, n. 3, p. 203-6. 2007.
- CHAPMAN, C. S. Neonatal screening for haemoglobinopathies. **Clin Lab Haem**, v.21, p.229-234, 1999.
- CLARKE, G. M.; HIGGINS, T. N. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. **Clin Chem**. v. 46, p. 1284-90. 2000.
- COSTA, F. F. Anemia Falciforme. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia . Fundamentos e Prática**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2001. p. 289-307.
- DAUDT, L. E.; ZECHMAISTER, D.; PORTAL, L.; NETO, E. C.; ROCHA S, L. M.; GIUGLIANI, R. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo

piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad Saude Publica**, Rio de Janeiro, v.18, n.3, p.833-841, 2002.

DAVIES, S. C.; CRONIN, E.; GILL, M.; GREENGROSS, P.; HICKMAN, M.; NORMAND, C. Screening for sickle cell disease and thalassaemia: a systematic review with supplementary research. **Health Technol Assess**. v. i, n. 4, p. 1-99, 2000.

DINIZ, D.; GUEDES, C. Confidencialidade, aconselhamento genético e saúde pública: um estudo de caso sobre o traço falciforme. **Cad Saude Publica**. v. 21, p. 747-755. 2005.

DINIZ, D.; GUEDES, C.; BARBOSA, L.; TAUIL, P. L.; MAGALHÃES, I. Prevalência do traço e da anemia falciforme em recém-nascidos do Distrito Federal, Brasil, 2004 a 2006. **Cad Saude Publica**. v. 25, n. 1, p. 188-194. jan. 2009.

FABRON JR., A. Clínica e tratamento das doenças falciformes. In: NAOUM, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. São Paulo: Sarvier, 1997. p.48-60.

FALCÃO, R. P.; DONADI, E. A. Infecções e imunidade na doença falciforme. **AMB Rev Assoc Med Bras**. v. 35, p. 70-4.1989.

GARRICK, M. D. Alternative methods for screening. **Pediatrics**, v.83, p.855-857, 1989.

GASTON, M. H.; VERTER, J. I.; WOODS, G.; PEGELOW, C.; KELLEHER, J.; PRESBURY, G.; ZARKOWSKY, H.; VICHINSKY, E.; IYER, R.; LOBEL, J. S.; et al. Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia. A randomized trial. **N Engl J Med**. v. 314, n. 25, p. 1593-9. jun 1986.

GLOBIN GENE SERVER. **HbVar: a database of human hemoglobin variants and thalassemias**. [http:// globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/](http://globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/) (acessado em 13/abr/2009).

GUALANDRO, S. F. M. Lesões osteoarticulares na doença falciforme. In: ANVISA. **Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes**. Brasília: ANVISA, 2001. p.92-97.

HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickled-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. **Arch Intern Med**. v. 6, p. 517-21. 1910.

HOCKING, D. R. **The separation and identification of hemoglobin variants by isoelectric focusing electrophoresis**: an interpretative guide. Georgia (USA): Medical College of Georgia, 1997.

HUISMAN, T. H. J. Usefulness of cation exchange high performance liquid chromatography as a testing procedure. **Pediatrics**, p.849-851, 1989. (Supplement)

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.

LLOYD-PURYEAR, M. A.; FORSMAN, I. Newborn screening and genetic testing. **JOGNN**, v.31, p.200-207, 2002.

LOBO, C. L.; BUENO, L. M.; MOURA, P.; OGEDA, L. L.; CASTILHO, S.; DE CARVALHO, S. M. Neonatal screening for hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. **Rev Panam Salud Publica**. v. 13, n. 2/3, p. 154-9. fev./mar. 2003.

MANTADAKIS, E.; EWALT, D. H.; CAVENDER, J. D.; ROGERS, Z. R.; BUCHANAN, G. R. Outpatient penile aspiration and epinephrine irrigation for young patients with sickle cell anemia and prolonged priapism. **Blood**. v. 95, p. 78-82. 2000.

MANUAL BIO-RAD-VARIANT SICKLE CELL SHORT PROGRAM INSTRUCTION 2003. 18p

MICHLITSCH, J.; AZIMI, M.; HOPPE, C.; WALTERS, M. C.; LUBIN, B.; LOREY, F.; VICHINSKY, E. Newborn Screening for Hemoglobinopathies in California. **Pediatr Blood Cancer**. v. 52, p. 486-90. 2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sub comitê de anemia falciforme. Grupo interdisciplinar de anemias hemolíticas hereditárias. **Manual do paciente com doença falciforme**. COSAH. Brasília, 1998.

NAGEL, R. L. Malaria and hemoglobinopathies. In: STEINBERG, M. H.; FORGET, B. G.; HIGGS, D.R.; NAGEL, R. L. **Disorders of hemoglobin: genetics, pathophysiology, clinical management**. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2001. Cap. 11, p.291-301.

NAGEL, R. L.; FABRY, M. E.; STEINBERG, M. H. The paradox of hemoglobin SC disease. **Blood Rev**. v. 17, p. 167-78. 2003.

NAOUM, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. São Paulo: Editora Sarvier; 1999.

NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. **Doenças das células falciformes**. São Paulo, Sarvier, 2004. 224 p.

OHENE-FREMPONG, K.; WEINER, S. J.; SLEEPER, L. A.; et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. **Blood**. v. 91, p. 288-94. 1998.

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. **Cad Saude Publica**, Rio de Janeiro, v.13, n.2, p. 285-294, 1997.

PATRINOS, G. P.; GIARDINE, B.; RIEMER, C.; MILLER, W.; CHUI, D. H. K.; ANAGNOU, N. P.; et al. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations for population and sequence variation studies. **Nucleic Acids Res**. v. 32, p. 537-41, 2004.

PEARSON, H. A.; GALLAGHER, D.; CHILCOTE, R.; et al. Developmental pattern of splenic dysfunction in sickle cell disorders. **Pediatrics**. v. 76, p. 392-97. 1985.

PEARSON, H. A. Neonatal testing for sickle cell diseases: a historical and personal review. **Pediatrics**, p.815-818, 1989.

PEGELOW, C. H.; ADAMS, R. J.; MCKIE, V.; et al. Risk of recurrent stroke in patients with sickle cell disease treated with erythrocyte transfusions. **J Pediatr**. v. 126, p. 896-99. 1995.

PEREA, F. J. Hb D Los Angeles associated with Hb S or b-thalassemia in four Mexican mestizo families. **Hemoglobin**. v. 23, p. 231-7. 1999.

PINHEIRO, L. S.; GONÇALVES, R. P.; TOMÉ, C. A. S.; ALCÂNTARA, A. E. E.; MARQUES, A. R. C.; SILVA, M. M. Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. **Rev Bras Ginecol Obstet**. v. 28, n. 2, p. 122-5. 2006.

RAMALHO, A. S.; SILVA, I. D.; PAGOTTI, M.; TEIXEIRA, R. C. Abortamentos espontâneos em portadores do traço falciforme (AS). **Rev Bras Hematol Hemoter.**, v.25, n.4, p. 102-7, 2003.

SERJEANT, G. R.; SERJEANT, B. E.; THOMAS, P. W.; ANDERSON, M. J.; PATOU, G.; PATTISON, J. R. Human parvovirus infection in homozygous sickle cell disease. **Lancet**. v. 341, p. 1237-40. 1993.

SERJEANT, G. R. A doença da célula falciforme. **Anais Nestlé**. v. 58, n. 1, p. 11-22. 1999.

SILLA, L. M. R. Doença falciforme: um grave e desconhecido problema de saúde pública no Brasil. **J Pediatr**. v. 75, p. 145-6. 1999.

SOMMER, C. K.; GOLDBECK, A. S.; WAGNER, S. C.; CASTRO, S. M. Triagem neonatal para hemoglobinopatias: experiência de um ano na rede de saúde pública do Rio Grande do Sul, Brasil. **Cad Saude Publica**. v. 22, n. 8, p. 1709-14. ago. 2006.

STUART, M. J.; SETTY, B. N. Acute chest syndrome of sickle cell disease: new light on an old problem. **Curr Opin Hematol**. v. 8, p. 111-22. 2001.

STUART, M. J.; NAGEL, R. L. Sickle-cell disease. **Lancet**. v. 364, p. 1343-60. out. 2004.

THERRELL, B. L. U. S. Newborn screening policy dilemmas for the twenty-first century. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.74, p.64-74., 2001.

THOMPSON, J.; THOMPSON, M. **Genética médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 387p.

TORRES, F. R.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Hemoglobinas humanas- hipótese malária ou efeito materno? **Rev Bras Hematol Hemoter**, São Paulo, v.27, n.1, p.53-60, 2005.

WATANABE, A. M.; PIANOVSKI, M. A. D.; ZANIS-NETO, J.; LICHTVAN, L. C. L.; CHAUTARD-FREIRE-MAIA, E. A.; DOMINGOS, M. T.; WITTIG, E. O. Prevalência da hemoglobina S no Estado do Paraná, Brasil, obtida pela triagem neonatal. **Cad Saude Publica**. v. 24, n. 5, p. 993-1000. mai. 2008.

WHO (World Health Organization). **Sickle cell anaemia**. Report by the secretariat, Executive Board 117 th session. December, 2005. 5p.

WILLIAMSON, R. Universal community carrier screening for cystic fibrosis. **Nature Genetics**. v. 3, p. 195-201. 1993.

ZAGO, M. A.; FIGUEIREDO, M. S.; OGO, S. H. Bantu β s – cluster haplotype predominates among brazilian blacks. **Am J Phys Anthropol**, v.88, p.295-298, 1992.

ZAGO, M. A. Anemia falciforme e doenças falciformes. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Manual de Doenças mais importantes, por razões étnicas, na população brasileira afro-descendente**. Brasília (DF), 2001b.

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

ANEXO 2 – CARTA DE SUBMISSÃO

ANEXO 3 – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO