

PROFILAXIA DAS DOENÇAS HEREDITÁRIAS DO ERITRÓCITO

SÉRGIO LAMY, LIGIA BRAGA, PAULA PACHECO, JOÃO LAVINHA,
GERTRUDES GOMES DA COSTA, NUNO CORDEIRO FERREIRA

Serviço 1 do Hospital de Dona Estefânia. Departamento de Genética Humana
do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Lisboa

RESUMO

Pretende-se esclarecer a prevalência que as doenças hereditárias do eritrócito têm não só ao nível mundial e europeu como também ao nível do nosso país e da consulta de hematologia pediátrica do Hospital de Dona Estefânia. São realçados os aspectos que condicionam a morbilidade associada a estas doenças crónicas, quer do ponto de vista da sua própria evolução natural como da própria terapêutica instituída. São referidas atitudes consensuais do ponto de vista profilático e terapêutico adoptadas neste tipo de doenças crónicas. Assume-se o diagnóstico pós-natal como de extrema importância, possibilitando diagnosticar-se casais de risco e implementar medidas privilegiando o aconselhamento destes casais quanto à característica genética de que são portadores e pondo à sua disposição meios de diagnóstico seguros na caracterização da sua descendência antes do nascimento (diagnóstico pré-natal), com base num estudo de biologia molecular. Conclui-se realçando os programas de prevenção, sem os quais se torna impossível o decréscimo da incidência destas doenças, nomeadamente nos países de forte prevalência.

SUMMARY

Prophylaxis of the Hereditary Red Cells Disorders

The authors report the importance of not only all over the world but also in Portugal and, particularly, in Dona Estefânia hospital. Some considerations are made about the usefulness of molecular biology methods in prenatal diagnosis. With this tool can also be do the origins and migrations of populations, which contributes to the knowledge of aspects of our history. Finally, they present consensual attitudes which should adopt regarding these chronic diseases, with special emphasis to the prophylactic aspects.

INTRODUÇÃO

Falar de profilaxia das doenças hereditárias do eritrócito é falar de um conjunto de circunstâncias que condicionam a maior ou menor morbilidade associada a estas doenças crónicas quer do ponto de vista da sua própria evolução natural como da própria terapêutica instituída, nomeadamente a transfusão de produtos sanguíneos com todos os riscos que esta ainda pode acarretar. Para além destes aspectos, o diagnóstico pós-natal é de extrema importância, podendo assim diagnosticar-se casais de risco, portadores do gene patogénico, e implementar medidas privilegiando o aconselhamento do casal quanto à característica de que são portadores e pondo à sua disposição meios de diagnóstico seguros na caracterização da sua descendência mesmo antes do nascimento (diagnóstico pré-natal).

O trabalho que aqui se apresenta irá, primeiro que tudo, esclarecer-nos quanto à prevalência destas doenças, não só ao nível mundial e europeu como também ao nível do nosso país e, por fim, ao nível da consulta de hematologia pediátrica do Hospital de Dona Estefânia. De seguida, serão referidas algumas atitudes terapêuticas e, ao mesmo tempo, profiláticas. Por fim, falar-se-á do diagnóstico pré-natal e dos programas de prevenção, sem os quais se torna impossível o decréscimo da incidência desta patologia, especialmente nos países de forte prevalência.

Estas doenças serão abordadas de acordo com o nível em que o defeito se dá, nomeadamente: as hemoglobinopatias, em que se enquadram as talassémias e as doenças de células falciformes, as membranopatias como a esferocitose e a eliptocitose e as enzimopatias como o défice de glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD) e de piruvato-quinase (PK).

EPIDEMIOLOGIA

Quanto à importância, em termos de prevalência, que as hemoglobinopatias têm nas várias regiões do Globo, apoiamo-nos nos dados elaborados durante as 2 reuniões que o Grupo de Trabalho Europeu para estas doenças, sob a égide da Organização Mundial da Saúde, organizou em 1986 e 87 em Bruxelas e Paris, respectivamente¹. Calcula-se que 44% da população africana seja portadora de um dos genes patogénicos, o mesmo se passando com 34% da população asiática, 6% da população americana, 1,4% da Oceania e 1% da população europeia. Quanto ao número de homocigotos estima-se que cerca de 7-8 em cada 1000 crianças nascidas no continente africano serão doentes, ou seja 164 000 crianças por ano. Por outro lado, a Europa e a Oceania têm a menor incidência, com cerca de 0,2‰, o que faria com que nascessem no nosso continente cerca de 2 000 crianças doentes por ano. Cingindo-nos ao continente europeu, a distribuição também não é uniforme, havendo uma maior prevalência nos países junto ao Mediterrâneo, nomeadamente a Grécia e a Itália com 9 e 5% da sua população como heterocigota, o que faz com que nasçam nestes países 252 e 310 crianças doentes por ano, respectivamente, na ausência de medidas preventivas¹.

Com programas de rastreio dirigidos à população em geral, conjugados com o aconselhamento genético e o diagnóstico pré-natal, conseguiu-se reduzir drasticamente a incidência da β -talassémia major na região mediterrânica, como aconteceu, por exemplo, na Sardenha onde, cinco anos após a sua implementação, foram prevenidos 50% dos casos esperados e onde, ao fim de menos de vinte anos de programa, seriam evitados 94% dos casos^{1,2}.

Em Portugal, o panorama é-nos dado por um estudo prospectivo³ realizado nos Centros de Inspeção Militar (Porto, Coimbra, Setúbal), englobando 15 208 indivíduos aquando da sua avaliação para ingresso no Serviço Militar Obrigatório: 0,45% eram portadores de β -talassémia, 0,32% eram portadores para o gene da hemoglobina S e 0,51% da população masculina tinha défice da enzima G6PD. Calcula-se haver em Portugal cerca de 75 000 heterocigotos, o que faz com que nasçam por ano, no mínimo e segundo os mesmos autores, 3 crianças homocigotas. Contudo, este valor é inconsistente com os mais de 300 indivíduos homocigotos vivos que existem no nosso país. Tal discrepância poderá ter várias causas, entre as quais a heterogeneidade da distribuição da heterocigotia, sendo as zonas do Sul do país as de maior prevalência, e ainda porque não conta com os imigrantes dos países africanos de língua oficial portuguesa (PALOP), especialmente os originários da República de Cabo Verde, em que 7% da sua população são heterocigotos. Por outro, a premissa do acasalamento aleatório pode não ser verdadeira.

O conhecimento das mutações genéticas das hemoglobinopatias permite estudar a origem e as migrações das populações. Assim, em Portugal, as mutações genéticas da β -talassémia seriam idênticas às existentes no Mediterrâneo Ocidental, acreditando-se que a introdução deste

gene tenha sido realizada através da chegada à Península Ibérica dos fenícios, gregos e romanos, comportando-se o nosso país como um país mediterrânico⁴⁻⁷. Por outro lado, a introdução do gene da hemoglobina S fez-se, principalmente, em dois períodos distintos: nos primeiros séculos e de forma esporádica através dos fenícios e gregos e a partir do século XV, de forma marcada, através da importação de numerosos escravos do Congo, Angola e Guiné^{8,9}. As mutações genéticas da hemoglobina S são, sobretudo, do tipo Bantu e Senegal, sendo mais raro as do tipo Benin (comum no Mediterrâneo), concentrando-se, as primeiras, nos locais onde a partir do século XV houve comércio de escravos, enquanto as do tipo Benin estão espalhadas no sul do país^{8,9}. Quer isto significar que, no que diz respeito à hemoglobina S, Portugal comporta-se também como um país africano.

POPULAÇÃO ESTUDADA

Passando para a área mais restrita da consulta de hematologia pediátrica do Hospital de Dona Estefânia, fez-se uma revisão dos últimos 22 anos, excluindo o de 1993 e 1994. Neste período foram inscritas, pela primeira vez, 588 crianças com gene de hemoglobinopatia, o que fez um total de 11,53% dos inscritos como primeira consulta. Destas 588 crianças, 151 eram doentes: 104 das quais com doença das células falciformes, 24 com β -talassémia major, 21 com talassodrepanocitose e 2 com doença SC. As restantes 437 eram portadoras do gene patológico: 139 das quais com o gene para a hemoglobina S, 291 para o da β -talassémia, distribuindo-se os restantes 7 noutras formas raras de doença (*Quadro 1*). No que diz respeito às outras formas de anemia hemolítica hereditária, foram detectados, entre os 3500 inscritos na mesma consulta no período 1970-85, 80 membranopatias (77 esferocitoses, 3 ovalocitoses) e 108 enzimopatias (107 por deficiência de G6PD e um único caso de deficiência em PK, a acrescentar aos cerca de 300 doentes com défice deste enzima existentes em todo o mundo¹⁰ (*Quadro 2*).

Quadro 1 – Casuística de doentes com hemoglobinopatias na Consulta de Hematologia Pediátrica do Hospital de Dona Estefânia no período 1970-92

1970-1992	
Total de inscritos= 5098	
Hemoglobinopatias	588
β -talassémia	315
Major	24
Minor	291
Falciforme	243
Homocigotos	104
Heterocigotos	139
Talassodrepanocitose	21
Doença SC	2
Hemoglobina F	2
Hemoglobina C	1
Hemoglobina Lepore	1
Hemoglobina D	1
Hemoglobina I	1
Hemoglobina instável	1

Quadro 2 – Casuística de doentes com membrano e enzimopatias hereditárias na Consulta de Hematologia Pediátrica do Hospital de Dona Estefânia no período 1970-85

1970-1985	
Total de inscritos = 3500	
Membranopatias	80
Esferocitose	77
Ovalocitose e Eliptocitose	3
Enzimopatias	108
G6PD	107
PK	1

PROFILAXIA E TRATAMENTO

Perante uma patologia como as hemoglobinopatias, em que 1/4 dos descendentes de um casal de portadores assintomáticos sofrem as consequências de uma doença altamente incapacitante, justifica-se todo o investimento numa profilaxia eficaz. Já na esferocitose (doença autosómica dominante em 75% dos casos) e no défice de G6PD (ligado ao cromossoma X) a transmissão processa-se de uma forma diferente.

Para além da abordagem diagnóstica e terapêutica específicas para cada uma destas doenças, logicamente diferente entre si, a atitude profilática de base mantém-se comum a todas elas: em primeiro lugar, o diagnóstico pós-natal tão precoce quanto possível, quer seja feito após o conhecimento de dados relevantes na história clínica ou ainda por altura do rastreio instituído (como é o caso de zonas de alta prevalência da doença); em segundo lugar, o aconselhamento do casal de risco acerca da natureza da doença e das suas implicações futuras, deixando sempre a ele a liberdade da decisão de futuras gestações levadas ou não a termo; por fim, a consequência lógica das duas atitudes anteriores, ou seja a realização do diagnóstico pré-natal nas situações em que justifique a interrupção da gravidez, nomeadamente nas homozigotias ou duplas heterozigotias.

Assim, para a esferocitose, que tem uma prevalência de 0.22-0.45% na nossa população com predominância na raça branca, o passo seguinte na profilaxia das complicações da doença é a esplenectomia, enquanto que para o défice de G6PD assenta no conhecimento e evicção dos agentes desencadeadores das crises de hemólise.

Quanto às hemoglobinopatias, a abordagem profilática já será um pouco mais complexa dada a cronicidade e gravidade das mesmas e ainda pelos riscos que a própria terapêutica acarreta. Lembrar sempre que mais do que bem tratar é saber evitar. Assim, para ambas as doenças é de primordial importância a educação dos familiares e do doente para o conhecimento das mesmas: é importante saber avaliar os sinais e os sintomas precoces, o acesso fácil aos serviços de saúde, o cumprimento das terapêuticas prescritas assim como do calendário das consultas programadas.

No caso da β -talassémia major, com um regime transfusional, do qual dependia a vida do doente, conseguia-se que o mesmo sobrevivesse mas perpetuando um ciclo

vicioso que iria agravar as alterações ósseas pela hipertrofia do tecido eritropoiético medular e ainda, pela sobrecarga de ferro ao nível dos tecidos, condicionando um quadro de hemossiderose de agravamento progressivo com insuficiência de vários órgãos, culminando na morte por volta dos 17 anos de idade. Actualmente, esta evolução raramente se observa, e este êxito deve-se à adopção de 3 atitudes fundamentais: o regime hipertransfusional, não permitindo que haja estimulação da eritropoiese, a utilização de quelantes de ferro e a esplenectomia quando houver sinais de hiperesplenismo¹¹⁻¹³.

Para as doenças das células falciformes, a atitude difere tendo em vista sobretudo a hiperhidratação, a analgesia e, se necessário, a antibioterapia. A transfusão sanguínea e a exsanguíneo-transfusão são reservadas para situações específicas¹⁴⁻¹⁷.

DISCUSSÃO

Podemos actualmente falar de esperança no futuro com os novos meios de alterar a evolução, assim como as consequências da terapêutica, ou mesmo curar estas doenças: os quelantes do ferro orais, ainda em fase de experimentação^{12,13,18-20}; os estimulantes da síntese das cadeias gama, com o objectivo de elevar os níveis de hemoglobina F (hidroxiureia, 5-azacitidina, bussulfan, butiratos)^{13,21}, associados ou não ao uso da eritropoietina; o transplante de medula óssea, de discutível êxito^{12,22}, e a terapia génica por engenharia genética, até agora sem resultados mas que continua a ser a grande expectativa a médio prazo^{13,23}.

Actualmente é possível a realização do diagnóstico pré-natal (DPN) com base num estudo de genética molecular. Tal só foi possível após se ter determinado o espectro e a abundância relativa das mutações no gene da β -globina associadas ao fenótipo β -talassémico (Quadro 3). Tal estudo revelou que cinco mutações representam 97% dos genes β -talassémicos na nossa população^{6,7,24,25}. Assim, por meio da amniocentese, realizada a partir da 12ª semana de gestação, é possível efectuar-se o DPN antes das 15-16 semanas de gestação, enquanto que, pela biópsia das vilosidades coriônicas, feita a partir da 9ª semana e sem necessidade de cultivar as células, o mesmo é possível uma semana mais tarde.

Desde 1990 a Julho de 1994 foram já realizados, no Departamento de Genética Humana do Instituto Nacional de Saúde Dr Ricardo Jorge, 14 DPN tendo sido diagnosticados 2 casos de homozigotia em casais de risco (1 caso de β -talassémia e 1 caso de drepanocitose), tendo havido interrupção voluntária da gravidez em ambos. Por outro lado, o DPN permitiu que 12 casais de risco tivessem uma descendência saudável.

Uma palavra para o que poderá acontecer na ausência de programas de prevenção ao fim de 45 anos, com base nos dados até 1986: por exemplo, na Grécia e Itália que tinham na altura mais de 4 000 doentes, teriam ao fim deste tempo cerca de 11 340 e 13 950, respectivamente. No caso de Portugal, que contava com cerca de 100 doentes antes de 1986, teria ao fim deste tempo cerca de 225, número este que estaria já hoje ultrapassado^{1,3}.

Quadro 3 – Mutações β -talassémicas na população portuguesa: dados obtidos por três grupos de investigadores - A6, B7 e C24,25.

β -Talassémia (praticabilidade do diagnóstico pré-natal)

Mutação - β Talassémia	Prevalência				
	A	B	C	A + B + C	
Codão 39 (CAG ->TAG)	15	36	43	94	37%
IVS1 nt1 (G->A)	9	24	21	54	21%
IVS1 nt6 (T->C)	—	14	34	48	19%
IVS1 nt110 (G->A)	3	16	10	29	11%
Codão 15 (TGG->TGA)	—	—	20	20	8%
-90 (C->T)	—	1	2	3	1%
IVS1 nt130 (G->C)	—	—	1	1	< 1%
IVS2 nt4,5 (-AG)	—	1	—	1	< 1%
Codão 121 (GAA->TAA)	—	1	—	1	< 1%
Codões 134-137 (-10,+4)	—	—	1	1	< 1%
Não caracterizada	1	—	—	1	< 1%
Total	28	93	132	253	

Por fim, e voltando-nos para o doente que já nasceu, cria-se a necessidade de uma equipa multidisciplinar orientada para o mesmo fim que é o apoio à criança doente e à sua família, tentando-se ainda ajudar o doente no confronto com as consequências psico-sociais da sua doença procurando atingir a completa integração na sociedade, a que legitimamente tem direito.

AGRADECIMENTOS

Ao colega António Bessa de Almeida pela amável cedência dos dados casuísticos dos doentes com hemoglobinopatias na Consulta de Hematologia Pediátrica do Hospital de Dona Estefânia no período entre 1986 e 1992.

BIBLIOGRAFIA

1. Report of the first two meetings of the WHO/EUROPEAN MEDITERRANEAN Working Group on Haemoglobinopathies: Brussels, 14/3/86 and Paris, 20-21/3/87
2. CAO A: 1993 William Allan Award Address. *Am J Human Genetics* 1994; 54: 397-402
3. MARTINS MC, OLIM G, MELO J, MAGALHÃES HA, RODRIGUES MO: Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance and control. *J Med Genet* 1993; 30: 235-9
4. CAO A, GOSSENS M, PIRASTU M: β -thalassaemia mutations in Mediterranean Populations. *Br J Haematology* 1989; 71:309-12
5. LAVINHA J, BAIGET M: β -thalassaemia in Spain and Portugal: epidemiology and molecular pathology. *Hematology Reviews* 1992; 6: 113-16
6. COUTINHO-GOMES MP, GOMES DA COSTA MG, BRAGA LB, CORDEIRO FERREIRA NT, LOI A, PIRASTU M, CAO A: β -thalassaemia mutations in the Portuguese population. *Hum Genet* 1988; 78: 13-5
7. FAUSTINO P, OSORIO-ALMEIDA L, BARBOT J, ESPIRITO-SANTO D, GONÇALVES J, ROMÃO L, MARTINS MC, MARQUES MM, LAVINHA J: Novel promoter and splice junction defects add to the genetic, clinical or geographic heterogeneity of β -thalassaemia in the Portuguese population. *Hum Genet* 1992; 89: 573-6
8. LAVINHA J, GONÇALVES J, FAUSTINO P, ROMÃO L, OSORIO-ALMEIDA L, PERES MJ, PICAÑO I, CARMO-MARTINS M, DUCROCQ R, LABIE D, KRISHNAMOORTHY R: Importation route of the sickle cell trait into Portugal: contribution of molecular epidemiology. *Human Biology* Dec 1992; 64, 6:891-901
9. MONTEIRO C, RUEFF J, FALCÃO AB, PORTUGAL S, WEATHERALL DJ, KULOZIK AE: The frequency and origin of the sickle cell mutation in the district of Coruche/Portugal. *Human Genetics* 1989; 82: 255-58

10. VALENTINE WN et al: Chapt 73 in the *Metabolic Basis of Inherited Disease*, 5 th. ed. Stanbury JB et al, Eds New York, McGraw-Hill Book Company, 1983.
11. PIPARD MJ: Disorders of red cells: Lack of erythrocyte production. In: Lilleyman JS, Hann IM (eds). *Paediatric Haematology*. Churchill Livingstone New York 1992: 219-23
12. PIOMELLI S, LOEW T: Management of thalassaemia major (Cooley's anemia). *Hematology/Oncology Clinics of North America* 1991; 5; 3: 557-69.
13. GIARDINA PJ, HILGARTNER MW: Update on Thalassaemia. *Pediatrics in Review* 1992; 13; 2: 55-63
14. EVANS JPM: Disorders of red cells: Haemolysis. In: Lilleyman JS, Hann IM (eds). *Paediatric Haematology*. Churchill Livingstone New York 1992: 250-1
15. WARE RE, FILSTON HC: Surgical management of children with hemoglobinopathies. *Surgical Clinics of North America* 1992; 72; 6: 1223-35
16. SERJEANT GR: Recent advances in sickle cell disease. *Recent advances in Paediatrics* 1993; 10: 141-54
17. BROZOVIC M, STEPHENS A: Guidelines for the management of sickle cell disease (adopted in Vth Annual Meeting of the WHO Working Group on Haemoglobinopathies held in Sardinia, April 1989 (revised 1991))
18. GREEN ES, EVANS H, RICE-EVANS P, DAVIES MJ, SALAH N, RICE-EVANS C: The efficacy of monohydroxamates as free radical scavenging agents compared with di- and trihydroxamates. *Biochem Pharmacol* 1993; 45; 2: 357-66
19. CARNELLI V, TERZOLI S, FOSSATI G, GAREDDU G, PERRI M, PEDROTTI L, MIRRA N: New therapeutic trends in thalassaemia: oral chelating agents. *Pediatr Med Chir* 1992; 14; 3: 273-5
20. REFAIE FN, WONKE B, HOFFBRAND AV, WICKENS DG, NORTEY P, KONTOGHORGHES GJ: Efficacy and possible adverse effects of the oral iron chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxypyrid-4-one (L1) in thalassaemia major. *Blood* 1992; 80; 3: 593-9
21. KRUIH J, DEFER N, TICHONICKY L: Molecular and cellular action of butirate. *C R Seances Soc Biol Fil* 1992; 186: 12-25
22. LUCARELLI G, GALIMBERTI M, POLCHI P, ANGELUCCI E, BARONCIANI D, GIARDINI C, POLITI P, DURAZZI SMT, MURETTO P, ALBERTINI F: Bone marrow transplantation in patients with thalassaemia. *N Engl J Med* 1990; 322: 417-21
23. MERROUCHE Y, COMBARET V, NEGRIER S, PHILIP T, FAVROT M: Gene transfer and gene therapy. *Pediatric* 1992; 47; 2: 105-11
24. ÖNER R, ÖNER C, WILSON JB, TAMAGNINI GP, RIBEIRO MLS, HUISMAN THJ: Dominant β -thalassaemia trais in a Portuguese family is caused by a deletion of (G)TGGCTGGTGT(G) and an insertion of (G)GCAG(G) in codons 134, 135, 136 and 137 in the β -globin gene. *Br J Haematol* 1991; 79: 306-10
25. TAMAGNINI GP, GONÇALVES P, RIBEIRO MLS, KAEDA J, KÜTLAR F, BAYSAL E, HUISMAN THJ: β -thalassaemia mutations in the Portuguese; high frequencies of two alleles in restricted populations. *Hemoglobin* 1993; 17: 31-40