

Hemoglobina C em homozigose e interação com talassemia beta

Homozygous hemoglobin C and its interaction with beta thalassemia

Ivan L. Angulo¹

Sandra B. R. Picado²

A hemoglobina C (Hb C) é originária do oeste da África e é detectada por migração lenta na eletroforese alcalina em acetato de celulose. Consiste na mutação do gene da globina beta no códon 6 (GAG-AAG), resultando na substituição do sexto aminoácido da cadeia beta da hemoglobina humana, o ácido glutâmico, pelo aminoácido lisina. A cromatografia de alto desempenho (HPLC) separa completamente as frações C e A2, permitindo caracterizar a presença da interação com talassemia beta. Esta entidade (Hb CC, em homozigose) é considerada benigna em relação à doença falciforme, já que a falcização não faz parte de sua fisiopatologia. A raridade do diagnóstico C homozigoto e C talassemia beta nos pacientes portadores de hemoglobinopatias nos alertou para a necessidade de se conhecer melhor e estudar aspectos clínicos e hematológicos dos casos dessa mutação em homozigose e na interação com a talassemia beta no ambulatório de anemias do Centro Regional de Hematologia e Hemoterapia de Ribeirão Preto, SP, Brasil. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.

Palavras-chave: Hemoblobinopatias; hemoglobina C; talassemia beta.

Introdução

A hemoglobina C (Hb C) é originária do oeste da África (Burkina-Faso) e espalhou-se pelo mundo como a hemoglobina S. Consiste na mutação do gene da globina beta no códon 6 (GAG-AAG), resultando na substituição do sexto aminoácido da cadeia beta da hemoglobina humana, o ácido glutâmico, pelo aminoácido lisina. São descritos três haplótipos, CI, CII e CIII. A frequência destes polimorfismos sugere alguma vantagem seletiva para os portadores heterozigotos, como menor parasitemia por causa de *Malaria Falciparum*, mas não tão evidente como a conferida pela hemoglobina S.^{1,2,3,4}

A hemoglobina C foi detectada por causa da migração lenta na eletroforese alcalina em acetato de celulose, consequência da substituição dos aminoácidos, não se separando da fração A2 (Hb A2). Pode ser separada na eletroforese

ácida e na focalização isoeletrica. A cromatografia de alto desempenho (HPLC) separa completamente as frações das hemoglobinas C e A2, permitindo caracterizar a presença da interação com talassemia beta.⁵

Em soluções saturadas, ocorre a cristalização das moléculas, sendo que esses cristais podem ser encontrados nos eritrócitos do sangue periférico dos homozigotos, mas são raros nos pacientes com baço. Há grande aumento dos cristais intracelulares após esplenectomia. A hemoglobina fetal inibe a cristalização da hemoglobina C. A hemoglobina C tem a propriedade de alterar a troca de íons pela membrana da hemácia e alterar sua forma, adquirindo no esfregaço sanguíneo o aspecto de hemácias em alvo, além de microcitose, hipocromia e esferócitos. A hemoglobina anormal ativa a perda de potássio pelas células vermelhas, reduzindo sua vida média, que, apesar disso, é bem maior que a do eritrócito com hemoglobina S.^{1,6,7}

¹Assessor médico da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, SP.

²Pediatra hematologista da Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto, SP.

Centro Regional de Hematologia e Hemoterapia do Hospital das Clínicas da FMRP USP, Ribeirão Preto, SP e Secretaria Municipal da Saúde de Ribeirão Preto, SP.

Correspondência: Ivan de Lucena Angulo
Rua Tenente Catão Roxo, 2501 – Monte Alegre
14051-140 – Ribeirão Preto, SP – Brasil
Tel.: (+5516) 2101-9300, ramal 9515
E-mail: angulo@pegasus.fmrp.usp.br
Doi:

A afinidade da hemoglobina C pelo oxigênio está levemente reduzida. As mudanças em volume devido a alterações da pressão osmótica são discretas. A lise osmótica ocorre em valores do volume corpuscular médio (VCM) menores do que a célula normal, com hemoglobina A (Hb A), ou seja, há redução da fragilidade osmótica por causa do aumento da superfície com relação ao volume celular, sendo este reduzido por causa da desidratação e da elevação da concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM). Os eritrócitos maduros e os reticulócitos com hemoglobina C são mais densos que os normais. Há uma ligação muito forte da hemoglobina C com as proteínas da membrana do eritrócito, notadamente com a banda 3. Os eritrócitos com hemoglobina C são mais viscosos que os normais e menos deformáveis, podendo ocasionar aumento da resistência periférica. Apesar da presença de cristais intracelulares, a vaso-oclusão não é característica da doença, diferentemente da doença falciforme. Não há dados sugerindo lesões endoteliais na hemoglobinopatia C.¹

O traço C (heterozigoto A com C) ocorre em 2% dos negros americanos, e a doença por hemoglobina C (homozigotos) em 1/6.000.¹ Segundo o Programa Estadual de Triagem Neonatal para Doença Falciforme em Minas Gerais, em 2008 os portadores de traço C são 1,31%, com uma incidência de um para 76 nascimentos, CC ou C Beta⁰ 0,009% ou 1/11.543 e C Beta⁺ 0,001% (Prof. Dr. José Nélio Januario, comunicação pessoal). No Centro Regional de Hematologia e Hemoterapia em Ribeirão Preto, SP, em 480 pacientes com hemoglobinopatias, 12 são portadores de hemoglobina C em homozigose ou em interação com a talassemia beta. Clinicamente, o heterozigoto com hemoglobina normal do adulto (Hb AC) possui em torno de 42% da hemoglobina mutante. Não é anêmico, é assintomático, e o tempo de vida média dos eritrócitos é normal. O homozigoto, com aproximadamente 100% da hemoglobina mutante, pode apresentar anemia hemolítica de leve a moderada, esplenomegalia, muitas células em alvo, cristais de hemoglobina C, reticulocitose e baixo VCM. O tempo de vida dos eritrócitos é reduzido, assim como a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio. Pode haver traços de diseritropoese e certo grau de eritropoese ineficaz,⁸ assim como a interrupção da eritropoese por infecção pelo parvovírus B19.

Esta entidade é considerada benigna em relação à doença falciforme, já que a falcização não faz parte de sua fisiopatologia.¹ A expectativa de vida é normal e a esplenomegalia, frequente. A esplenectomia se acompanha de um maior número de eritrócitos circulantes contendo cristais e valores do hematócrito maiores. Rutura espontânea do baço pode raramente ocorrer. A interação da hemoglobina C com outras hemoglobinopatias é frequente, principalmente com a Hb S (Hb SC), e, mais raramente, com a talassemia beta (C Beta⁺ ou C Beta⁰). Na impossibilidade de dosagem de A2, a distinção do homozigoto C do C Beta⁰ pode ser feita sabendo-se que, neste último caso, os valores do hematócrito e da

hemoglobina são menores, e os da hemoglobina fetal e reticulócitos, maiores.¹ Talassemia alfa pode estar associada ao traço ou a homozigotos, e isso reduz a concentração da C, podendo causar confusão diagnóstica.^{9,10} Retinopatia e hematúria têm sido descritos no traço C.^{11,12} Poderá haver interação também com hemoglobina Lepore, talassemia delta-beta e persistência hereditária da Hb Fetal. A raridade do diagnóstico C homozigoto e C talassemia beta nos pacientes portadores de hemoglobinopatias nos alertou para a necessidade de se conhecer melhor e estudar aspectos clínicos e hematológicos dos casos dessa mutação em homozigose e na interação com a talassemia beta (HbCC e C β talassemia) no ambulatório de anemias do Centro Regional de Hematologia e Hemoterapia de Ribeirão Preto, SP.

Casuística e Método

Estudo retrospectivo transversal de 12 casos selecionados entre os 480 portadores de hemoglobinopatias atendidos no Centro Regional de Hematologia e Hemoterapia do Hospital das Clínicas da FMRP-USP de Ribeirão Preto, SP. Os achados hematológicos e clínicos foram obtidos dos prontuários médicos e do laboratório de hemoglobinopatias. O levantamento de dados clínicos e laboratoriais abrangeu todo o período de seguimento dos pacientes. Os diagnósticos foram confirmados por cromatografia (HPLC) utilizando-se o kit Beta Thalassemia Short Program em leitor Variant Express, Bio Oxford em cinco casos, três C Beta e dois CC, e nos demais foram considerados valores hematológicos e estudos familiares. Para comparação dos valores entre C Beta e CC, foi aplicado teste estatístico entre médias de dados não paramétricos, o teste de Mann-Whitney, utilizando-se o programa GraphPad Prism versão 5.0a *trial* para Mac, January 4, 2008, GraphPad Softwares, San Diego, CA, USA, obtido em <http://www.graphpad.com>, acessado em 24/01/2009, sendo considerado significativo valores de *p* bicaudado inferiores a 5%.

Resultados

Dos 12 casos, 7 são mulheres e as idades variaram entre um e 63 anos. Seis casos são de interação com talassemia beta (dois C β^+ e quatro C β^0) e seis de homozigose C (CC). Os dados laboratoriais constam das Tabelas 1, 2 e 3. Dois pacientes C β foram classificados como C β^+ devido à Hb A de 10% e valores elevados de Hb A2 (acima de 4,4%). As concentrações da hemoglobina Fetal (Hb F), Hb A2 e Hb C estão na Tabela 1. Houve diferença estatística (*p* 0,02) entre os valores da Hb A2 nos homozigotos (variação de 0,5 a 3,7%) e nos C (4,4 a 5,2%). Para os valores de Hb A, Hb F e Hb C β o valor de *p* foi não significativo. A morfologia hematológica não foi relatada em três casos, mas nos restantes mostrou anisocitose, microcitose e hipocromia em todos os casos, não havendo distinção entre CC e C β . Não encon-

tramos descrição das hemácias em alvo, características, e também não foram descritos esféricitos. Todos os pacientes apresentaram valores anormais do RDW (coeficiente de variação da anisocitose), variando de 15,2 a 24,5 nos CC e de 15 a 21,7 nos C β (Tabela 2). Os índices eritrocitários e reticulócitos também estão na Tabela 2. A reserva de ferro, avaliada pela ferritina sérica, variou nos CC de 17 a 660 ng/ml e nos pacientes C β de 40 a 426 ng/ml. O grau de hemólise, pela bilirrubina indireta, variou de 0,5 a 1,9 mg/L nos CC e de 0,8 a 2,0 nos C β ; pela dehidrogenase láctica (LDH), de 298 a 662 nos CC e de 209 a 518 UI/L nos C β (Tabela 3). Com relação a visceromegalias, em três pacientes a palpação abdominal ou

Tabela 1. Idade, sexo e frações da hemoglobina

	CC	C Beta	p
Número	6	6	-
Idade (anos)	1,3 - 63	1 - 44	0,81
Sexo masculino	4	1	0,24
Hb A %	0,5 - 3,7	1 - 10	0,40
Hb A2 %	2,1 - 3,6	4,4 - 5,2	0,02 (*)
Hb F %	1,3 - 2,3	3 - 10	0,15
Hb C %	89 - 100	62 - 95	0,05

(*) significante

Tabela 2. Dados hematológicos

	CC	C Beta	p
Hb g/dl	9,9 - 12,4	7,8 - 11,1	0,07
Ht %	29 - 38	26 - 38	0,46
VCM fl	62 - 79	61 - 66,8	0,03 (*)
HCM pg	19 - 29,7	17,3 - 22,0	0,03 (*)
RDW %	15,2 - 24,5	15 - 21,7	0,33
Reticulócitos %	1,7 - 5,4	2,8 - 5,5	0,45

(*) significante

Tabela 3. Dados de hemólise, função hepática e reserva de ferro

	CC	C Beta	p
TGO U/L	15 - 37	12 - 27	0,90
TGP U/L	6 - 22	10 - 26	0,67
Ferritina ng/ml	17 - 543	40 - 426	0,76
Bilirrubina indireta mg/dl	0,5 - 1,9	1,1 - 2,0	1,00
LDH U/L	298 - 662	209 - 518	0,12

Tabela 4. Achados clínicos

	CC	C Beta
Baço cm	1 - 17	1 - 5
Fígado cm	0 - 4	0 - 3
Colelitíase	1 / 6	2 / 6, 1 colecistectomia
Hipertensão pulmonar	Não	leve (1)
Outros	Hipotireoidismo (1) Hipodesenvolvimento (1)	Não

estudos por ultrassom foram normais. Nos restantes, foi encontrado hepatomegalia variando de 3 cm a 4 cm do rebordo costal direito em três pacientes (dois CC e um C β). As maiores alterações foram com o baço, pois, excetuando-se os três pacientes citados anteriormente, pacientes CC tiveram esplenomegalia de leve a acentuada (de 1 cm a 17 cm do rebordo costal esquerdo). Os pacientes C β tiveram esplenomegalia menor, variando de 1 cm a 5 cm. Apenas três pacientes apresentaram litíase das vias biliares ao ultrassom abdominal, um CC e dois C β , um destes colecistectomizado. O ecocardiograma, realizado em sete pacientes, não evidenciou anormalidades, exceto um paciente C β com hipertensão pulmonar leve (pressão sistólica estimada em 35 mmHg na artéria pulmonar). Não foram encontrados tumores extramedulares de tecido hematopoético. Em dois pacientes CC, encontramos hipodesenvolvimento físico em um e hipotireoidismo no outro (Tabela 4).

Discussão

Os achados hematológicos da doença por Hb C e C β talassemia originam-se de vários trabalhos publicados entre 1967 e 1985.¹ A maioria das descrições é originária da África^{13,14,15} e a prevalência tem sido influenciada, recentemente, por fluxos migratórios internos.¹⁶ Uma comparação dos dados hematológicos e da esplenomegalia entre portadores homozigotos da Hb C e C β de dados da literatura abrangendo vários trabalhos publicados entre 1967 e 1986, citado em Nagel e Steiberg,¹ apresentou valores da hemoglobina e hematócrito entre 10 g/dl a 15 g/dl e 30% a 45% respectivamente, VCM 60 a 90 fl, Hb Fetal 2% a 4%, reticulócitos 2% a 7% e moderada esplenomegalia para o homozigoto. Já na interação C β , os valores de hemoglobina/hematócrito variaram de 8 g/dl a 12 g/dl e 25% a 35%, VCM 55 fl a 70 fl, Hb F de 3% a 10%, reticulócitos de 5% a 20% e esplenomegalia acentuada.¹ Os pacientes aqui descritos apresentam valores menores para os CC, mas para os C β , excetuando-se reticulocitose e tamanho do baço, bem semelhantes aos descritos na literatura (Tabela 2). Vários fatores podem influir nessas discrepâncias entre os achados clínicos em diferentes populações, por exemplo, a presença de alfa talassemia, não pesquisada, até a reserva de ferro. Apenas um paciente CC apresentou ferritina baixa (17 ng/L) compatível com carência de ferro concomitante. O grau de hemólise, medido pela LDH, foi discreto, não havendo diferença estatística entre os pacientes homozigotos e com interação com a talassemia beta. Chama a atenção o número elevado de reticulócitos e a grande esplenomegalia nos pacientes C β descritos na literatura, diferentemente dos aqui descritos.

A análise estatística dos dados hematológicos evidenciou diferenças significantes ($p < 0,05$) apenas nos valores da Hb A2, do VCM e do HCM para a distinção entre CC e C β . Isto é, o componente talassêmico das mutações brasilei-

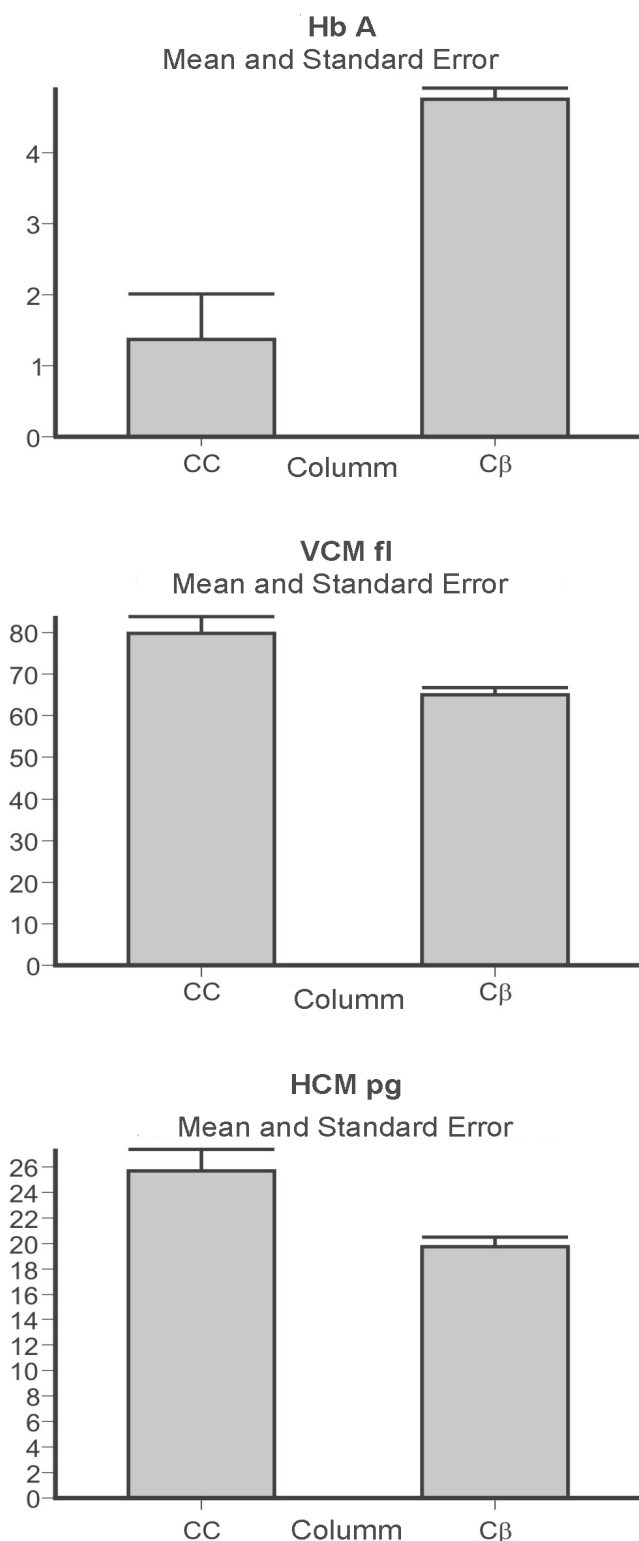


Figura 1. Histograma de média e desvio padrão das análises de Hb a 2, VCM e HCM entre CC e C beta. Valores hematológicos nos quais se obteve significância estatística

ras da nossa região manifesta-se com forte redução da HCM, variando de 19 fl a 29,7 fl e do volume dos eritrócitos, com variação de 61 fl a 79 fl. A repercussão na quantidade de Hb C é pouco significativa, assim como nos valores da hemoglobina. O grau de hemólise é discreto e não deu ensejo a complicações descritas em outras doenças, como a hipertensão pulmonar,¹⁷ assim como o acúmulo de ferro não parece constituir problema, mesmo nos pacientes mais idosos.

Do ponto de vista pediátrico, durante a fase de esclarecimento diagnóstico, e mesmo na confirmação da presença da forma heterozigota, a presença da hemoglobina C gera ansiedade nos pais das crianças portadoras. Este fato merece esclarecimento quanto à sua benignidade, ao lado de seguimento clínico da criança homozigota ou com interação, pela realização de exames hematológicos anuais, e ultrassonografia abdominal para avaliação de visceromegalias e litíase biliar. A orientação alimentar com moderação nos alimentos ricos em ferro garante que a criança não desenvolva anemia carencial concomitante, atenuando a microcitose e hipocromia, e evitando o acúmulo de ferro, que parece não ser exagerado. Os pacientes devem receber ácido fólico no seu tratamento.

Nos adultos, monitoramento da pressão pulmonar pelo ecocardiograma, do acúmulo de ferro pela ferritina, da hemólise pela LDH e do tamanho esplênico e da colelitíase pelo ultrassom abdominal periódicos. A descrição dos achados morfológicos do sangue periférico deve ser cuidadosa, anotando-se a presença de alterações sugestivas, o que muito contribui para a segurança diagnóstica.^{1,2}

A hemoglobinopatia C homozigota ou em interação com a talassemia beta é entidade benigna, com leve morbidade associada à anemia crônica, visceromegalia e colelitíase. A hemólise é leve, sendo leve o grau de anemia e baixa a contagem de reticulócitos. Alguns pacientes apresentaram aumento discreto da hemoglobina Fetal. Problema diagnóstico é a dificuldade de dosagem da HbA2 na eletroforese alcalina, devido à coincidência da migração com a HbC, mas podemos obter informações pela análise dos índices eritrocitários, o VCM e o HCM. O diagnóstico definitivo é fácil e rapidamente obtido pela HPLC.⁵

Abstract

Hemoglobin C (Hb C) originated in the west of Africa and is detected by alkaline electrophoresis by slow migration in cellulose acetate. It consists of a mutation of the beta globin gene in codon 6 (GAG-AAG), resulting in a substitution of glutamic acid, the sixth amino acid of the beta string of the human hemoglobin, for lysine. High performance chromatography (HPLC) separates the C and A2 fractions completely, allowing the characterization of the presence of interactions with thalassemia beta. This entity (Hb CC) is considered benign in respect to sickle cell disease, as sickle cells are not part of its physiopathology. The rarity of the diagnosis of homozygous C and beta thalassemia in patients with hemoglobinopathies showed the necessity of studying clinical and

hematologic aspects of the cases of this mutation in homozygosis carriers and the interaction with beta thalassemia in the anemias clinic of the Regional Blood Center in Ribeirao Preto, SP, Brazil. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.

Key words: Hemoglobin disorders; hemoglobin C; thalassemia beta.

Referências Bibliográficas

- Nagel RL, Steinberg MH: Hemoglobin SC Disease and HbC Disorders. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL (ed.). Disorders of Hemoglobin. Genetic, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge University Press, New York, 2001, pp 756-766.
- Lukens JN: Hemoglobinopathies S,C,D,E and O and associated diseases. IN: Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN (ed.). In Wintrobe's Clinical Hematology, Lea & Febiger, Philadelphia, 1993, pp 1085-1086.
- Nagel R L: Malaria and HbC trait and HbC Disease. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL (ed.). Disorders of Hemoglobin. Genetic, Pathophysiology, and Clinical Management. Cambridge University Press, New York, 2001 pp 840-842.
- Agarwal A, Guindo A, Cissoko Y, Taylor JG, Coulibaly D, Koné A, et al. Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. Blood. 2000;96(7):2358-63.
- Wild B, Bain B. Investigation of abnormal haemoglobins and thalassaemia. In Dacie Lewis. Practical Haematology. 2006, Churchill Livingstone Elsevier, Philadelphia, PP. 271-310.
- Hirsch RE, Rybicki AC, Fataliev NA, Lin MJ, Friedman JM, Nagel RL. A potential determinant of enhanced crystallization of Hbc: spectroscopic and functional evidence of an alteration in the central cavity of oxyHbC. Br J Haematol. 1997;98 (3): 583-8.
- Araújo JT, Batissoco AC, Bodemeier L. "In vivo" and "in vitro" demonstration of hemoglobin C crystals in non-splenectomized patients. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1999;41(4):235-8.
- Hoyer JD, Fairbanks VF. Intrathoracic extramedullary hematopoietic tumor in hemoglobin C disease. Arch Pathol Lab Med. 1997;121(4):355-6.
- Giordano PC, Hartevelde CL, Michiels JJ, Terpstra W, Batelaan D, van Delft P, et al. Atypical HbH disease in a Surinamese patient resulting from a combination of the -SEA and -alpha 3.7 deletions with HbC heterozygosity. Br J Haematol. 1997;96(4):801-5.
- Silva NM, Soledade CS, Costa FF, Sonati MF. Alpha-thalassemia does not significantly contribute to the low MCV level of Hb C trait. Hemoglobin. 2002;26(3):305-9.
- Roy MS, Rodgers GP, Schechter A. Retinopathy in haemoglobin C trait. Eye. 1997;11 (Pt 3):432-3.
- Sakarcan A, Stallworth J. Urea resolves gross hematuria in a 15 year old with hemoglobin C trait. Pediatr Nephrol. 2001;16(2):145-7.
- Hafsia R, Marrakchi O, Ben Salah N, Gouider E, Ben Lakhal R, Jeddi R, et al. Hemoglobin C disease: report of 16 Tunisian cases. Tunis Med. 2007;85(3):209-11.
- Usanga EA, Andy JJ, Ekanem AD, Udoh EA, Udoh AE. Haemoglobin C gene in south eastern Nigeria. East Afr Med J. 1996; 73 (9):566-7.
- Bruyneel M, De Caluwé JP, des Grottes JM, Collart F. Hemoglobinopathy C and splenomegaly in an Ivory Coast patient. Value of splenectomy. Rev Med Brux. 2003;24(2):105-7.
- Simpore J, Pignatelli S, Barlati S, Musumeci S. Modification in the frequency of Hb C and Hb S in Burkina Faso: an influence of migratory fluxes and improvement of patient health care. Hemoglobin. 2002;26(2):113-20.
- Barnett CF, Hsue PY, Machado RF. Pulmonary hypertension: an increasingly recognized complication of hereditary hemolytic anemias and HIV infection. JAMA. 2008;299(3):324-31.

Suporte Financeiro: Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, SP

Avaliação: Editor e dois revisores externos

Recebido: 29/01/2009

Aceito após modificações: 22/02/2009