

TALASSEMIA E HANSENIASE

Antonio Sérgio RAMALHO¹
Walter PINTO JÚNIOR²
Luis Alberto MAGNA³
Bernardo BEIGUELMAN⁴

RESUMO — A talassemia β foi investigada em 165 brasileiros descendentes não miscigenados de italianos, 80 dos quais eram doentes de hanseníase, da forma virchowiana, e 85 estudantes universitários (grupo controle). A freqüência da talassemia foi de 6,25% entre os hansenianos e de 5,88% entre os estudantes. Apesar da similaridade da distribuição geográfica tanto da hanseníase quanto do gene da talassemia β em algumas regiões do globo, sobretudo da Ásia, a freqüência de indivíduos com o estigma talassêmico observada nas amostras analisadas não apoia a hipótese de que a hanseníase possa ter contribuído para manter as altas freqüências desse alelo, por intermédio da seleção a favor dos talassêmicos heterozigotos.

Palavras chave: Talassemia β . Hanseníase. Hemoglobinas anormais.

1 INTRODUÇÃO

A alta prevalência de portadores do gene da talassemia β em algumas populações humanas, a despeito do seu alto coeficiente seletivo, evidencia a existência de mecanismos homeostáticos que mantêm o polimorfismo dessa hemoglobinopatia. De fato, em algumas populações mediterrâneas, mormente italianas e gregas, a freqüência de talassêmicos heterozigotos atinge valores bastante expressivos, da ordem de 20%^{3, 15}. Como boa proporção desses indivíduos são anêmicos, a talassemia chega a constituir um problema de saúde pública nesses países.

Haldane⁷, verificando a semelhança das distribuições geográficas da talassemia e da malária causada pelo *Plasmodium falciparum*, sugeriu a hipótese de que os heterozigotos da talassemia teriam vantagem seletiva em relação aos normais, no que diz respeito a esse tipo de malária. Assim sendo, enquanto os homozigotos do gene da talassemia morreriam em virtude da própria doença, os heterozigotos desse gene seriam menos selecionados pela malária que os homozigotos normais.

(1) Professor Livre Docente, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas. C.P. 1170 CEP 13100 — Campinas. S.P., Brasil.

(2) Professor Adjunto, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil.

(3) Professor Assistente, Departamento de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, SP, Brasil.

(4) Professor Titular, Departamento de Genética da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de de Campinas, SP, Brasil.

Essa hipótese, posteriormente adaptada para explicar o polimorfismo da hemoglobina S na África^{1, 2} e da deficiência de G6-PD em diversas populações¹³, passou a ser um exemplo clássico de seleção a favor de heterozigotos e de hemizigotos. Além disso, ela foi reforçada, no que diz respeito à hemoglobina S, por algumas observações de ordem prática feitas em áreas hiperendêmicas do *Plasmodium falciparum*^{1, 18}.

No entanto, apesar da popularidade da hipótese de Haldane⁷, nunca foi descartada a possibilidade de atuação de outros mecanismos muito potentes, além da seleção pela malária, mantendo o polimorfismo dos genes acima citados. Nesse sentido, a vantagem seletiva dos heterozigotos frente a alguma outra doença infecciosa endêmica com alta mortalidade sempre foi uma das hipóteses mais atraentes¹².

A distribuição geográfica do gene da talassemia p não coincide, em algumas regiões do globo, sobretudo da Ásia, apenas com áreas malarígenas, mas também, com a de antigas zonas hiperendêmicas de hanseníase. Assim, passava a ser interessante investigar se a hanseníase não poderia, eventualmente, contribuir para a manutenção do polimorfismo desse gene.

Considerando que o Estado de São Paulo fornece condições particularmente propícias para tal investigação, dada a importância dos imigrantes italianos na composição étnica da sua população e a ocorrência de hanseníase endêmica, os autores se propuseram à realização dessa empreitada, examinando, hematológica e bioquimicamente, uma amostra de hansenianos do Hospital de Dermatologia Sanitária "Francisco Ribeiro Arantes" e uma amostra controle, composta por estudante da Universidade Estadual de Campinas.

2 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Foram selecionados, mediante entrevista, 80 hansenianos adultos não consangüíneos (50 homens e 30 mulheres) que eram, com certeza, descendentes não miscigenados de italianos. A totalidade dos pacientes examinados apresentava hanseníase da forma virchowiana. A amostra controle foi composta por 85 estudantes universitários (60 homens e 25 mulheres), igualmente descendentes não miscigenados de italianos.

A pesquisa foi realizada em duas etapas, na primeira das quais se fez uma triagem dos casos eventualmente talassêmicos. Essa fase inicial foi programada de modo a obedecer aos aspectos éticos e sociais estabelecidos para a seleção de portadores de doenças hereditárias⁹ e baseada em quatro critérios hematológicos independentes para a triagem de talassêmicos^{11, 14}. Assim, investigou-se a alteração da morfologia das hemácias, o aumento da resistência globular osmótica, a diminuição da hemoglobina corpuscular média (HbCM) e a diminuição do volume corpuscular médio das hemácias (VCM).

De cada indivíduo examinado foram retirados 5 ml de sangue venoso, usando-se como anticoagulante o sal dipotássico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), na concentração recomendada por Dacie e Lewis⁶, ou seja, 1 mg/ml de sangue. Os esfregaços sangüíneos foram corados pela técnica de Leishman para o exame morfológico da série vermelha, a fim de averiguar a presença ou ausência de microcitose, anisocitose, picilicose, hipocromia, alcocitose e ponteados basófilos, sendo que qualquer dessas alterações, em qualquer grau, era considerada como indicação para comprovação posterior de eventual talassemia.

A concentração da hemoglobina em g/dl e o número de hemácias por mm³ de sangue foram determinados eletronicamente, usando-se o sistema "Coulter Counter". Todos os casos com HbCM menor que 27 pg foram triados para exame posterior. O valor do hematócrito foi determinado pelo micrométodo, sendo todos os indivíduos com VCM menor que 82 p.3 selecionados para exame posterior. A resistência globular osmótica foi testada pelo método de triagem padronizada por Malamos e colaboradores ¹¹, usando-se uma solução de cloreto de sódio a 0,4%.

Todos os indivíduos triados por intermédio desses critérios foram reinvestigados, a fim de que se pudessem medir os seus níveis de hemoglobina A₂ e fetal, partindo-se de uma solução de hemoglobinas a 10% a.

A determinação da hemoglobina A₂ foi feita por eletroforese em fitas de acetato de celulose (Sartorius Membranfilter GHBH, Alemanha), utilizando-se o sistema "Boskamp" (Boskamp Geratebau KG, Alemanha) de eletroforese e o tampão tris-glicina pH 9,1 (14,1 g de tris-hidroximetil-aminometano e 22,6 g de glicina em 1.500 ml de água bidestilada). A corrida eletroforética foi realizada sob a diferença de potencial de 250 volts durante uma hora, sendo as fitas coradas durante 10 minutos com amido negro 10 B a 0,5% em solução de metanol (45%) ácido acético glacial (10%) em água bidestilada. A coloração de fundo foi retirada por lavagens sucessivas com solução descorante de metanol (45%) ácido acético glacial (10%) em água bidestilada. O aumento da fração hemoglobínica A₂ foi apreciado qualitativamente mediante comparação com padrões normais e a sua quantificação foi feita através de densitometria, utilizando-se um densitômetro modelo "Quick" da "Atago" (E.E.UU) e pela

eluição das frações A1 e A2, não coradas, em água destilada.

A dosagem da hemoglobina fetal foi feita com o auxílio da técnica de Betke et al. ⁴, a qual nada mais é do que uma modificação mais sensível da técnica clássica de Singer et al. ¹⁶.

Nessa segunda etapa do trabalho foram adotados os critérios diagnósticos estabelecidos por Malamos et al. ¹¹ e por Weatherall ²⁰ para o traço talassêmico β . Assim sendo, o diagnóstico de talassemia foi dado com base nas alterações hematológicas encontradas na fase de triagem, juntamente com o aumento percentual da hemoglobina A₂ (Hb A₂ > 3%), acompanhado ou não do aumento percentual da hemoglobina F.

3 RESULTADOS

Entre os hansenianos foram encontrados cinco portadores do traço talassêmico β (4 do sexo masculino e 1 do sexo feminino), o que permite estimar uma prevalência de 6,25% dessa alteração genética nesse grupo. Entre os estudantes, o número de talassêmicos heterozigotos diagnosticados também foi 5 (3 homens e 2 mulheres), o que permite estimar o traço talassêmico nesse grupo em 5,88% e constatar ausência de diferença significativa da prevalência de talassemia entre os pacientes e no grupo-controle.

Não foram observadas, por outro lado, diferenças significativas entre as manifestações talassêmicas dos hansenianos e aquelas verificadas entre os estudantes.

Visto que o principal diagnóstico diferencial do traço talassêmico β é a anemia ferropriva, a fase de triagem mostrou-se, como seria de esperar, mais trabalhosa entre os pacientes de hanseníase do que entre os universitários

porque nos primeiros a frequência de anêmicos é, como se sabe, bastante alta. No entanto, os casos de anemia ferropriva foram facilmente descartados pelos exames bioquímicos, uma vez que ela determina diminuição dos níveis de hemoglobina A₂, ao passo que, na talassemia /3 heterozigótica existe, obrigatoriamente, elevação dos níveis de hemoglobina A₂^{17, 19}.

4 DISCUSSÃO

Considerando que o gene da talassemia /3 pode determinar, direta ou indiretamente, outras alterações metabólicas diferentes daquelas relacionadas com a síntese de cadeias hemoglobínicas^{5, 8, 10, 20, 21}, era bastante plausível admitir a hipótese de que a talassemia pudesse, eventualmente, conferir algum efeito protetor contra a infecção pelo *Mycobacterium leprae*. Essa hipótese era reforçada, como se comentou na parte introdutória deste trabalho, pelo fato de a distribuição geográfica do

gene da talassemia β realmente coincidir, em algumas regiões asiáticas, com a de antigas zonas de hanseníase endêmica.

Os resultados preliminares do estudo da interação entre a talassemia e a hanseníase obtidos no presente trabalho não favoreceram, no entanto, a hipótese acima formulada, desencorajando maiores investigações sobre o assunto. Isso porque, de acordo com essa hipótese, dever-se-ia observar menor frequência de indivíduos com o estigma talassêmico entre os doentes de hanseníase, o que não ocorreu. De fato, a frequência de talassêmicos na amostra de hansenianos (6,25% não diferiu significativamente daquela observada entre os estudantes, igualmente descendentes não miscigenados de italianos (5,88%). Além disso, as manifestações talassêmicas, hematológicas e bioquímicas, dos cinco hansenianos detectados como portadores do gene da talassemia /3 mostraram-se muito semelhantes àquelas observadas entre os universitários.

SUMMARY — The β thalassaemia trait was investigated among 165 Brazilians who were unmixed Italian descendants (80 Virchowian patients and 85 normal controls, composed of university students). The frequency of the p-thalassaemia trait was 6.25% among the Virchowian patients and 5.88% in the control group. In spite of the similar geographical distribution of both hanseniasis and the gene for p-thalassaemia in Asia, the present data does not support the hypothesis that hanseniasis might have contributed to maintain high prevalence of this allele by selection favouring fl-thalassaemia trait.

Key words: p-thalassaemia. Hanseniasis. Abnormal hemoglobins.

REFERENCIAS

- 1 ALLISON, A.C. The distribution of the sickle-cell trait in east Africa and elsewhere, and its apparent relationship to the incidence of subtertian malaria. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 48(4):312-318, 1954.
- 2 ALLISON, A.C. Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Brit. Med. J.*, 1 (4857) :290-294, 1954.
- 3 BARNICOT, N.A.; ALLISON, A.C.; BLUMBERG, B.S.; DELIYANNIS, G.; KRIMBAS, C.; BALLAS, A. Haemoglobin types in Greek populations. *Ann. Hum. Genet.*, 26:229-236, 1963.
- 4 BETKE, K.; MARTI, H.R.; SCHLICHT, I. Estimation of small percentages of foetal haemoglobin. *Nature, London*, 184(4702):1877-1878, 1959.

- 5 CROSBY, W.H. & CONRAD, M.E. Iron balance in thalassemia minor. A preliminary report. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 119:616-623, 1964.
- 6 DACIE, J.V. & LEWIS, S.M. *Hematologia practica*. 2. ed. Barcelona, Toray, 1970.
- 7 HALDANE, J.B.S. Disease and evolution. *Ric. Sei.*, 19:68, 1949.
- 8 HEINRICH, H.C.; GABBE, E.E.; OPPITZ, K.H. Absorption of inorganic and food iron in children with heterozygous and homozygous betathalassemia. *Z. Kinderheilkd*, 115: 1-22, 1973.
- 9 LAPPÉ, M.; GUSTAFSON, J.M.; ROBLIN, R. Ethical and social issues in screening for genetic disease. *New Engl. J. Med.*, 286(21) 1129-1132, 1972.
- 10 LIE-INJO, L.E.; LOPEZ, C.G.; HART, P.L. Erythrocyte carbonic anhydrase activity in health and disease. *Clin. Chim. Acta*, 29:541-550, 1970.
- 11 MALAMOS, B.; FESSAS, P.; STAMATOYANNOPOULOS, G. Types of thalassaemia-trait carriers as revealed by a study of their incidence in Greece. *Brit. J. Haemat.*, 8(1):5-14, 1962.
- 12 MOTULSKY, A.G. Hereditary red cell traits and malaria. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 13(1) 147-158, 1964.
- 13 MOTULSKY, A.G. Metabolic polymorphisms and the role of infectious diseases in human evolution. *Hum. Biol.*, 32(1):28-62, 1960.
- 14 PEARSON, H.A.; O'BRIEN, R.T.; McINTOSH, S. Screening for thalassemia trait by electronic measurement of mean corpuscular volume. *New Engl. J. Med.*, 288(7):351-353, 1973.
- 15 SILVESTRONI, E. & BIANCO, I. The distribution of microcythaemias (or thalassemsias). In: JON%IS, J.H.P. & DELAFRESNAY, J.F., ed. *Abnormal haemoglobin: a symposium*. Oxford, Blackwell, 1959.
- 16 SINGER, K.; AMOZ, M.D.; CHERNOFF, M.D.; SINGER, L.M.S. Studies on abnormal haemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali desnaturation. *Blood*, 6(5): 413-428, 1951.
- 17 STEINER, J.; MARTI, H.R.; DEAN, D. Decreased hemoglobin Aa concentration in iron deficiency anemia. *Acta Haemat.*, 45:77-81, 1971.
- 18 VANDEPITTE, J. & DELAISSE, J. Sicblémie et paludisme. Aperçu du problème et contribution personnelle. *Ann. Soc. Beige Méd. Trop.*, 87(5): 703-735, 1957.
- 19 WASI, P.; DISTHASONGCHAN, P.; NA-NAKORN, S. The effect of iron deficiency on the levels of hemoglobins A₂ and E. *J. Lab. Clin. Méd.*, 71(1):85-91, 1968.
- 20 WEATHERALL, D.J. *Los síndromes talassémicos*. Barcelona, Toray, 1967.
- 21 WEHINGER, H. Untersuchungen über die Erythrocyten-Carboanhydrasen bei pathologischen Zuständen in Kindesalten. *Z. Kinderheilkd*, 114:163-174, 1973.