

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL – UFMS
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E
BIOLOGIA MOLECULAR – PMBqBM

GABRIELA ALVES BERNARDINO

**PREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE
HEMOGLOBINOPATIAS NOS DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCENTRO DO MARANHÃO**

CAMPO GRANDE – MS
JULHO-2025

GABRIELA ALVES BERNARDINO

**PREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE
HEMOGLOBINOPATIAS NOS DOADORES DE SANGUE DO
HEMOCENTRO DO MARANHÃO**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular – PMBqBM – SBBq, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito final para a obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Édis Belini Junior.

TERMO DE APROVAÇÃO

GABRIELA ALVES BERNARDINO

**PREVALÊNCIA E CARACTERIZAÇÃO DE HEMOGLOBINOPATIAS NOS
DOADORES DE SANGUE DO HEMOCENTRO DO MARANHÃO**

Dissertação/tese apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular – PMBqBM – SBBq, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para a obtenção do título de Mestre/Doutor em Ciências (Bioquímica e Biologia Molecular).

21 de Julho 2025

Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a. Claudia Regina Bonini Domingos
Universidade Estadual Paulista (UNESP)

Prof.^a Dr.^a. Renata Trentin Perdomo
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Prof. Dr. Édis Belini Junior
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter segurado a minha mão, iluminado os meus pensamentos e por ter me dado energia e forças.

Ao meu orientador Prof. Dr. Édis Belini Junior, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação à pesquisa das hemoglobinopatias no Brasil.

Ao meu professor de hematologia Dr. Raimundo Antônio Gomes Oliveira, a quem aprendi a admirar desde os tempos de graduação. Sua dedicação e ensinamentos foram de fundamental importância para o meu crescimento profissional.

Aos colegas do Laboratório de Hematologia do Hemocentro do Maranhão, em especial, Solange Eugenio, Joanne Adler, Marinelze Maciel, Vanja Raposo, Ana Lucia Serpa e Nelson Luzia, por todos os ensinamentos recebidos diante da minha inexperiência profissional

Aos colegas do Laboratório de Análises Clínicas do Materno Infantil do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão, em especial, Eveline Rabelo, Erinalda Nascimento, Eurismar Fernandes, Francisco Maia, Huldo Ferreira, Franselmo Oliveira, Maria Luzia Ferreira, Gilnney Verde, Clairton Lima, Raimundo Nonato Silva, Juvanci Moreno, Claudia Lustosa, Rafael Caldas, David e Kamila, por sempre segurarem a barra durante alguns imprevistos devido as atividades do mestrado.

Às minhas amigas farmacêuticas Thaiana Dantas, Elda Noronha, Nilma de Jesus, Cláudia Farah, Ingrid Carneiro, por desde o início compartilharem ensinamentos que foram muito além da hematologia, mas também conselhos de como proceder em situações difíceis.

Aos meus amigos de graduação, Suelen Serra, André Felipe, Felipe Fonteles, Alzirene de Jesus, Laís Couto, Ivana Leticia e Flávio Soares por provarmos que na faculdade podemos fazer amigos e que no final, nem sempre cada um vai para um lado.

Aos meus amigos do Colégio O Bom Pastor: Luiza, Pedro Henrique e Sodré, pelos 20 anos de amizade.

Ao colega farmacêutico e médico, João Gabriel Gomes Araújo, por ter provado ser um grande amigo na reta final desse mestrado.

À minha família, meu porto seguro, meus maiores incentivadores do caminho do conhecimento e crescimento profissional: meus pais Rodrigo de Brito Bernardino e Euline Alves Bernardino.

Aos meu companheiro de mestrado, Luís Antonio Júnior e todos os membros do Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM/UFMS), o meu sincero agradecimento por terem me ajudado a tocar esse projeto, apesar da distância entre Maranhão e Mato Grosso do Sul.

À Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular (LGBM/UFMS) e ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular (PMBqBM-UFMS), obrigado pela estrutura, suporte técnico e aprendizado que foram fundamentais para a realização desta pesquisa.

“Nunca seja tão gentil que você se esqueça de ser inteligente, nunca seja tão inteligente que você se esqueça de ser gentil.”

Taylor Swift

RESUMO

As hemoglobinopatias constituem o grupo mais prevalente de doenças monogênicas no mundo e representam um relevante problema de saúde pública no Brasil, especialmente nas regiões Norte e Nordeste, onde a contribuição da ancestralidade africana é marcante. Este estudo teve como objetivo estimar a prevalência e caracterizar qualitativa e quantitativamente as hemoglobinas variantes em doadores de sangue atendidos pela hemorrede pública do Maranhão ao longo do ano de 2023. Foram analisadas 88.064 amostras únicas por eletroforese de hemoglobinas (ELH), cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e, em casos selecionados, por técnicas de biologia molecular. A prevalência global de hemoglobinopatias foi de 4,09%, com destaque para o traço falciforme (Hb AS, 3,28%), seguido por Hb AC (0,59%) e β -talassemia (0,08%). Foram também identificadas 36 amostras com Hb Korle-Bu, incluindo um caso em homozigose, além de variantes menos frequentes, como Hb D-Los Angeles, Hb Camperdown, Hb G-Philadelphia, Hb A2', Hb Hope e Hb O-Arab. Ao todo, 18 casos apresentaram coerância entre Hb S e deleções alfa-talassêmicas. A análise estatística revelou associação significativa entre hemonúcleo e fenótipo ($p < 0,05$), com resíduos ajustados indicando maior concentração de variantes nos municípios de Codó, Caxias e São Luís. A aplicação de métodos moleculares foi fundamental para confirmar variantes raras, esclarecer combinações incomuns e apoiar a reclassificação de fenótipos com sobreposição eletroforética e cromatográfica. Esses achados reforçam a importância de uma abordagem diagnóstica integrada, na qual a biologia molecular atua como ferramenta complementar à triagem fenotípica. Os dados obtidos contribuem para a segurança transfusional, a vigilância epidemiológica e a formulação de políticas públicas adaptadas à realidade genética da população maranhense, marcada por ampla heterogeneidade e ancestralidade diversa.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias; Doadores de sangue; HPLC; Eletroforese de hemoglobina; Diagnóstico molecular.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are the most prevalent group of monogenic diseases worldwide and represent a significant public health concern in Brazil, particularly in the North and Northeast regions, where African ancestry has a strong influence. This study aimed to estimate the prevalence and to qualitatively and quantitatively characterize hemoglobin variants in blood donors attended by the public blood transfusion network of Maranhão throughout the year 2023. A total of 88,064 unique samples were analyzed using hemoglobin electrophoresis (ELH), high-performance liquid chromatography (HPLC), and, in selected cases, molecular biology techniques. The overall prevalence of hemoglobinopathies was 4.09%, with the sickle cell trait (Hb AS, 3.28%) being the most common, followed by Hb AC (0.59%) and β -thalassemia (0.08%). Additionally, 36 samples with Hb Korle-Bu were identified, including one homozygous case, along with less frequent variants such as Hb D-Los Angeles, Hb Camperdown, Hb G-Philadelphia, Hb A2', Hb Hope, and Hb O-Arab. A total of 18 cases showed coherence between Hb S and alpha-thalassemia deletions. Statistical analysis revealed a significant association between blood center and phenotype ($p < 0.05$), with adjusted residuals indicating higher concentrations of variants in the municipalities of Codó, Caxias, and São Luís. The application of molecular methods was essential to confirm rare variants, clarify uncommon combinations, and support the reclassification of phenotypes with overlapping electrophoretic and chromatographic profiles. These findings highlight the importance of an integrated diagnostic approach, in which molecular biology serves as a complementary tool to phenotypic screening. The results contribute to transfusion safety, epidemiological surveillance, and the development of public health policies tailored to the genetic landscape of the Maranhão population, characterized by high heterogeneity and diverse ancestry.

Keywords: Hemoglobinopathies; Blood donors; HPLC; Hemoglobin electrophoresis; Molecular diagnosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação da estrutura quaternária da hemoglobina.

Figura 2. Representação diagramática dos locais e taxas de síntese de diferentes cadeias de globina nos períodos embrionário e fetal e durante a infância.

Figura 3. Representação da Família de genes do tipo alfa (localização 16p13.3) e a Família de genes do tipo beta (localização 11p15.5).

Figura 4. Mapa temático das regiões de saúde de Maranhão.

Figura 5. Cromatogramas representativos de variantes raras de hemoglobina detectadas por HPLC em doadores de sangue da hemorrede pública do Maranhão.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1. Documento de aprovação do Comitê de Ética da UFMS com justificativa para dispensa do TCLE, conforme parecer nº 6.782.645.

APÊNDICE 2. Fluxograma do protocolo diagnóstico para investigação de hemoglobinas variantes a partir de HPLC.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLA

APAE	Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais
CD	Códon
CO ₂	Dióxido de Carbono
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ELH	Eletroforese
EDTA	Ácido Etilenediaminotetracético
Fe ²⁺	Ferro em estado de oxidação +2 (ferroso)
Hb	Hemoglobina
Hb A	Hemoglobina A (principal hemoglobina do adulto)
Hb A ₂	Hemoglobina A ₂ (com cadeias $\alpha_2\delta_2$)
Hb F	Hemoglobina Fetal (com cadeias $\alpha_2\gamma_2$)
Hb FSC	Heterozigose Composta para Hemoglobina S e C
Hb FSS	Anemia Falciforme (Homozigótica)
<i>HBA</i>	Gene da cadeia α da globina
<i>HBA1</i>	Gene da cadeia alfa 1 da hemoglobina
<i>HBA2</i>	Gene da cadeia alfa 2 da hemoglobina
<i>HBB</i>	Gene da cadeia beta da hemoglobina
Hb	Hemoglobina C
<i>HBD</i>	Gene da cadeia delta da hemoglobina
Hb D	Hemoglobina D
<i>HBE1</i>	Gene da cadeia épsilon da hemoglobina
<i>HBG1</i>	Gene da cadeia gama A da hemoglobina
<i>HBG2</i>	Gene da cadeia gama G da hemoglobina
Hb S	Hemoglobina S
<i>HBZ</i>	Gene da cadeia zeta da hemoglobina
HEMOMAR	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência)
HTLV	Vírus Linfotrópico T Humano
kb	Kilobase
KDa	Kilodalton
MS	Ministério da Saúde

O ₂	Oxigênio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCR-AE	PCR para Análise de Alelos Específicos
PCR-Multiplex	PCR Multiplexado
PCR-RFLP	PCR com Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos de Restrição
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
SINASC	Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos
UFMA	Universidade Federal do Maranhão
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UTR	Região não traduzida
WHO	Organização Mundial da Saúde
$\psi\alpha 1$ / $\psi\alpha 2$	Pseudogenes das cadeias alfa
$\psi\beta$	Pseudogene da cadeia beta
$\psi\zeta$ (ou $\psi\zeta 1$)	Pseudogene da cadeia zeta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1 A hemoglobina	16
2.2 Ontogenia da expressão gênica das cadeias globínicas e aspectos moleculares da síntese de hemoglobinas	18
2.3 Definição e classificação das hemoglobinopatias	21
2.4 Diagnóstico das hemoglobinopatias.....	24
2.5 Epidemiologia das hemoglobinopatias.....	26
2.6 Políticas Públicas e Normas Técnicas em Hemoterapia	27
2.7 Desafios e perspectivas futuras para o manejo das hemoglobinopatias.....	29
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo geral	32
3.2 Objetivos específicos	32
4 MATERIAL E MÉTODOS	32
4.2 Métodos	36
4.2.1 Análises do perfil de hemoglobinas.....	36
4.2.2 Análises moleculares	37
Extração do DNA por precipitação salina	37
Análise molecular para Hb S por PCR-RFLP	37
Análise molecular para Hb C por PCR-RFLP	37
Análise molecular para Hb D por PCR-RFLP	38
Análise molecular para β talassemia por PCR-AE.....	38
Análise molecular para α talassemia por PCR-Multiplex ($-\alpha 3.7\text{kb}$ e $-\alpha 4.2\text{kb}$)	38
Sequenciamento dos genes da globina para Hb anormais raras	38
4.3 Análises estatísticas.....	39
5. RESULTADOS	39
6. DISCUSSÃO	49
7. CONCLUSÃO.....	58
REFERÊNCIAS.....	58
Apêndice 1 – Documento de aprovação do Comitê de Ética da UFMS com justificativa para dispensa do TCLE, conforme parecer nº 6.782.645.....	70
Apêndice 2 - Fluxograma do protocolo diagnóstico para investigação de hemoglobinas variantes a partir de HPLC	71

1 INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias representam o grupo mais comum de alterações genéticas monogênicas no mundo, com ampla prevalência nas populações da África, Mediterrâneo, Ásia e Américas. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), cerca de 270 milhões de pessoas possuem genes que determinam alterações na estrutura ou produção da hemoglobina (Hb) (WHO, 2021). Essas condições constituem um desafio global de saúde pública, especialmente em países com intensa diversidade genética, como o Brasil.

As hemoglobinopatias podem ser classificadas, de forma geral, em três categorias principais: variantes estruturais, alterações quantitativas (talassemias) e Persistência Hereditária de Hemoglobina Fetal (PHHF). As formas estruturais decorrem de mutações que promovem substituições de aminoácidos nas cadeias globínicas, como a Hb S, Hb C e Hb D, impactando a estabilidade, solubilidade ou função da Hb. Já as alterações quantitativas resultam de mutações que reduzem ou anulam a produção de uma ou mais cadeias, gerando desequilíbrio na formação da molécula, como ocorre principalmente na alfa (α) e beta (β) talassemias. Por fim, a PHHF caracteriza-se pela produção persistente de hemoglobina fetal (Hb F) na vida adulta, o que, embora geralmente não traga manifestações clínicas significativas, pode dificultar a interpretação diagnóstica (THOMPSON; THOMPSON, 2016; LAVOURAS, 2017).

No Brasil, o cenário epidemiológico das hemoglobinopatias é profundamente influenciado pelos processos históricos de colonização, povos escravizados e miscigenação entre populações europeias, africanas e indígenas, favorecendo a ampla disseminação dessas alterações genéticas. Em especial, nas regiões Norte e Nordeste, observa-se maior prevalência de Hbs variantes de origem africana, como Hb S e Hb C, associadas à herança genética da população afrodescendente (MELO-REIS *et al.*, 2006; CALVO-GONZÁLEZ, 2017).

As hemoglobinopatias, especialmente a anemia falciforme e as talassemias, impõem um ônus significativo ao sistema de saúde pública e suplementar. Pacientes acometidos com estas doenças podem apresentar complicações clínicas recorrentes, como crises vaso-oclusivas, infecções, insuficiência renal, disfunções cardíacas e necessidade frequente de internações hospitalares, uso prolongado de analgésicos, transfusões e medicamentos, como hidroxíureia e quelantes de ferro (BRASIL, 2021;

COELHO *et al.*, 2020). Esses fatores contribuem para o aumento da demanda por atendimentos ambulatoriais e emergenciais, além de elevar os custos com exames laboratoriais, terapias de suporte e intervenções especializadas, como transplante de medula óssea.

No Brasil, estima-se que as doenças falciformes estejam entre as principais doenças hereditárias de impacto clínico relevante, com aproximadamente 3.500 nascimentos por ano e mais de 100 mil portadores da Hb S. O manejo clínico inadequado ou o diagnóstico tardio desses casos está associado à maior mortalidade infantil, redução da qualidade de vida, absenteísmo escolar e laboral, além de impacto psicológico e social em pacientes e familiares. Como consequência, o sistema de saúde enfrenta dificuldades em prover um cuidado integral e contínuo, especialmente nas regiões com menor cobertura especializada (BRASIL, 2021).

Em resposta à relevância clínica e epidemiológica dessas condições, o Ministério da Saúde instituiu o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), por meio da Portaria GM/MS nº 822, de 6 de junho de 2001 (BRASIL, 2001), que passou a incluir a detecção da doença falciforme e outras hemoglobinopatias por meio do Teste do Pezinho (BRASIL, 2016). Apesar dos avanços proporcionados por essa política de saúde, a maioria dos adultos nascidos antes da implementação do programa permanece sem diagnóstico, tornando os bancos de sangue uma importante via alternativa de identificação de portadores, comumente assintomáticos (SANTOS; LIMA; GONÇALVES, 2019).

Assim, os serviços de hemoterapia não apenas cumprem seu papel na assistência transfusional, mas também funcionam como ferramentas estratégicas de vigilância epidemiológica. A triagem de doadores permite mapear a distribuição regional das Hb variantes, garantir maior segurança transfusional e promover o aconselhamento genético dos indivíduos identificados (CANÇADO; JESUS, 2007; BRASIL, 2016). Isso é particularmente relevante em estados como o Maranhão, onde a elevada diversidade étnica e genética favorece a ocorrência de variantes raras e de casos de heterozigose composta para Hb(s) estruturais, exigindo metodologias diagnósticas mais sensíveis e ações integradas de rastreamento populacional (LOPES *et al.*, 2011; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

A detecção dessas Hb(s) variantes, no entanto, nem sempre é viável por métodos tradicionais. Técnicas como a eletroforese (ELH) de Hb(s) e a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) apresentam limitações nos casos de

sobreposições de Hb normais e ou anormais, ou quando se trata de variantes raras que não possuem tempo de retenção previamente estabelecido ou padrão de migração eletroforética bem caracterizado. Nesses contextos, as técnicas de biologia molecular tornam-se fundamentais para o diagnóstico definitivo, pois permitem a caracterização genotípica precisa de variantes pouco frequentes e a identificação de mutações silenciosas, que podem passar despercebidas nos métodos convencionais (LAVOURAS, 2017; SILVA *et al.*, 2020).

No Maranhão, poucos estudos populacionais sobre hemoglobinas variantes foram publicados. Em recém-nascidos, observaram-se frequências de 4,67 a 4,8% de alterações, com destaque para Hb AS, Hb AC, Hb AD e Hb(s) não identificadas (LOPES *et al.*, 2011). Um estudo posterior analisou a triagem neonatal realizada em 2014, reafirmando a presença dos mesmos perfis encontrados anteriormente (SANTIAGO *et al.*, 2018). No entanto, ainda não há publicações atualizadas que abordem a prevalência dessas condições em doadores de sangue, o que limita o entendimento atual do panorama epidemiológico no estado.

Diante da escassez de dados recentes, torna-se urgente a realização de estudos que combinem abordagens fenotípicas e genotípicas na investigação de hemoglobinopatias em doadores de sangue. Além de identificar portadores nascidos antes da PNTN, essa abordagem fortalece a segurança transfusional, amplia o conhecimento sobre a diversidade hemoglobínica na população e subsidia políticas públicas de saúde e aconselhamento genético.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A hemoglobina

A Hb, principal proteína presente nas hemácias, é essencial para a manutenção da vida, desempenhando diversas funções fisiológicas fundamentais. Sua principal função é o transporte de oxigênio (O_2) dos pulmões para os tecidos. Além disso, a Hb participa do transporte de dióxido de carbono (CO_2) dos tecidos para os pulmões, e atua como um importante sistema tampão, regulando o pH sanguíneo. Outras funções fisiológicas incluem a modulação da afinidade da Hb pelo oxigênio por meio do efeito Bohr, a participação na liberação de óxido nítrico (NO), que contribui para a

vasodilatação, e a detecção e resposta às variações metabólicas nos tecidos (BAIN, 2020).

Estruturalmente, a Hb é uma metaloproteína tetramérica com massa molecular de aproximadamente 64 a 64,5 kilodalton (kDa), composta por dois pares de cadeias polipeptídicas globínicas, cada uma contendo um grupo heme, uma porfirina complexada com ferro ferroso (Fe^{2+}), responsável pela ligação ao oxigênio (BAIN, 2020).

O grupo heme é fundamental para a função de transporte de oxigênio da Hb, pois é nele que ocorre a ligação reversível ao O_2 . Cada grupo heme contém um átomo de ferro, normalmente presente na forma ferrosa (Fe^{2+}), o qual se liga ao oxigênio de forma transitória, permitindo que a Hb atue como uma eficiente proteína transportadora de gases. As cadeias globínicas que compõem a Hb desempenham funções igualmente importantes: protegem o ferro do heme contra a oxidação à forma férrica (Fe^{3+}), que tornaria a molécula incapaz de se ligar ao oxigênio; contribuem para a solubilidade da Hb no meio aquoso intracelular; e modulam a afinidade da Hb pelo oxigênio por meio de interações alostéricas dependentes do pH, CO_2 , 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG) e outros fatores (HOFFBRAND, 2020).

A arquitetura tridimensional da Hb estabelece um ambiente interno hidrofóbico, necessário para manter a estabilidade do heme e preservar a sua função, e uma superfície externa hidrofílica, que facilita a solubilidade da proteína no citoplasma das hemácias. Tanto o grupo heme quanto as cadeias globínicas estão sujeitos a modificações estruturais, como ocorre em alguns tipos de hemoglobinopatias, podendo alterar a capacidade de transporte de oxigênio, a estabilidade da molécula ou sua resposta aos reguladores alostéricos (NELSON *et al.*, 2018).

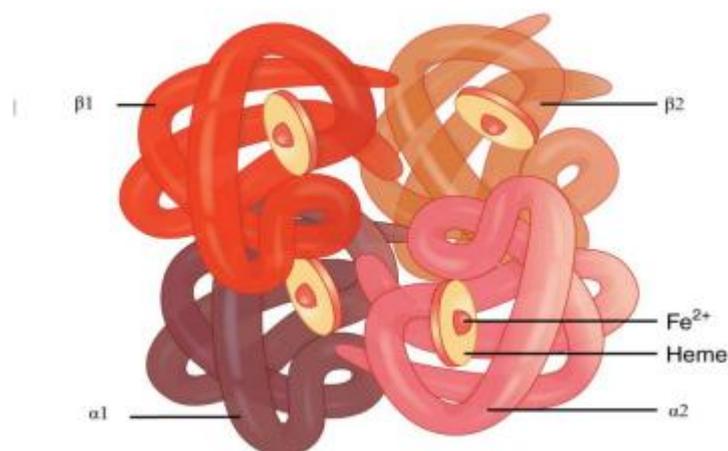


Figura 1: Representação esquemática da conformação tetramérica da Hb A, composta por duas cadeias α (α_1 e α_2) e duas cadeias β (β_1 e β_2). Cada subunidade globínica está associada a um grupo heme, que contém um átomo de ferro ferroso (Fe^{2+}), responsável pela ligação reversível ao oxigênio. A organização tridimensional da molécula promove estabilidade funcional, interação alostérica entre subunidades e propriedades cooperativas de ligação ao oxigênio. **Fonte:** Lavouras, 2017.

A Hb A, principal Hb do indivíduo adulto, é formada por quatro subunidades: duas α (141 resíduos) e duas β (146 resíduos). A estrutura quaternária da Hb A é mantida por ligações não covalentes que são muito mais numerosas entre subunidades diferentes (α/β) do que entre subunidades iguais (α/α e β/β). O resultado desta associação desigual é uma molécula tetramérica composta por dois dímeros, denominados $\alpha_1\beta_1$ e $\alpha_2\beta_2$, dispostos simetricamente ao redor de um eixo central (Figura 1) (NELSON *et al.*, 2018).

2.2 Ontogenia da expressão gênica das cadeias globínicas e aspectos moleculares da síntese de hemoglobinas

A síntese das cadeias de globina humanas é regulada ao longo do desenvolvimento e depende da ativação coordenada de genes organizados em dois *loci* principais, localizados nos cromossomos 16 e 11 (SHANG, 2017). No locus α , situado na região 16p13.3, encontram-se os genes *HBA1* e *HBA2*, que codificam as cadeias α , além do gene embrionário *HBZ* (ζ_2) e pseudogenes não funcionais ($\psi\zeta$, $\psi\alpha_1$ e $\psi\alpha_2$). No locus β , localizado na região 11p15.4, estão os genes *HBE1* (ϵ), *HBG2* ($\zeta\gamma$), *HBG1* ($\alpha\gamma$), *HBD* (δ) e *HBB* (β), além do pseudogene $\psi\beta$. Esses genes são ativados de maneira sequencial e desenvolvimento-específica, em um processo conhecido como comutação gênica (*gene switching*), fundamental para a transição

das Hb(s) embrionárias e fetais para as formas adultas (Figura 2) (THOMPSON; THOMPSON, 2016).

Esse complexo processo de regulação gênica é controlado por elementos cis-regulatórios, como o *Locus Control Region* (LCR) no locus β e por modificações epigenéticas, incluindo metilação do DNA e remodelamento da cromatina, que modulam o acesso aos promotores e a atividade transcricional. Além disso, todos os genes das globinas apresentam uma estrutura conservada composta por três éxons e dois íntrons, além de regiões não traduzidas (UTRs) nas extremidades 5' e 3'. Embora os genes *HBA1* e *HBA2* codifiquem a mesma sequência de aminoácidos, eles diferem nas regiões reguladoras e no íntron 2, o que pode influenciar a estabilidade do RNA mensageiro (HOFFBRAND, 2021).

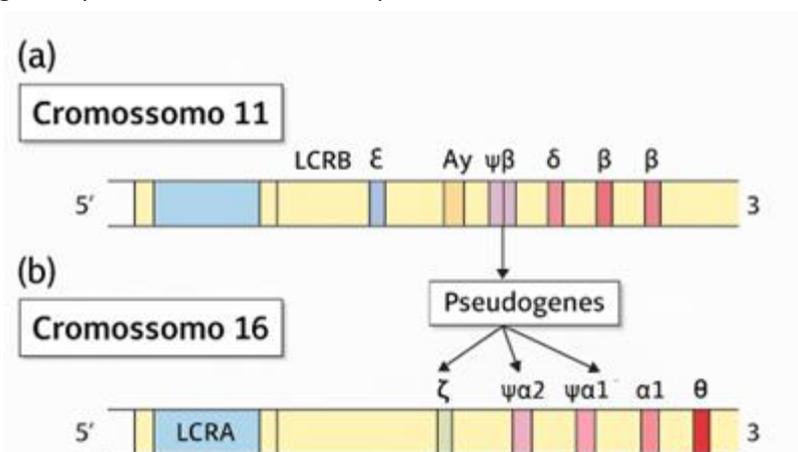


Figura 2: Organização dos loci das globinas nos cromossomos 11 e 16. (a) O locus da β globina está localizado no cromossomo 11 (região 11p15.4) e é composto pelos genes ϵ , γ^G e γ^A , δ e β , além do pseudogene $\psi\beta$. A expressão desses genes é regulada pelo Locus Control Region β (LCRB), localizado na região promotora do agrupamento, próximo à extremidade 5'. (b) O locus da α globina, situado no cromossomo 16 (região 16p13.3), contém os genes ζ , $\alpha 2$ e $\alpha 1$, dois pseudogenes ($\psi\alpha 2$ e $\psi\alpha 1$) e o gene θ , de função ainda não completamente elucidada. A regulação transcricional dessa região é controlada pelo Locus Control Region α (LCRA), também posicionado na região promotora, anterior aos genes estruturais. Ambos os agrupamentos incluem pseudogenes, que compartilham homologia com os genes funcionais, mas não codificam proteínas ativas. A disposição linear dos genes reflete sua ativação sequencial ao longo do desenvolvimento, no sentido 5' \rightarrow 3', em conformidade com a ontogênese hematopoiética. **Fonte:** Bain, 2020.

Durante a ontogênese hematopoiética, a expressão das cadeias globínicas varia conforme o estágio do desenvolvimento e o local da hematopoiese. Nas fases iniciais, no saco vitelino, predominam as cadeias ζ e ϵ , formando Hb Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$) e Hb Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$). Com a migração da hematopoiese para o fígado fetal, a expressão das cadeias ζ e ϵ é suprimida, sendo substituída pelas cadeias α e γ , que formam a Hb F ($\alpha_2\gamma_2$). Após o nascimento, especialmente nas primeiras semanas de vida, ocorre a ativação progressiva das cadeias β , resultando na predominância da Hb adulta (Hb

A – $\alpha_2\beta_2$). Paralelamente, inicia-se a expressão das cadeias δ , que, ao se combinarem com as α , originam a Hb A₂ ($\alpha_2\delta_2$), normalmente responsável por 2,0% a 3,3% da Hb total em adultos (Figura 3). Embora minoritária, a Hb A₂ possui valor diagnóstico importante, principalmente no rastreamento de β talassemias, nas quais seus níveis encontram-se caracteristicamente elevados (SHANG, 2017; BAIN, 2020).

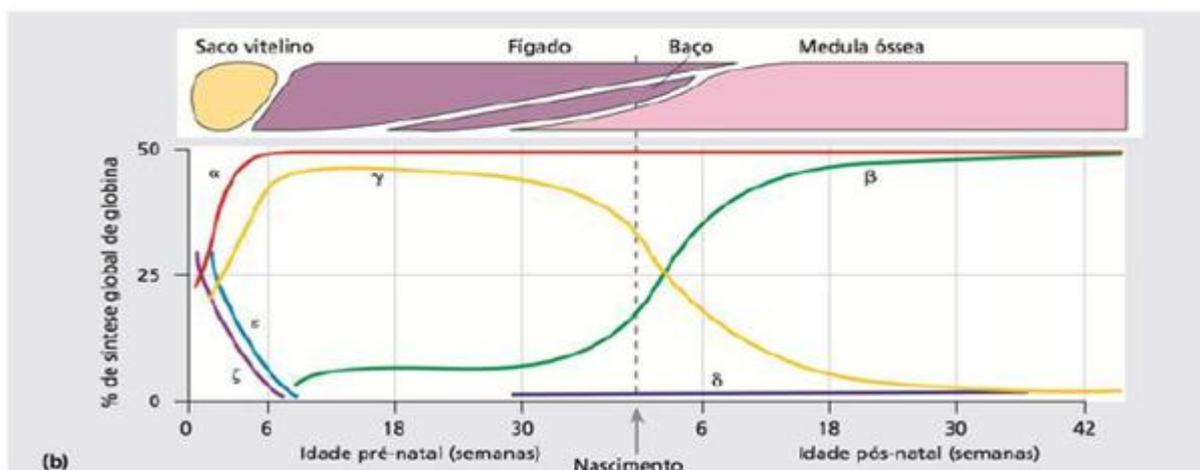


Figura 3: Expressão temporal dos genes de globinas durante a ontogênese hematopoiética. A figura mostra a porcentagem relativa da síntese das diferentes cadeias globínicas (ζ , ϵ , γ , α , δ , β) ao longo do desenvolvimento embrionário, fetal e pós-natal. No topo, os locais predominantes de hematopoiese são representados: saco vitelino nas primeiras semanas, seguido pelo fígado fetal e baço, até a migração definitiva para a medula óssea. Observa-se que as cadeias ζ e ϵ são expressas apenas nas fases iniciais do desenvolvimento (hemoglobinas embrionárias). As cadeias γ predominam durante o período fetal (Hb F), sendo gradualmente substituídas pelas cadeias β após o nascimento, compondo a hemoglobina adulta (Hb A). As cadeias α estão presentes desde os estágios iniciais e permanecem estáveis ao longo da vida. **Fonte:** Hoffbrand, 2013.

Conforme demonstrado anteriormente, as Hb normais humanas apresentam cadeias globínicas específicas e atingem concentrações expressivas em determinadas fases do desenvolvimento. No Quadro 1 é possível observar os tipos de Hb humanas e algumas de suas características.

Quadro 1: Composição das hemoglobinas humanas e seus períodos de expressão ao longo do desenvolvimento.

Hemoglobina	Cadeias globínicas	Período quando presente
A	$\alpha_2\beta_2$	Maior concentração na vida adulta.
A₂	$\alpha_2\delta_2$	Menor concentração na vida adulta; ainda menor no final da vida fetal e neonatal.
F	$\alpha_2^A\gamma_2$ ou $\alpha_2^G\gamma_2$	Menor concentração de na vida adulta, maior Hb na vida fetal com declínio de % durante o período neonatal.
Gower 1	$\zeta_2\varepsilon_2$	Hb significativa durante o início da vida intrauterina.
Gower 2	$\alpha_2\varepsilon_2$	Hb significativa durante o início da vida intrauterina.
Portland	$\zeta_2\gamma_2$	Hb significativa durante o início da vida intrauterina.

Fonte: Hoffbrand, 2013.

2.3 Definição e classificação das hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias constituem um grupo heterogêneo de alterações genéticas que comprometem a estrutura, a produção ou a estabilidade da Hb. Mais de 1.800 tipos de hemoglobinopatias já foram descritas e, dentre as afecções genéticas, são as mais prevalentes no mundo, com importante impacto clínico e epidemiológico, especialmente em regiões como a África, sul da Ásia, Mediterrâneo e América Latina (WHO, 2021; HOFFBRAND *et al.*, 2021). No Brasil, o histórico de intensa miscigenação entre populações europeias, africanas e indígenas contribuiu para a ampla distribuição dessas alterações, notadamente nas regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 2021). Estima-se que cerca de 7% da população mundial seja portadora de alguma forma de Hb variante e que mais de 300 mil crianças nasçam anualmente com hemoglobinopatias clinicamente significativas (WHO, 2021).

Importante destacar que nem todas as hemoglobinopatias configuram doenças. Muitas são detectadas em indivíduos assintomáticos, frequentemente por meio de triagens populacionais como na triagem neonatal ou durante doações de sangue. Variantes como Hb D e Hb C em heterozigose, por exemplo, não causam manifestações clínicas, mas podem interferir em exames laboratoriais ou adquirir relevância quando combinadas a outras mutações, como Hb S ou β talassemia. Assim, essas alterações englobam um espectro que vai de condições benignas e

silenciosas até formas graves, exigindo interpretação clínica contextualizada e, muitas vezes, investigação complementar (BAIN, 2020).

As hemoglobinopatias são tradicionalmente classificadas em três grandes categorias, de acordo com o tipo de alteração genética envolvida e seus impactos na estrutura ou função da Hb. A primeira categoria abrange as chamadas hemoglobinopatias estruturais, a maioria resultantes de mutações pontuais nos genes das globinas, que levam à substituição de aminoácidos específicos na cadeia polipeptídica da Hb. Essas alterações podem comprometer propriedades fundamentais da molécula, como a solubilidade, a estabilidade tridimensional e a afinidade pelo oxigênio, podendo gerar desde formas clinicamente silenciosas até quadros hematológicos graves. Entre os exemplos mais frequentes destacam-se as variantes Hb S (responsável pela anemia falciforme quando em homozigose), Hb C, Hb D e Hb E, cujas manifestações clínicas variam conforme a herança dos alelos e fatores ambientais associados. (LAVOURAS, 2017; HOFFBRAND *et al.*, 2021; (NELSON; COX, 2018)

A segunda categoria abrange as hemoglobinopatias quantitativas, conhecidas como talassemias, que se caracterizam por mutações ou deleções que reduzem ou impedem a produção de uma ou mais cadeias globínicas. Esse desequilíbrio entre as cadeias α , β , δ ou γ compromete a formação do tetrâmero da Hb, gerando eritropoiese ineficaz, acúmulo de cadeias livres e destruição precoce de precursores eritroides. As manifestações clínicas costumam incluir anemia microcítica e hipocrômica persistente, mesmo na ausência de deficiência de ferro. As formas mais prevalentes são a α talassemia, relacionada à produção deficiente de cadeias α , e a β talassemia, provocada por alterações na expressão da cadeia β . Ambas podem variar de quadros assintomáticos até formas graves, a depender da combinação alélica herdada (COX; ROPER, 2021)

A α talassemia é causada, predominantemente, por deleções nos genes *HBA1* e *HBA2* e mais de 35 deleções distintas já foram descritas. Dentre elas, as mais comuns globalmente é a $-\text{SEA}$ (*South East Asian*), predominante em populações asiáticas, e a $-\text{MED}$ (Mediterrânica), comum em regiões do sul da Europa. No Brasil, predominam as deleções $-\alpha^{3.7}$ e $-\alpha^{4.2}$, com deleções de 3,7 kb e 4,2 kb, respectivamente. Essas alterações refletem a diversidade étnica da população brasileira e, em geral, produzem quadros clinicamente leves ou assintomáticos. Em casos de uma ou duas deleções, o diagnóstico pode não ser evidente em exames

convencionais, sendo a análise molecular a única ferramenta capaz de identificar com precisão essas alterações, especialmente em pacientes com microcitose discreta. Essa identificação é crucial para fins de aconselhamento genético, sobretudo em casais com risco para formas mais graves da doença (OLIVEIRA, 2015; BAIN, 2020).

Em contrapartida, a β talassemia decorre principalmente de mutações pontuais ou pequenas inserções/deleções no gene *HBB*. Essas mutações são classificadas em β^0 , quando não há produção de β globina, ou β^+ , quando há produção residual. O resultado é um desequilíbrio entre cadeias α e β , levando à precipitação de cadeias α nos precursores eritroides, à destruição celular e à eritropoiese ineficaz. As mutações β talassêmicas são altamente heterogêneas e apresentam distribuição geográfica distinta, com mais de 200 mutações já descritas. No Brasil, as mutações mais frequentes incluem a IVS-I-6 (T>C), IVS-I-110 (G>A) e a CD39, sendo esta última particularmente comum no Sudeste (SILVA FILHO *et al.*, 2022). O diagnóstico baseia-se na detecção de Hb A₂ aumentada (>3,5%) em HPLC ou ELH de Hb(s), mas pode ser confundido em casos de coerança com δ talassemia ou deficiência de ferro, exigindo confirmação por análise molecular.

Dentre os subtipos de talassemia menos discutidos, a δ -talassemia se destaca por seu impacto diagnóstico. Essa condição rara resulta de mutações no gene *HBD*, responsável pela síntese da cadeia δ e, conseqüentemente, da Hb A₂. Embora não cause manifestações clínicas evidentes, sua relevância está no fato de que a Hb A₂ é o principal marcador laboratorial para triagem de β talassemia heterozigótica, que geralmente cursa com Hb A₂ aumentada. Quando há coerança com δ -talassemia, os níveis de Hb A₂ podem ser normalizados ou até reduzidos, mascarando o diagnóstico. Nesses casos, a utilização de técnicas moleculares complementares é indispensável para elucidar o perfil genotípico (PANICHELLA *et al.*, 2019; BAIN, 2020).

A terceira categoria compreende a PHHF, condição geralmente benigna, na qual ocorre manutenção da produção de Hb F na vida adulta, além dos níveis fisiológicos esperados. Embora não cause sintomas, a PHHF pode modular a gravidade de hemoglobinopatias associadas, como a anemia falciforme e a β talassemia, e interferir na interpretação de exames laboratoriais, especialmente quando há elevação inexplicada de Hb F. Dessa forma, seu reconhecimento é essencial no diagnóstico diferencial e na adequada interpretação dos resultados hematológicos (THOMPSON; THOMPSON, 2016; THOM *et al.*, 2013).

2.4 Diagnóstico das hemoglobinopatias

O diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias exige uma abordagem integrada e multifatorial, que combine diferentes métodos analíticos com dados clínicos e hematológicos. Informações como o hemograma, o esfregaço sanguíneo, a etnia, a história familiar e o contexto clínico do paciente são fundamentais para orientar e interpretar adequadamente os resultados laboratoriais. A identificação precisa das variantes de Hb não pode ser realizada com base em um único teste, devido à complexidade genética dessas alterações e à possibilidade de padrões migratórios ou cromatográficos semelhantes entre diferentes Hb(s). Isso pode levar a diagnósticos imprecisos caso não sejam empregadas técnicas complementares e confirmatórias (BAIN, 2006; BRASIL, 2024).

A ELH de hemoglobinas em pH alcalino é tradicionalmente empregada por laboratórios clínicos e hemocentros como método inicial de triagem para hemoglobinopatias, devido à sua simplicidade, baixo custo e capacidade de distinguir variantes com mobilidade eletroforética distinta (BRASIL, 2024). Essa técnica baseia-se na migração de moléculas carregadas sob a ação de um campo elétrico, sendo a separação determinada pela carga líquida das hemoglobinas, a qual varia conforme o pH do meio, o tipo de suporte utilizado e a composição do tampão (BRASIL, 2024).

Em pH alcalino, todas as Hb (s) humanas adquirem carga negativa e migram em direção ao ânodo. Variantes estruturais como Hb S, Hb C e Hb D apresentam mobilidades eletroforéticas distintas da Hb A, permitindo sua detecção. No entanto, Hb (s) estruturalmente diferentes, mas com comportamento eletroforético semelhante à Hb A, podem migrar na mesma posição, tornando-se "silenciosas" nesse método. Da mesma forma, algumas variantes com mobilidade semelhante à da Hb S, denominadas hemoglobinas "*S-like*", não podem ser distinguidas por eletroforese alcalina isoladamente, exigindo métodos complementares para sua correta identificação (BONINI-DOMINGOS, 2011).

Como alternativa às limitações da ELH em pH alcalino, é utilizada a ELH em pH ácido (entre 6,0 e 6,2), frequentemente realizada em gel de agarose ácido, que oferece melhor resolução na separação de Hb variantes que migram na mesma posição em meio alcalino. Essa técnica é particularmente útil para distinguir variantes como Hb S e Hb D, ou Hb C e Hb E, que apresentam comportamento eletroforético semelhante. Ainda assim, tanto a ELH alcalina quanto a ácida não são resolutivas

isoladamente para um diagnóstico definitivo, sendo necessário o uso de técnicas complementares (BAIN, 2021; BRASIL, 2024).

Entre os métodos diagnósticos, a HPLC é atualmente o padrão ouro para a triagem e quantificação de frações de Hb. Baseia-se em princípios de troca iônica e eluição sob gradiente, permitindo a separação das Hb(s) com base em seus tempos de retenção específicos, monitorados por espectrofotometria a 415 nm. O perfil resultante, o cromatograma, é comparado com padrões reprodutíveis de referência para identificação das Hb normais e variantes. Apesar de sua alta sensibilidade, a HPLC pode apresentar limitações em casos de coeluição entre variantes raras, sendo necessário o uso de biologia molecular para confirmação diagnóstica (POLAINAS, 2017; BARRETT *et al.*, 2017; LAVOURAS, 2015).

As técnicas de biologia molecular têm se mostrado essenciais para a caracterização definitiva das hemoglobinopatias, especialmente nos casos de mutações silenciosas, heterozigose composta ou variantes raras. A maioria dos métodos moleculares utilizados atualmente baseia-se na reação em cadeia da polimerase (PCR), que permite a amplificação de regiões gênicas específicas, com alta sensibilidade e especificidade. Isso possibilitou a substituição de técnicas mais complexas, como o uso de isótopos radioativos ou *Southern blot*, viabilizando diagnóstico com pequenas quantidades de DNA (FAKHER *et al.*, 2007).

Grande parte dos ensaios moleculares é voltada para mutações específicas previamente conhecidas, sendo especialmente eficaz em populações cujos perfis mutacionais estão bem caracterizados. Métodos como Gap-PCR, MLPA (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*), *dot blot* com sondas alélicas específicas e PCR específica de alelos são amplamente utilizados por sua robustez e custo-efetividade (SABATH *et al.*, 2017). Contudo, uma das limitações dessa abordagem direcionada é que mutações localizadas fora das regiões-alvo não são detectadas, o que pode levar a falso-negativos em triagens populacionais mais amplas (CUNHA, 2016).

No caso das α talassemias, a maioria das alterações genéticas decorre de deleções parciais ou totais dos genes *HBA1* e *HBA2*. Para sua detecção, o Gap-PCR tem se destacado como técnica de escolha, por permitir a identificação de pontos de quebra específicos das deleções mais prevalentes em diferentes populações. O uso de painéis de *primers* adaptados à diversidade genética regional tem se mostrado uma estratégia eficaz para o rastreamento populacional dessas mutações, especialmente

em bancos de sangue e programas de aconselhamento genético (SABATH *et al.*, 2017).

2.5 Epidemiologia das hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias constituem um dos principais problemas de saúde pública relacionados a distúrbios genéticos em escala global. Estima-se que aproximadamente 7% da população mundial apresente alguma variante da Hb, com cerca de 300.000 a 500.000 crianças nascendo anualmente com formas clinicamente significativas, como a doença falciforme e as talassemias (YAWN; BUCHANAN, 2014; KATO; GLADWIN, 2008). A carga global dessas enfermidades é expressiva, afetando principalmente países de baixa e média renda, com destaque para regiões da África Subsaariana, Sul da Ásia e Oriente Médio, conforme dados recentes do Estudo sobre a Carga Global de Doenças (*Global Burden of Disease Study*) (GBD, 2021; WHO, 2021; PIEL *et al.*, 2023).

A distribuição geográfica das hemoglobinopatias está intimamente associada a fatores evolutivos, como o efeito protetor contra a malária, e aos movimentos migratórios históricos e contemporâneos. As variantes estruturais mais comuns (Hb S, Hb C, Hb D e Hb E) apresentam padrões de distribuição específicos em diferentes continentes, refletindo processos de seleção natural e migração (WEATHERALL, 2010).

No Brasil, a complexa diversidade genética da população, fruto de intensos processos de miscigenação entre povos indígenas, europeus e africanos, determina a distribuição regional das hemoglobinopatias. Em nível nacional, a prevalência do traço falciforme (Hb AS) situa-se entre 2% e 3%, podendo ultrapassar 6% em localidades com predominância de ancestralidade africana. A doença falciforme apresenta maior incidência nas regiões Norte, Nordeste e Centro-Oeste, enquanto a β talassemia é mais frequente no Sul e Sudeste, concomitantemente ao maior aporte de ascendência mediterrânea (BRASIL, 2021; CALVO-GONZÁLEZ, 2017). O estudo conduzido por Nunes *et al.* (2025) analisou 2.723 genomas brasileiros e identificou mais de 8 milhões de variantes genéticas inéditas, das quais 36.637 foram consideradas potencialmente deletérias por afetarem genes codificadores de proteínas. Os autores também demonstraram uma correlação positiva entre a carga dessas variantes e componentes específicos de ancestralidade. Estimou-se que a

composição genética média da população brasileira seja formada por aproximadamente 60 % de ancestralidade europeia, 27 % africana e 13 % indígena, com significativa variação regional, um fator que influencia diretamente a distribuição das hemoglobinopatias no país.

A inclusão da triagem neonatal para hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) representou um marco na política pública de saúde genética no Brasil, sendo regulamentada pela Portaria nº 822/GM de 2001 (BRASIL, 2001). No entanto, indivíduos nascidos antes da implementação do programa podem permanecer sem diagnóstico, especialmente os portadores assintomáticos, muitas das vezes detectados nas doações de sangue.

O estado do Maranhão, situado na região Nordeste, compartilha do perfil epidemiológico observado em outras unidades da federação com elevada proporção de população afrodescendente. Segundo dados do PNTN, o Maranhão figura entre os três estados brasileiros com maior incidência de traço falciforme em recém-nascidos, com uma proporção de 1:23 nascidos vivos (BRASIL, 2015).

Em 2014, a rede de triagem neonatal do estado do Maranhão demonstrou cobertura de 83% de testagem, com aproximadamente 346 mil recém-nascidos vivos triados (SANTIAGO *et al.*, 2018). Destes, 273.518 apresentaram perfil hemoglobínico normal, correspondendo a 95,33% da população triada. Por outro lado, 13.385 RN apresentaram alterações hemoglobínicas, representando 4,67% dos recém-nascidos triados. A Hb S foi identificada em 86% dos casos positivos, totalizando 11.509 ocorrências. Dentro desse grupo, a maioria dos casos correspondeu ao traço falciforme (Hb FAS) com 98,2% e 1,8% com as formas mais graves, como a heterozigose composta Hb FSC e a homozigótica Hb FSS (SANTIAGO *et al.*, 2018).

2.6 Políticas Públicas e Normas Técnicas em Hemoterapia

A legislação brasileira voltada à hemoterapia avançou significativamente nas últimas décadas, com o objetivo de garantir maior segurança transfusional, padronizar os procedimentos técnico-laboratoriais e assegurar a rastreabilidade nas doações de sangue. Diversas portarias e resoluções emitidas pelo Ministério da Saúde e pela ANVISA estabeleceram diretrizes fundamentais para o funcionamento da rede pública de hemoterapia, incluindo normas específicas para a triagem de doenças

hematológicas hereditárias, como as hemoglobinopatias (BRASIL, 2023; ANVISA, 2022).

Entre as normativas da política do sangue, destaca-se a Portaria nº 158/2016, que dispõe sobre o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos e estabelece os critérios para triagem clínica e laboratorial de doadores de sangue (BRASIL, 2016). Complementarmente, a RDC nº 34/2014 da ANVISA define boas práticas nos serviços de hemoterapia, reforçando a importância da detecção de alterações hematológicas hereditárias durante o processo de triagem (BRASIL, 2014).

Um marco anterior de grande relevância foi a RDC nº 153/2004, também da ANVISA, que instituiu o Regulamento Técnico para o funcionamento dos serviços de hemoterapia no país. Essa norma foi pioneira ao definir critérios mínimos para a triagem clínica e laboratorial, controle de qualidade, biossegurança, rastreabilidade das doações de sangue e qualificação das equipes técnicas (BRASIL, 2004). Destaca-se, ainda, por recomendar a investigação não apenas da Hb S, mas também de outras Hb anômalas, como parte das estratégias de segurança transfusional e de seleção adequada de doadores de sangue, uma diretriz mais abrangente do que a adotada nas normas subsequentes.

Em 2011, foi publicada a Portaria nº 1.353, posteriormente revogada, que consolidou procedimentos técnicos hemoterápicos sob responsabilidade do Ministério da Saúde. A norma abrangeu desde a triagem do doador de sangue até a transfusão sanguínea, reforçando a padronização dos processos e a qualidade dos hemocomponentes (BRASIL, 2011). Embora não tenha expandido os critérios de triagem para hemoglobinopatias, essa portaria reafirmou o papel da hemorrede como instrumento fundamental de vigilância sanitária e controle de doenças transmissíveis e genéticas por via transfusional.

A atual Portaria nº 158/2016, ainda em vigor, redefiniu o regulamento técnico dos procedimentos hemoterápicos e permanece como a principal referência nacional para os critérios clínico-laboratoriais aplicáveis à triagem de doadores (BRASIL, 2016). A norma estabelece a obrigatoriedade da triagem para Hb S na primeira doação, utilizando metodologia laboratorial adequada e validada pelo serviço hemoterápico. Embora não especifique os métodos a serem empregados, são comumente utilizados procedimentos como ELH em pH alcalino ou HPLC. No entanto, diferentemente da RDC nº 153/2004, a Portaria nº 158/2016 não exige a triagem sistemática de outras hemoglobinopatias, como Hb C, Hb D ou Hb E, deixando tal

decisão a critério das condições epidemiológicas regionais e da estrutura técnica dos hemocentros. Essa limitação normativa representa um retrocesso, sobretudo em regiões com alta diversidade genética, como o Maranhão, onde a miscigenação intensa e a presença de comunidades geneticamente isoladas favorecem a circulação de variantes raras. Com o intuito de simplificar e consolidar o acesso às normativas vigentes, o Ministério da Saúde publicou a Portaria de Consolidação nº 5/2017, que reuniu diversas regulamentações, incluindo a Portaria nº 158/2016. Essa consolidação, entretanto, manteve os critérios restritivos de triagem, sem restabelecer a obrigatoriedade da investigação de hemoglobinopatias não falciformes (BRASIL, 2017).

Adicionalmente, é importante considerar que indivíduos nascidos antes da implementação do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), instituído pela Portaria nº 822/2001, podem permanecer sem diagnóstico de hemoglobinopatias, especialmente quando assintomáticos (BRASIL, 2001). Nesse contexto, os serviços de hemoterapia tornam-se estratégicos para o rastreamento retrospectivo dessas condições, oferecendo oportunidades para a identificação de portadores não diagnosticados previamente, além de contribuir para o aconselhamento genético e a vigilância epidemiológica no âmbito da saúde pública.

2.7 Desafios e perspectivas futuras para o manejo das hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias constituem um grupo de doenças genéticas de alta prevalência global, representando um importante desafio de saúde pública, especialmente em países de baixa e média renda. Estima-se que, anualmente, mais de 300 mil crianças nasçam com formas clinicamente significativas, como a doença falciforme e as talassemias, principalmente em regiões da África Subsaariana, Sudeste Asiático e América Latina (WHO, 2021; PIEL *et al.*, 2023). No Brasil, a elevada miscigenação populacional contribui para a ampla distribuição dessas alterações, com impacto epidemiológico distinto entre as regiões. Apesar de avanços na triagem neonatal, no diagnóstico e no manejo clínico, persistem desafios substanciais que dificultam o controle efetivo dessas condições.

O primeiro grande obstáculo refere-se ao subdiagnóstico, especialmente em indivíduos nascidos antes da implementação do PNTN. Muitos adultos com Hb(s) variantes assintomáticas, como Hb S ou Hb C em heterozigose, podem permanecer

não diagnosticados ao longo da vida, o que dificulta o aconselhamento genético e a identificação de casais em risco para gerar filhos com formas graves da doença (SANTOS *et al.*, 2019). Nesse contexto, os bancos de sangue tornam-se ferramentas estratégicas para rastreamento tardio, permitindo a detecção de portadores silenciosos por meio de exames como a ELH de Hb(s) e a HPLC.

Entretanto, as ferramentas diagnósticas convencionais também enfrentam limitações importantes. Métodos como ELH de Hb(s) e HPLC, embora amplamente utilizados, podem falhar na detecção de variantes raras ou em situações de heterozigose composta, como ocorre em combinações com δ -talassemia, que mascaram a elevação da Hb A₂, principal marcador da β talassemia, (BAIN, 2020; SILVA *et al.*, 2020). Nessas situações, a análise molecular é indispensável para o diagnóstico definitivo, embora seu uso ainda seja limitado em muitos centros pela falta de infraestrutura laboratorial e custos associados.

Além do diagnóstico, o acesso ao tratamento é outro ponto crítico. No Brasil, embora o Sistema Único de Saúde (SUS) ofereça protocolos terapêuticos, medicamentos como a hidroxiureia, transfusões regulares e quelantes de ferro ainda não estão igualmente disponíveis em todas as regiões. A escassez de centros especializados, principalmente nas regiões Norte e Nordeste, compromete o monitoramento contínuo dos pacientes e contribui para desfechos clínicos desfavoráveis (BRASIL, 2021). Esse cenário é agravado pelo impacto psicossocial associado às formas mais graves de hemoglobinopatias, que interfere na escolarização, inserção profissional e qualidade de vida dos pacientes, além de gerar custos significativos aos serviços de saúde (MODELL; DUNN, 2015; CALVO-GONZÁLEZ, 2017).

Frente a essas limitações diagnósticas e terapêuticas, surgem perspectivas promissoras. A terapia gênica, especialmente por meio da edição gênica com CRISPR-Cas9, representa um avanço significativo, tendo o exagamglogene autotemcel (Casgevy) obtido aprovação pelo FDA e por agências internacionais para o tratamento da β talassemia dependente de transfusões e da doença falciforme, configurando um marco na terapia personalizada (FRANGOS *et al.*, 2024).

No campo da medicina de precisão, agentes terapêuticos específicos têm ampliado as possibilidades de manejo clínico. O crizanlizumabe, anticorpo monoclonal anti-P-selectina, demonstrou redução significativa na taxa anual de crises vaso-occlusivas em pacientes com doença falciforme (ATAGA *et al.*, 2017). Já o voxelotor,

modulador da polimerização da Hb S, apresentou aumento significativo dos níveis de hemoglobina e redução dos marcadores de hemólise em estudo clínico de fase III (VICHINSKY *et al.*, 2019).

O manejo adequado das hemoglobinopatias em doadores de sangue representa um aspecto essencial para a segurança hemoterápica e para a vigilância epidemiológica de doenças genéticas na população. O diagnóstico correto dessas alterações durante a triagem laboratorial contribui para garantir a qualidade dos hemocomponentes, evitando a transfusão de hemoglobinas anormais que, em determinadas situações clínicas, podem comprometer o receptor, como no caso de pacientes com hemoglobinopatias já diagnosticadas ou com necessidades transfusionais crônicas. Além disso, a detecção de variantes estruturais ou quantitativas da hemoglobina em doadores possibilita o aconselhamento genético apropriado, a interrupção de doações potencialmente incompatíveis com critérios de qualidade, e o mapeamento de regiões com alta prevalência, subsidiando políticas públicas de saúde (YAWN; BUCHANAN, 2014; KATO; GLADWIN, 2008).

Por fim, destaca-se a importância do fortalecimento das políticas públicas e da vigilância epidemiológica integrada para o enfrentamento das hemoglobinopatias no Brasil. Entre as medidas estratégicas, é fundamental expandir o escopo do PNTN, com a padronização de protocolos para investigação molecular nos casos inconclusivos e a ampliação da cobertura em regiões com acesso limitado ao diagnóstico. No âmbito da hemoterapia, recomenda-se a inclusão sistemática da identificação de outras Hb(s) variantes de hemoglobina além da Hb S nos bancos de sangue. Essa abordagem contribui para a detecção de portadores assintomáticos, a melhoria da qualidade dos hemocomponentes e a segurança transfusional, especialmente em pacientes com necessidades clínicas específicas. O incentivo à pesquisa em genética populacional também é essencial para mapear a distribuição regional dessas alterações, subsidiando políticas públicas mais eficazes. O controle eficaz das hemoglobinopatias exige uma abordagem integrada e contínua, baseada no diagnóstico precoce, no acesso ampliado ao tratamento, no aconselhamento genético sistemático e na implementação de ações permanentes de educação em saúde (CANÇADO; JESUS, 2007; PIEL *et al.*, 2023).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Determinar a prevalência e caracterizar as hemoglobinopatias em doadores de sangue atendidos pela hemorrede pública do estado do Maranhão contribuindo para o conhecimento epidemiológico regional e o aprimoramento das práticas transfusionais.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar a presença de hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR) e dos hemonúcleos regionais por meio de ensaios eletroforéticos e cromatográficos;
- Caracterizar por métodos de biologia molecular as mutações das Hb(s) variantes e talassemias identificadas inicialmente por métodos de ELH de Hb(s) e HPLC;
- Estimar a prevalência das hemoglobinopatias (Hb variantes e talassemias) detectadas na população de doadores analisada;
- Comparar os dados obtidos com estudos de outras regiões do Brasil, visando contribuir para o mapeamento nacional das hemoglobinopatias em doadores de sangue.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística

O grupo de estudo foi composto, inicialmente, por 92.462 registros de doadores voluntários de sangue atendidos pela hemorrede pública do estado do Maranhão no ano de 2023. Após a exclusão de 4.398 registros duplicados, correspondentes a doações repetidas de um mesmo indivíduo, foram considerados para análise 88.064 doadores únicos.

Cabe destacar que, devido à ausência de sistemas informatizados em parte desses hemonúcleos, não foi possível acessar informações básicas dos doadores, como data de nascimento, sexo e naturalidade, uma vez que esses dados não estão integrados digitalmente e só poderiam ser obtidos mediante consulta direta e presencial aos registros físicos de cada unidade.

Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo indivíduos doadores de sangue considerados aptos à doação no HEMOMAR ou em qualquer um dos hemonúcleos que integram a hemorrede pública estadual do Maranhão. Foram elegíveis doadores de ambos os sexos, com idade entre 16 e 69 anos e peso corporal superior a 50 kg. A exigência de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) foi dispensada, conforme aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 77287723.9.0000.0021), por se tratar de estudo observacional retrospectivo com dados secundários, sem identificação dos participantes.

Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo os indivíduos considerados temporariamente inaptos à doação de sangue, com base nos critérios clínicos vigentes estabelecidos pelo Ministério da Saúde para a triagem de doadores. Esses critérios incluem a presença de febre, gripe ou resfriado, diarreia recente, gestação ou período pós-parto. Além disso, foram desclassificados os candidatos que apresentaram hematócrito (Ht) inferior a 36% ou hemoglobina (Hb) < 12,5 g/dL no caso das mulheres, e Ht < 39% ou Hb < 13,0 g/dL no caso dos homens, conforme os parâmetros hematológicos exigidos para a aptidão à doação.

Adicionalmente, foram considerados inaptos os indivíduos com histórico de hepatite após os 11 anos de idade ou com evidências clínicas e/ou laboratoriais de doenças transmissíveis por via sanguínea, tais como hepatites B e C, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), infecções associadas ao vírus linfotrópico de células T humanas tipos I e II (HTLV-I/II), doença de Chagas, malária, assim como usuários de drogas ilícitas injetáveis.

Aspectos éticos

Este estudo foi conduzido em conformidade com os princípios éticos estabelecidos pela Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, que regulamenta as diretrizes e normas para pesquisas envolvendo seres humanos no Brasil. O projeto foi submetido à apreciação do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), por meio da Plataforma Brasil, sob o CAAE nº 77287723.9.0000.0021, tendo sido aprovado em 28 de abril de 2024, com parecer consubstanciado favorável (Apêndice 1).

Foi concedida a dispensa do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), devidamente justificada em razão de aspectos metodológicos e operacionais. O estudo teve caráter retrospectivo e envolveu uma amostra extensa de doadores de sangue (mais de 80 mil registros), atendidos em diferentes unidades da hemorrede pública do estado do Maranhão, o que inviabilizou a aplicação individual do TCLE.

Além disso, no momento da coleta de sangue, não é possível identificar previamente a presença de hemoglobinopatias, uma vez que a triagem para essas condições ocorre posteriormente, no hemocentro central (HEMOMAR). A pesquisa baseou-se em dados secundários anonimizados, sem qualquer identificação nominal ou vínculo com os participantes, garantindo o sigilo, a privacidade e a confidencialidade das informações.

As amostras analisadas no Laboratório de Genética da UFMS (CPTL/UFMS) foram codificadas, impossibilitando o rastreamento individual dos doadores. A proposta foi considerada eticamente aceitável, uma vez que os dados utilizados não envolvem risco direto aos participantes, e os procedimentos adotados estão de acordo com os princípios da ética em pesquisa com seres humanos.

Hemorrede do estado do Maranhão

O estado do Maranhão conta com uma população estimada em 7.075.181 habitantes, distribuída em três macrorregiões (Norte, Leste e Sul), organizadas desde 2018 em 19 Regiões de Saúde que abrangem os 217 municípios do estado (Figura 4). Sua área geográfica é de 331.983,450 km² e a densidade demográfica é de 21,19 habitantes por km², conforme dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2016).



Figura 4: Mapa das Regiões de Saúde do Maranhão segundo divisão administrativa da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão. **Fonte:** Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão (SES/MA), 2023.

Nota: O mapa ilustra as subdivisões territoriais do estado do Maranhão, evidenciando as Regiões de Saúde organizadas em macrorregiões de acordo com o planejamento do Sistema Único de Saúde (SUS). As áreas em amarelo correspondem à Macrorregião Norte, as áreas em cinza-esverdeado à Macrorregião Leste e as áreas em laranja à Macrorregião Sul.

A hemorrede pública estadual é composta por um hemocentro coordenador, o HEMOMAR (sediado na capital, São Luís), e oito hemonúcleos localizados nos municípios de Pinheiro, Santa Inês, Bacabal, Imperatriz, Balsas, Caxias, Codó e Pedreiras (Quadro 2).

Quadro 2: Distribuição dos hemonúcleos da hemorrede pública do Maranhão segundo macrorregiões e regiões de saúde.

Macrorregião de Saúde	Regiões de Saúde (Municípios)	Hemonúcleos
Macrorregião Norte	São Luís, Rosário, Pinheiro, Viana, Santa Inês, Bacabal, Chapadinha, Itapecuru Mirim e Zé Doca	Pinheiro, Santa Inês e Bacabal.
Macrorregião Sul	Imperatriz, Balsas, Açailândia e Barra do Corda.	Imperatriz, Balsas,
Macrorregião Leste	Caxias, Codó, Presidente Dutra, Pedreiras, Timon, São João Dos Patos.	Caxias, Codó e Pedreiras.

Fonte: Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão (SES/MA), 2023.

Nota: O quadro apresenta a organização territorial da hemorrede com base nas três macrorregiões de saúde do estado (Norte, Sul e Leste), indicando os municípios que compõem cada região e os respectivos hemonúcleos presentes. Essa divisão reflete a estrutura descentralizada de atendimento e coleta de sangue no Maranhão, permitindo analisar a cobertura e capilaridade da triagem de hemoglobinopatias segundo critérios geográficos e administrativos.

4.2 Métodos

4.2.1 Análises do perfil de hemoglobinas

A triagem inicial das Hb variantes foi realizada por meio do modo de execução *HbS Screen* do analisador *Premier Resolution*® (Trinity Biotech), tecnologia adotada pelo Hemocentro do Maranhão para atender à recomendação do Ministério da Saúde quanto à identificação de Hb S durante a triagem laboratorial de doadores. Este modo permite a separação básica de frações como Hb A, Hb F, Hb S, Hb C e Hb A₂, sendo eficaz para triagens de rotina. Entretanto, as amostras que apresentaram perfis sugestivos de alterações hemoglobínicas foram reprocessadas no modo *High Resolution*, que oferece maior precisão quantitativa e capacidade de diferenciação entre variantes. Nesse modo, o tempo de retenção é ajustado por um gradiente de

eluição mais refinado e uma corrida cromatográfica mais longa, o que permite uma melhor separação dos picos, especialmente em casos de coeluição entre variantes estruturalmente semelhantes, como Hb D, Hb G-Philadelphia, Hb Korle-Bu e Hb Lepore. Além disso, o modo *High Resolution* possibilita a quantificação mais precisa da Hb A₂ e da Hb F, parâmetros essenciais para o diagnóstico de β talassemia e para a avaliação de PHHF.

Nos casos em que houve presença de Hb variante não identificada, a amostra foi submetida à ELH em pH ácido e alcalino, para avaliação da mobilidade da Hb variante em diferentes pH, utilizando o equipamento SPIFE[®]. Posteriormente, a amostra foi enviada ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL, em Três Lagoas (MS), para identificação da Hb variante por técnicas de biologia molecular. Também foram enviadas amostras com presença de Hb(s) variantes (concentração < 30%) para avaliação de coerância com α talassemia. (APÊNDICE II).

4.2.2 Análises moleculares

Extração do DNA por precipitação salina

Metodologia por meio da qual foi extraído o DNA genômico de leucócitos de sangue periférico, e foi subdividida em três processos: lise das células sanguíneas; desproteinização; precipitação do DNA e ressuspensão, por meio de soluções salinas de diferentes concentrações (SAMBROOK; FRITCSH; MANATIS, 1989).

Análise molecular para Hb S por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os *primers* utilizados para a amplificação que envolve o códon (CD) 6 foram: o primer P 277: 5' GGC AGA GCC ATC TAT TGC TTA 3' e o primer P 278: 5' ACC TTA GGG TTG CCC ATA AC 3'. Após a amplificação, o fragmento foi digerido pela endonuclease *Ddel* e analisada em gel de agarose (BELINI JUNIOR, 2014).

Análise molecular para Hb C por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os *primers* utilizados para a amplificação que envolve o C 6 foram: o primer P 277: 5' GGC AGA GCC ATC TAT TGC TTA 3' e o primer P 278: 5' ACC TTA GGG TTG CCC

ATA AC 3'. Após a amplificação, o fragmento foi digerido pela endonuclease BseRI e analisado em gel de agarose (BONINI-DOMINGOS, 2006).

Análise molecular para Hb D por PCR-RFLP

A detecção da mutação foi realizada por PCR seguido de análise de restrição. Os *primers* utilizados para a amplificação da mutação para HbD foram: CD1: 5' TGCCTCTTTGCACCATTCTA 3' e o primer CD2: 5' TAGAATGGTGCAAAGAGGCA 3'. Após a amplificação, o fragmento foi digerido pela endonuclease EcoRI e analisado em gel de agarose (TORRES *et al.*, 2016).

Análise molecular para β talassemia por PCR-AE

A detecção direta dos alelos normais e mutantes por realizada por meio de reação em cadeia da polimerase. Foram analisadas as mutações: CD39 (C→T), IVS-I-1 (G→T), IVS-I-6 (T→C) e IVS-I-110 (G→A), algumas das mais frequentes. Os *primers* de amplificação foram descritos na referência bibliográfica (BELINI JUNIOR, 2014).

Análise molecular para α talassemia por PCR-Multiplex (- α 3.7kb e - α 4.2kb)

A detecção das mutações de α^+ talassemia foram realizadas por PCR-Multiplex. Os *primers* α 2/3.7-F CCCCTCGCCAAGTCCACCC; α 3.7/20.5-R AAAGCACTCTAGGGTCCAGCG; α α 2-R AGACCAGGAAGGGCCGGTG; α 4.2-F GGTTTACCCATGTGGTGCCTC; α 4.2-R CCCGTTGGATCTTCTCATTTCCTCC foram utilizados para detectarem as duas mutações de α^+ talassemia mais frequentes no Brasil (CHONG *et al.*, 2000).

Sequenciamento dos genes da globina para Hb anormais raras

As amostras que não foram detectadas por PCR-RFPL, PCR-AE e GAP-PCR, foram submetidas ao PCR-*Touchdown* para amplificar os genes de interesse. Os produtos de PCR, após purificação, foram submetidos as reações de sequenciamento com o bigdye terminator v3.1. Após esta etapa, a purificação da reação foi realizada com Bigdye xterminator para que os fragmentos fossem avaliados na eletroforese capilar SeqStudio. Após sequenciamento, as sequências foram alinhadas e avaliadas com o uso dos softwares *BioEdit Sequence Alignment Editor*.

4.3 Análises estatísticas

Os dados foram extraídos de registros laboratoriais e informatizados da rede pública de hemoterapia, totalizando 88.064 doações registradas. Inicialmente, foram excluídas as doações repetidas de um mesmo indivíduo no período analisado, bem como doadores considerados inaptos pela triagem clínica ou hematológica. Os dados foram organizados em planilhas do Microsoft Excel® e submetidos à análise estatística.

A prevalência de hemoglobinopatias foi estimada pela razão entre o número de doadores com resultado positivo para qualquer Hb variante e o total de doadores registrados em cada hemonúcleo. As análises descritivas compreenderam o cálculo de frequências absolutas, relativas e proporções estimadas para as variáveis categóricas. Para a avaliação de associação entre município de coleta e ocorrência de hemoglobinopatias, foi aplicado o teste do qui-quadrado de Pearson (χ^2). Quando as premissas deste teste foram violadas, ou seja, quando mais de 20% das células da tabela apresentaram frequência esperada inferior a 5, recorreu-se à aplicação do teste exato de Fisher ou, em tabelas com dimensões superiores a 2x2, o teste de Monte Carlo com 10.000 simulações. Este último foi utilizado como alternativa robusta para estimar valores de significância estatística, assegurando maior confiabilidade aos resultados inferenciais, especialmente em contextos com distribuições de frequência assimétricas. O nível de significância adotado foi de 1% (IC 99%).

Além disso, foi realizada análise de resíduos ajustados padronizados, com o objetivo de identificar quais unidades da hemorrede apresentaram frequências significativamente diferentes do esperado. Valores absolutos de resíduo ≥ 2 foram considerados estatisticamente significativos. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software *IBM SPSS Statistics*®, versão 26.0.

5. RESULTADOS

Foram analisados 88.064 doadores de sangue atendidos pela hemorrede pública do Maranhão ao longo do ano de 2023. Dentre esses, 3.600 indivíduos (4,09%) apresentaram algum tipo de hemoglobinopatia, o que corresponde a uma proporção geral de doadores de 1:24,5, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1: Frequência e proporção dos diferentes tipos de hemoglobinopatias detectadas entre doadores de sangue da hemorrede pública do Maranhão em 2023

Hemoglobinopatias	Casos (n)	%	Proporção ¹	Observações
<i>Hb variantes de cadeia beta</i>				
Hb AS	2.891	3,28	1:30,5	16 casos: ($\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$) e 2 casos: ($-\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$).
Hb AC	523	0,59	1:168,4	1 caso: Hb AC ($\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$).
Hb A/Korle-Bu	36	0,04	1:2.446,2	1 caso: Hb A/Korle-Bu ($\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$).
Hb Korle-Bu/ Korle-Bu	1	0,00	1:88.064,0	-
Hb A/D-Los Angeles	20	0,02	1:4.403,2	1 caso: Hb A/D-LA ($-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$).
Hb A/Hope	6	0,01	1:14.677,3	-
Hb A/Camperdown	5	0,01	1:17.612,8	-
Hb A/O-Arab	1	0,0	1:88.064,0	-
Hb A/Beta variante (inconclusiva)	3	0,0	1:29.354,7	-
<i>Hb variantes de cadeia alfa</i>				
Hb A/G-Philadelphia	8	0,01	1:11.008,0	1 caso: ($\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$).
Hb A/Alfa variante (inconclusiva)	6	0,01	1:14.677,3	-
<i>Hb variantes de cadeia delta</i>				
Hb A/B ₂ ou A ₂ '	1	0,00	1:88.064,0	-
<i>Interações</i>				
Hb SC	1	0,00	1:88.064,0	-
Hb S/Beta ⁺ talassemia (IVS-I-6)	1	0,00	1:88.064,0	-
Hb C/Hope	1	0,00	1:88.064,0	-
Hb C/Alfa variante (inconclusiva)	1	0,00	1:88.064,0	-
<i>Talassemias</i>				
Beta talassemia heterozigota	69	0,08	1:1.276,4	12 casos: CD39 e 57 casos: inconclusivos.
Alfa talassemia heterozigota	4	0,00	1:22.016,0	4 casos: genótipo $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$.
Delta-Beta talassemia heterozigota	3	0,00	1:29.354,7	Mutações não identificadas.
<i>PHHF (Persistência Hereditária de Hb Fetal)</i>				
Hb A/PHHF-2 (ganense)	10	0,01	1:8.806,4	-
Hb A/PHHF-1 (black)	4	0,00	1:22.016,0	-
Hb A/PHHF	5	0,01	1:17.613,0	Ausência das mutações PHHF-1, 2 e 3
Total	3.600		1:24,5	

¹ Proporção calculada com base no total de doadores de sangue no período de estudo (n = 88.064).

As variantes da cadeia β da hemoglobina configuraram a categoria mais prevalente entre as hemoglobinopatias detectadas, com destaque para Hb AS, identificado em 2.891 doadores (3,28%; 1:30,5). Em 18 desses casos, foi observada coerância com α talassemia, sendo 16 doadores com o genótipo $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$ e 2 com $\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$. A segunda variante mais frequente foi a Hb AC, identificada em 523 doadores (0,59%; 1:168,4), incluindo um caso associado ao genótipo $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$.

Entre as demais variantes da cadeia beta, destacaram-se a Hb A/Korle-Bu, identificada em 36 doadores (0,04%; 1:2.446,2), incluindo um caso com o genótipo $\alpha\alpha/\alpha^{3.7}$; a Hb A/D-Los Angeles, com 20 registros (0,02%; 1:4.403,2), entre os quais

um doador apresentou o genótipo $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$; a Hb A/Hope, com 6 casos (0,01%; 1:14.677,3); e a Hb A/Camperdown, com 5 casos (0,01%; 1:17.612,8). Também foram observados 3 casos de Hb A com beta variante inconclusiva (0,00%; 1:29.354,7), sem confirmação molecular definitiva.

Entre as variantes da cadeia alfa, a Hb A/G-Philadelphia foi identificada em 8 doadores (0,01%; 1:11.008,0), incluindo um caso com coerança ao genótipo $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$. Também foram registrados 6 casos de Hb A com alfa variante inconclusiva (0,01%; 1:14.677,3).

No grupo das variantes da cadeia δ , observou-se um único caso de Hb A/B₂ ou A₂', o que corresponde a uma frequência de 0,00% e uma proporção de 1:88.064,0.

Foram também registrados casos únicos de Hb A/O-Arab, Hb Korle-Bu em homozigose, Hb SC, Hb S/ β^+ talassemia com mutação IVS-I-6, Hb C/Hope e Hb C com variante alfa inconclusiva, cada um com frequência de 0,00% e proporção de 1:88.064,0.

No grupo das talassemias, a forma mais prevalente foi a beta-talassemia heterozigota, identificada em 69 doadores (0,08%; 1:1.276,4). Desses, 12 apresentaram mutação CD39, enquanto os demais 57 não tiveram sua alteração molecular definida. A α talassemia heterozigota foi observada em 4 doadores (0,00%; 1:22.016,0), todos com o genótipo $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$. Também foram registrados 3 casos de $\delta\beta$ talassemia heterozigota (0,00%; 1:29.354,7), cujas mutações específicas não foram identificadas.

Em relação à PHHF foram detectados 10 casos da forma ganense, Hb A/PHHF-2 (0,01%; 1:8.806,4), e 4 da forma black, Hb A/PHHF-1 (0,00%; 1:22.016,0). Além disso, 5 doadores apresentaram perfis compatíveis com PHHF, porém sem confirmação das mutações clássicas PHHF-1, PHHF-2 ou PHHF-3 (0,01%; 1:17.613,0).

A caracterização quantitativa das frações de hemoglobinas por HPLC revelou padrões consistentes com os genótipos identificados (Tabela 2). Indivíduos com Hb AS apresentaram, em média, Hb A ($51,69 \pm 1,41\%$), Hb A₂ ($3,67 \pm 0,16\%$), Hb F ($0,54 \pm 0,51\%$) e Hb S ($37,90 \pm 1,30\%$). Entre os casos com coerança com α talassemia heterozigótica, observaram-se concentrações médias de Hb A ($55,25 \pm 3,91\%$), Hb A₂ ($3,55 \pm 0,40\%$), Hb F ($0,61 \pm 0,75\%$) e Hb S ($32,16 \pm 2,10\%$). A diferença mais acentuada entre Hb A e Hb S foi registrada nos homozigotos para a deleção de α

talassemia, com Hb A (61,35%), Hb A₂ (2,85%), Hb F ausente e Hb S (26,23 ± 1,11%). O perfil da Hb AC revelou concentrações médias de Hb A (55,00 ± 3,50%), Hb A₂ (2,80 ± 0,40%), Hb F (0,60 ± 0,70%) e Hb C (36,56 ± 3,94%).

Nos portadores de Hb A/Korle-Bu, observaram-se concentrações médias de Hb A (47,69 ± 0,98%), Hb F (0,31 ± 0,30%) e Hb Korle-Bu (43,45 ± 1,92%), sendo a quantificação da Hb A₂ comprometida devido à coeluição no mesmo tempo de retenção da Hb variante. Perfil semelhante foi verificado em indivíduos com Hb A/D-Los Angeles, que apresentaram Hb A (48,96 ± 1,24%), Hb A₂ (2,70 ± 0,33%), Hb F (0,12 ± 0,24%) e Hb D-Los Angeles (40,87 ± 1,27%), embora também com interferência analítica que compromete a acurácia da quantificação de Hb A₂.

Nas amostras com Hb Hope, foram observadas concentrações médias de Hb A (46,86 ± 1,29%), Hb A₂ (2,62 ± 0,74%) e Hb Hope (43,98 ± 3,99%), sendo a quantificação da Hb F inviabilizada pela sobreposição no tempo de retenção com a Hb variante. Os casos com Hb Camperdown exibiram Hb A (44,80 ± 2,56%), Hb A₂ (2,78 ± 0,47%) e Hb Camperdown (42,64 ± 1,65%), com limitação semelhante na quantificação da Hb F. Em indivíduos com Hb G-Philadelphia, observaram-se médias de Hb A (67,32 ± 3,83%), Hb F (0,14 ± 0,31%) e Hb G-Philadelphia (23,56 ± 1,01%), sendo a quantificação da Hb A₂ inviabilizada devido à coeluição com a fração variante.

Nos indivíduos com β talassemia heterozigota, os perfis cromatográficos revelaram uma elevação característica da Hb A₂ (5,33 ± 0,89%), acompanhada por aumento de Hb F (2,65 ± 2,08%) e redução da Hb A (84,95 ± 1,68%), achados compatíveis com o fenótipo talassêmico. Já entre os portadores de PHHF, foram observadas elevações marcantes de Hb F, com médias de 28,92 ± 1,70% na forma PHHF-2 (ganense), 28,40 ± 5,61% na PHHF-1 (black) e 37,48 ± 9,02% nos casos não caracterizados molecularmente. As concentrações correspondentes de Hb A foram de 61,12 ± 1,56%, 61,00 ± 5,81% e 53,60 ± 7,69%, respectivamente. A Hb A₂ manteve-se dentro da faixa de referência em todos os perfis, com médias de 2,02 ± 0,58%, 1,83 ± 0,45% e 2,58 ± 0,42%.

Tabela 2: Médias e desvios padrão das concentrações de Hemoglobinas em portadores de hemoglobinopatias detectadas na triagem laboratorial

Hemoglobinopatia	(n)	Hb A (%)	Hb A ₂ (%)	Hb F (%)	Hb variante (%)
Hb AS (αα/αα)	2.891	51,69 ± 1,41	3,67 ± 0,16	0,54 ± 0,51	37,90 ± 1,3
Hb AS (αα/-α ^{3.7})	16	55,25 ± 3,91	3,55 ± 0,40	0,61 ± 0,75	32,16 ± 2,10
Hb AS (-α ^{3.7} /-α ^{3.7})	2	61,35	2,85	0	26,23 ± 1,11
Hb AC	523	55,0 ± 3,5	2,8 ± 0,4	0,6 ± 0,7	36,56 ± 3,94
Hb A/Korle-Bu	36	47,69 ± 0,98	0*	0,31 ± 0,30	43,45 ± 1,92
Hb A/D-Los Angeles	20	48,96 ± 1,24	2,70 ± 0,33	0,12 ± 0,24	40,87 ± 1,27
Hb A/Hope	6	46,86 ± 1,29	2,62 ± 0,74	0**	43,98 ± 3,99
Hb A/Camperdown	5	44,80 ± 2,56	2,78 ± 0,47	0**	42,64 ± 1,65
Hb A/G-Philadelphia	8	67,32 ± 3,83	0*	0,14 ± 0,31	23,56 ± 1,01
Beta talassemia heterozigota	69	84,95 ± 1,68	5,33 ± 0,89	2,65 ± 2,08	-
Hb A/PHHF-2	10	61,12 ± 1,56	2,02 ± 0,58	28,92 ± 1,70	-
Hb A/PHHF-1	4	61,00 ± 5,81	1,83 ± 0,45	28,40 ± 5,61	-
Hb A/PHHF	4	53,60 ± 7,69	2,58 ± 0,42	37,48 ± 9,02	-

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Notas:

* A hemoglobina variante eluiu no mesmo tempo da Hb A₂, impossibilitando a sua quantificação.

** A hemoglobina variante eluiu no mesmo tempo da Hb F, impossibilitando a sua quantificação.

A avaliação integrada dos dados cromatográficos e da quantificação das frações, com ênfase nos tempos de retenção relativa (RRT) apresentados na Tabela 3, permitiu uma caracterização mais precisa das variantes raras de hemoglobina. Em casos com cromatogramas atípicos, marcados por tempos de retenção fora do padrão esperado e/ou coeluição com outras frações, a análise foi complementada pela eletroforese em pH alcalino, utilizada como estratégia complementar para identificar o padrão de migração das Hb(s) variantes. Ressalta-se que os tempos de retenção informados correspondem à eluição das frações variantes, cuja identificação depende da comparação com os tempos-padrão fornecidos pelo controle FASCA², adotado como referência no ensaio de HPLC.

A amostra identificada como Hb O-Arab apresentou Hb variante (37,4%) e perfil eletroforético semelhante ao da Hb C. No caso de homozigose para Hb Korle-Bu, observou-se Hb variante (90,7%) com mobilidade eletroforética próxima à da Hb S. A amostra com Hb G-Philadelphia apresentou Hb variante (23,5%), que coeluiu no mesmo tempo da Hb A₂, dificultando sua quantificação precisa, e exibiu perfil eletroforético semelhante ao da Hb AS. Já a amostra com Hb C/Hope apresentou a fração variante com eluição no mesmo tempo da Hb F, impedindo a quantificação da Hb F. Por sua vez, a amostra com Hb C/alfa variante inconclusiva apresentou Hb C

(27,3%), pico correspondente à Hb alfa variante (16,2%) e fração híbrida entre cadeias β C e alfa mutante (12,7%), com múltiplos picos no HPLC.

As amostras com Hb A/Hope e Hb A/Camperdown apresentaram concentrações elevadas da fração variante, de 48,3% e 42,8%, respectivamente. No perfil eletroforético, a Hb A/Hope migrou em posição muito próxima à da Hb A, formando uma banda espessa ligeiramente superior, com aspecto de sobreposição parcial. Por outro lado, a Hb A/Camperdown apresentou banda distinta, nitidamente superior à da Hb A, permitindo sua diferenciação visual. Todas essas informações estão sistematizadas na Tabela 3 e ilustradas cromatograficamente na Figura 5.

Tabela 3: Características cromatográfica e eletroforéticas das hemoglobinas variantes raras identificadas no estudo

Hemoglobina Variante	Genótipo	RRT \ddagger	Perfil Eletroforético # da Hb variante	Hb A (%)	Hb A2 (%)	Hb F (%)	Hb Var. (%)
Hb A/O-Arab	β^A/β^{O-Arab}	C 1,096	Posição da Hb C	48,4	3,5	0,8	37,4
Hb Korle-Bu/Korle-Bu	$\beta^{Korle-Bu}/\beta^{Korle-Bu}$	S 0,959	Posição próxima à Hb S	–	0,0*	0,4	90,7
Hb A/G-Philadelphia	$\alpha^{G\alpha}/\alpha\alpha$	A ₂ 1,025	Posição da Hb S com baixa concentração.	66,1	0,0*	0,0	23,5
Hb C/Hope	β^C/β^{Hope}	F 1.044	Posição próxima a Hb A	-	3,0	51,5**	-
Hb C/Alfa variante	$\alpha^{Variante\alpha}/\alpha\alpha$; $\beta^C\beta^A$	A 0,806	Posição próxima à Hb A, banda em Hb C e banda adicional entre Hb C e Hb S (fração híbrida)	35,2	2,9	1,0	16,2
Hb A/B ₂ (A ₂ ')	δ/δ^{B2}	S 1,015	Não perceptível	89,6	1,6	0,0	1,5
Hb A/Hope	β^A/β^{Hope}	F 1,016	Posição próxima à Hb A	46,7	2,8	48,3**	-
Hb A/Camperdown	$\beta^A/\beta^{Camperdown}$	F 1.231	Posição superior à Hb A	46,9	2,5	0,0	42,8

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Notas:

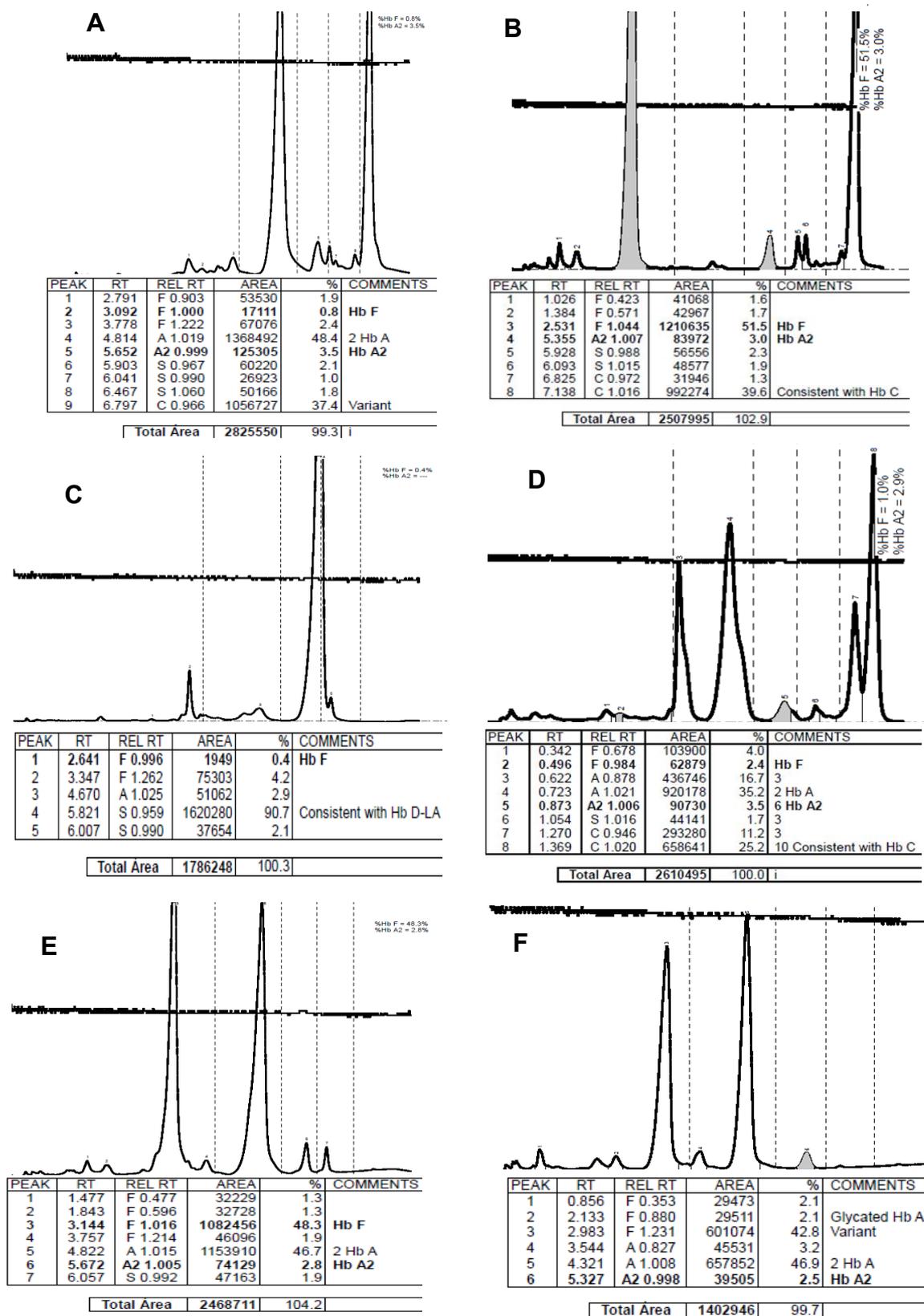
* A Hb variante coeluiu no tempo de retenção da Hb A₂, impedindo as reais concentrações da Hb A₂ e da Hb variante

** A Hb variante coeluiu no tempo de retenção da Hb F, impedindo as reais concentrações da Hb F e da Hb variante

\ddagger Os tempos de retenção informados correspondem à eluição das Hb variantes, cuja identificação depende da comparação com os tempos-padrão do controle FASCA₂

Perfil eletroforético observado em pH alcalino

Figura 5: Perfis cromatográficos das variantes raras de hemoglobina identificadas.



Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Notas: Os cromatogramas foram obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), utilizando o sistema Premier Resolution® (Trinity Biotech). As hemoglobinas variantes estão identificadas conforme segue: (A) Hb A/O-Arab; (B) Hb C/Hope; (C) Hb Korle-Bu/Korle-Bu; (D) Hb C/alfa variante; (E) Hb A/Hope; (F) Hb A/Camperdown.

A avaliação da ocorrência de hemoglobinopatias entre os diferentes hemonúcleos da hemorrede pública do Maranhão revelou variações estatisticamente significativas ($\chi^2 = 156,150$; $gl = 8$; $p < 0,001$), conforme identificado pelo teste do qui-quadrado de Pearson. Esse resultado indica que a distribuição das hemoglobinopatias não ocorre de forma homogênea entre as regiões que localizam os hemonúcleos. A robustez da associação foi confirmada pela razão de verossimilhança ($\chi^2 = 150,007$; $gl = 8$; $p < 0,001$), apontando heterogeneidade real entre as regiões.

A Tabela 4 detalha essas variações: o hemonúcleo de Codó apresentou a maior prevalência de hemoglobinopatias (6,50%), seguido por Balsas (5,63%), Caxias (5,07%), Santa Inês (5,01%) e Pedreiras (4,67%). Imperatriz (4,42%) e Pinheiro (4,11%) apresentaram valores intermediários, enquanto os menores percentuais foram observados em Bacabal (3,84%) e São Luís (3,40%). É importante destacar que a unidade de Bacabal iniciou suas atividades apenas em outubro de 2023, totalizando 573 doações analisadas. Em números absolutos, São Luís concentrou o maior total de doadores com hemoglobinopatias ($n = 1.404$), seguido por Imperatriz ($n = 556$), o que reflete o maior volume de doações processadas nessas localidades.

Tabela 4: Distribuição dos doadores com e sem hemoglobinopatias por hemonúcleo no Maranhão, 2023.

Hemonúcleo	Com hemoglobinopatia (n)	Sem hemoglobinopatia (n)	Total de doadores	% com hemoglobinopatia
Bacabal	22	551	573	3,84%
Balsas	332	5.565	5.897	5,63%
Caxias	292	5.470	5.762	5,07%
Codó	170	2.447	2.617	6,50%
Imperatriz	556	12.012	12.568	4,42%
Pedreiras	221	4.510	4.731	4,67%
Pinheiro	159	3711	3870	4,11%
Santa Inês	314	5.952	6.266	5,01%
São Luís	1.404	39.859	41.263	3,40%

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Notas: Proporções calculadas com base no total de doadores por hemonúcleo.

A análise da distribuição dos fenótipos de hemoglobinas anormais entre os diferentes hemonúcleos foi conduzida com base em seis categorias principais: Hb A/S, Hb A/C, Hb A/D, Hb A/Korle Bu, PHHF e β talassemia. Variantes de frequência extremamente reduzida foram excluídas desta etapa, a fim de garantir a robustez estatística e evitar viés decorrente da fragmentação excessiva das categorias.

Inicialmente, aplicou-se o teste do qui-quadrado de Pearson para verificar a existência de associação entre os fenótipos e os diferentes hemonúcleos. No entanto, observou-se que 54% das células da matriz apresentavam contagens esperadas inferiores a 5, o que compromete a validade desse teste. Por essa razão, foram aplicados testes estatísticos mais robustos, como o teste exato de Fisher e a simulação de Monte Carlo com 10.000 amostras e intervalo de confiança de 99%, os quais confirmaram a associação estatisticamente significativa ($p = 0,003$; IC 99%: 0,001–0,004) (Tabela 5).

Tabela 5: Testes estatísticos para associação entre município e fenótipo

Teste Estatístico	Valor	GI	p (Assintótico)	P (Monte Carlo)	IC 99% Inferior	IC 99% Superior	Observações
χ^2	74.707	36	0.0	0.003	0.001	0.004	27 células (54,0%) com contagem esperada < 5
Razão de verossimilhança	84.807	36	0.0	0.0	0.0	0.0	-
Teste Exato de Fisher	68.001	-	-	0.0	0.0	0.0	Baseado em 10.000 simulações
Nº de Casos Válidos	3484.0	-	-	-	-	-	-

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Nota: A tabela apresenta os valores dos testes de Qui-quadrado de Pearson, razão de verossimilhança e Teste Exato de Fisher, incluindo os respectivos graus de liberdade (gl), significância assintótica e valores obtidos via simulação de Monte Carlo com 10.000 amostras (intervalo de confiança de 99%). Destaca-se que 27 células (54,0%) da análise de Pearson apresentaram contagens esperadas inferiores a 5, o que compromete sua validade; por isso, aplicaram-se testes mais robustos, como Fisher e Monte Carlo, os quais confirmaram a associação estatisticamente significativa ($p < 0,005$).

Considerando-se que 54% das células da matriz apresentaram contagens esperadas inferiores a 5, foi aplicada a correção por meio do teste de Monte Carlo com 10.000 simulações e intervalo de confiança de 99%, o qual confirmou a robustez da associação observada ($p = 0,003$; IC 99%: 0,001–0,004).

Diante da significância global observada, realizou-se a análise dos resíduos ajustados padronizados, com o objetivo de identificar quais combinações específicas entre hemonúcleo e fenótipo mais contribuíram para a heterogeneidade encontrada. Resíduos com $|z| \geq 1,96$ indicam diferença estatisticamente significativa entre a frequência observada e a esperada. Foram observadas frequências superior ao esperado para Hb AC nos hemonúcleos de Codó ($z = 3,3$) e Caxias ($z = 2,5$), Hb AD

em Balsas ($z = 3,2$) e Hb A/Korle Bu em São Luís ($z = 2,3$), enquanto Pinheiro apresentou frequência significativamente inferior para Hb AC ($z = -3,1$), conforme demonstrado na Tabela 6.

Tabela 6: Resíduos ajustados significativos por local e tipo de hemoglobina.

Hemonúcleo	Fenótipo	Resíduo padronizado (z)
Balsas	AD	3.2
Caxias	AC	2.5
Codó	AC	3.3
São Luís	A/Korle Bu	2.3
Pinheiro	AC	-3.1

Fonte: Dados da pesquisa (2023).

Nota: Foram apresentados os resíduos padronizados significativos ($|z| \geq 1,96$). Valores positivos indicam frequência acima da esperada; negativos, abaixo. Esses achados destacam padrões regionais na distribuição das hemoglobinopatias.

A Tabela 5 apresenta a frequência das hemoglobinas variantes observadas no presente estudo em comparação com dados de outras regiões do Brasil, permitindo visualizar a distribuição geral dos principais fenótipos investigados.

Tabela 7: Estudos comparativos sobre hemoglobinopatias no Brasil

Estudo	Localidade	Hemoglobinopatias	Prevalência			Outras (%)
			Hb S (%)	Hb C (%)	Hb D (%)	
Presente estudo	Maranhão	4,09	3,28	0,59	0,04	0,18
Rosenfeld et al. (2019)	Brasil	3,7	2,49	0,04	-	0,03
Vivas et al. (2006)	Aracaju - SE	5,6	4,1	1,4	0,10	0,10
Lisot & Silla (2004) – Caxias do Sul	Caxias do Sul - RS	1,81	0,99	0,16	-	0,66
Reis et al. (2006) – Goiás	Goiás	10,1	2,2	1,00	0,30	6,6
Bahú & Fernandes (2020)	Maringá - PR	1,36*	1,36	-	-	-
Acedo et al. (2002)	Bragança Paulista - SP	1,68*	1,68	-	-	-

Notas: (*) Apenas Hb S foi relatada nesse perfil.

6. DISCUSSÃO

A prevalência global de hemoglobinopatias observada entre os doadores de sangue da hemorrede pública do Maranhão em 2023 foi de 4,09%, o que equivale a uma proporção de 1:24,5 indivíduos triados. Este é o primeiro estudo de abrangência estadual sobre hemoglobinas variantes em doadores no Maranhão, e os resultados obtidos evidenciam não apenas a magnitude epidemiológica dessas alterações genéticas, mas também a presença de perfis atípicos, incluindo casos de doença falciforme em indivíduos doadores, o que impõe preocupações adicionais em termos de triagem clínica e segurança transfusional.

A prevalência de hemoglobinopatias observada no Maranhão (4,09%) é intermediária em relação a outras regiões do Brasil, refletindo a diversidade genética e histórica da população. A Hb S foi a variante mais frequente (3,28%), seguida por Hb C (0,59%), Hb D (0,04%) e outras variantes raras (0,18%). Esses achados são semelhantes aos dados reportados por Rosenfeld *et al.* (2019) para a região Nordeste, onde a prevalência de hemoglobinas anormais alcançou 4,4% entre os recém-nascidos triados, com 3,2% de Hb S e 0,9% de Hb C. Frequência ainda mais elevada foi observada em Aracaju (SE) por Vivas *et al.* (2006), com 5,6% de hemoglobinopatias, predominando Hb S (4,1%) e Hb C (1,4%). Em contraste, Lisot & Silla (2004), em Caxias do Sul (RS), identificaram prevalência significativamente inferior (1,81%), evidenciando a menor contribuição da ancestralidade africana na região. A maior frequência foi registrada em Goiás por Reis *et al.* (2006), com 10,1%, sendo 6,6% classificadas como “outras”, principalmente casos de talassemia α (5,2%). Já nos estados do Sul e Sudeste, como Paraná e São Paulo, os estudos de Bahú & Fernandes (2020) e Acedo *et al.* (2002) realizaram triagem apenas para a presença de Hb S, identificando prevalências de 1,36% e 1,68%, respectivamente. A ausência de dados sobre outras variantes nesses estudos reflete a limitação metodológica, dificultando comparações mais abrangentes com regiões onde a investigação foi mais ampla.

No conjunto dos resultados maranhenses, os perfis de cadeia β predominaram. A Hb AS foi a alteração mais prevalente, observada em 2.891 doadores, com 18 casos em coerância com deleções alfa-talassêmicas (16 com o genótipo $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ e dois com $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$), o que reforça a relevância de triagens moleculares em conjunto com os métodos convencionais. A Hb AC foi identificada em 523 doadores, com um caso

associado à α talassemia. A presença da Hb A/Korle-Bu, encontrada em 36 indivíduos (sendo um com deleção $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$), representa uma das variantes de crescente relevância no contexto brasileiro, exigindo diferenciação rigorosa frente à Hb D-Los Angeles, também detectada (20 casos, incluindo um com $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$), devido à similaridade de mobilidade eletroforética e tempo de retenção no HPLC. Notavelmente, foi identificado um caso de homozigose para Hb Korle-Bu, sendo o primeiro relato de homozigose para Hb Korle-Bu em doador de sangue no Brasil, o que ressalta a necessidade de vigilância epidemiológica e laboratorial mesmo para variantes consideradas de baixa frequência.

Foram ainda detectados casos raros, como Hb A/Hope (n = 6), Hb A/Camperdown (n = 5), Hb A/O-Arab (n = 1), além de combinações pouco frequentes, como Hb SC, Hb S/ β^+ talassemia (mutação IVS-I-6), Hb C/Hope e Hb C/alfa variante. A identificação de um doador com o genótipo Hb SC, condição clinicamente caracterizada como doença falciforme, reforça a urgência de revisões nos critérios de triagem clínica. De modo semelhante, a detecção do caso de Hb S/ β^+ talassemia evidencia limitações na sensibilidade dos protocolos utilizados, uma vez que ambos os perfis representam formas de doença falciforme que, idealmente, deveriam ser identificadas e excluídas do processo de doação.

Entre as variantes de cadeia alfa, destacaram-se os casos de Hb A/G-Philadelphia (8 doadores), sendo um deles em coerância com deleção $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$. No grupo das variantes da cadeia δ , foi registrado um caso de Hb A/B2 ou A2', cuja confirmação foi obtida por biologia molecular. Apesar de rara, essa condição representa um desafio diagnóstico, sobretudo pela sutileza das alterações na fração de Hb A₂, que podem passar despercebidas em análises convencionais.

As talassemias representaram um grupo expressivo entre as hemoglobinopatias detectadas. Foram observados 69 casos compatíveis com β talassemia heterozigota, sendo 12 confirmados pela presença da mutação CD39 e 57 classificados como inconclusivos. Também foram registrados 4 casos de α talassemia homozigota ($-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$) e 3 casos de $\delta\beta$ talassemia heterozigota, todos sem identificação específica da mutação.

Além disso, 19 doadores apresentaram persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF), incluindo 10 casos com o subtipo ganense (PHHF-2), 4 com o subtipo black (PHHF-1) e 5 com perfis não classificados entre os subtipos

descritos.

A análise das concentrações médias das frações de hemoglobina permitiu a caracterização cromatográfica dos fenótipos. Os valores médios observados para Hb A, Hb S e Hb A₂ nos portadores de Hb AS e AC foram compatíveis com os descritos na literatura, refletindo os perfis eletroforéticos típicos dessas heterozigoses. A coerância com deleções α talassêmicas modulou a expressão da Hb variante, com aumento proporcional de Hb A e redução de Hb S, reforçando o papel modulador da α talassemia no fenótipo falciforme (HAKIMI et al., 2013).

As variantes raras identificadas também apresentaram padrões distintos e característicos que permitiram inferências diagnósticas relevantes. A A/Hb Korle-Bu, por exemplo, apresentou uma média de 47,69% de Hb A e 43,45% de Hb variante, com valores residuais de Hb F (0,31%). A ausência de Hb A₂ detectável nesse perfil, reforçando a dificuldade de quantificação dessa fração em alguns casos de variantes estruturais e o diagnóstico diferencial quando associadas a β talassemia.

No caso da Hb A/D-Los Angeles, as médias foram de 48,96% para Hb A, 40,87% para a Hb variante, 2,70% para Hb A₂ e 0,12% para Hb F, valores laboratoriais que, à primeira vista, se assemelham aos observados na Hb Korle-Bu. Ambas as variantes compartilham comportamentos cromatográficos e eletroforéticos muito semelhantes, com migração em posições próximas à Hb S na eletroforese e tempos de retenção semelhantes no HPLC, o que pode levar a interpretações equivocadas na ausência de confirmação molecular. Nessa perspectiva, a diferenciação entre Hb Korle-Bu e Hb D-Los Angeles exige atenção a sutis variações no RRT, além da utilização de técnicas complementares como a biologia molecular.

Entre as variantes estruturais raras identificadas, destacam-se os perfis Hb A/Hope e Hb A/Camperdown, ambos confirmados por biologia molecular. No caso da Hb A/Hope, observaram-se médias de 46,86% para Hb A, 43,98% para a Hb variante e 2,62% para Hb A₂, com ausência de Hb F. Já no perfil Hb A/Camperdown, as médias foram de 44,80% para Hb A, 2,78% para Hb A₂, 0% para Hb F e 42,64% para a Hb variante. Em ambos os casos, as proporções da hemoglobina variante foram superiores a 40%, valor compatível com a heterozigose e coerente com o comportamento esperado para cadeias β com carga elétrica mais negativa.

Segundo Bain (2020), variantes da cadeia β com carga negativa, como Hb J-Iran e Hb J-Baltimore, apresentam maior afinidade pelas cadeias α positivamente

carregadas, favorecendo a formação preferencial da hemoglobina variante e resultando em proporções elevadas dessa fração em heterozigotos. Esse mesmo princípio bioquímico pode explicar os percentuais elevados de Hb Hope e Hb Camperdown observados neste estudo. Em contraste, variantes com cadeias β de carga positiva, como Hb S, Hb C, apresentam menor afinidade pelas cadeias α normais, o que se reflete em proporções inferiores a 40% no HPLC, especialmente quando coexistem com deleções de α talassemia, que reduzem ainda mais a disponibilidade de cadeias α para a formação das hemoglobinas variantes. No entanto, no presente estudo, observou-se que as frações das variantes Hb D-Los Angeles e Hb Korle-Bu apresentaram concentrações ligeiramente superiores a esse patamar, com médias de 40,87% e 43,45%, respectivamente. Esse achado pode ser parcialmente explicado por um fenômeno de coeluição entre a hemoglobina variante e a fração de Hb A₂, levando à superestimação da concentração da variante no traçado cromatográfico.

Entre as demais variantes analisadas, a Hb G-Philadelphia foi identificada em oito doadores, apresentando médias de 67,32% para Hb A, 23,56% para a Hb variante, 0,14% para Hb F e ausência de Hb A₂ detectável. Trata-se de uma variante estrutural da cadeia α , geralmente clinicamente silenciosa, cuja fração costuma estar abaixo de 25%, uma vez que apenas uma das quatro cadeias α normais é substituída. O padrão observado é compatível com a heterozigose para variante α e ressalta a importância da interpretação integrada entre perfil eletroforético e cromatográfico, especialmente devido à possibilidade de migração próxima à Hb S, o que pode gerar dúvidas diagnósticas em triagens sem confirmação molecular.

Já a β talassemia heterozigota foi identificada em 69 doadores, com média de Hb A de 84,95%, Hb A₂ de 5,33% (\pm 0,89) e Hb F de 2,65% (\pm 2,08). A elevação da fração de Hb A₂ é um achado clássico e marcador diagnóstico dessa condição, resultante do aumento compensatório da produção de cadeias delta em resposta à redução da síntese de cadeias β . A presença de Hb F discretamente aumentada em alguns casos também é descrita na literatura e pode refletir variações genéticas moduladoras, como polimorfismos no promotor do gene HBG2 (THEIN, 2004). Por fim, os casos de persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) revelaram elevações expressivas de Hb F, com médias de 28,92% (PHHF-2), 28,40% (PHHF-1) e até 37,48% nos perfis não classificados, associadas a concentrações moderadas de Hb A e baixos níveis de Hb A₂. Esses achados laboratoriais são compatíveis com a

expressão prolongada das cadeias γ no adulto, característica dessa condição benigna, e destacam a importância de diferenciá-la de quadros de $\delta\beta$ talassemia.

Além da caracterização laboratorial, a análise geográfica da distribuição das hemoglobinopatias nos diferentes hemonúcleos revelou padrões heterogêneos que refletem a diversidade genética e histórica das populações locais. A análise da distribuição geográfica das hemoglobinopatias revelou variações significativas entre os diferentes hemonúcleos da rede pública do Maranhão, refletindo a heterogeneidade demográfica, histórica e genética da população estadual. As maiores prevalências percentuais foram registradas nos municípios de Codó (6,50%), Balsas (5,63%), Caxias (5,07%) e Santa Inês (5,01%), valores que superam a média geral do estado (4,09%). Essas regiões, localizadas predominantemente nas regiões Leste e Sul do Maranhão, apresentam histórico de formação populacional com contribuição afrodescendente significativa, além de áreas quilombolas reconhecidas, especialmente no entorno de Codó e Caxias, o que pode justificar a maior frequência de variantes como Hb S e Hb C nesses territórios (IBGE, 2022).

O município de Imperatriz, responsável por uma das maiores amostras analisadas ($n = 12.568$), apresentou prevalência de 4,42%, ligeiramente acima da média estadual. Por sua vez, Pedreiras (4,67%) e Pinheiro (4,11%) também apresentaram taxas discretamente superiores à média, o que indica uma distribuição ampla, mas não uniforme, das hemoglobinas variantes. Esses dados corroboram a ideia de que as hemoglobinopatias estão presentes de forma relevante em todas as regiões do estado, embora com concentração mais elevada em determinadas microrregiões.

Destaca-se que o município de São Luís, apesar de concentrar o maior número absoluto de casos ($n = 1.404$), apresentou a menor proporção relativa de hemoglobinopatias (3,40%), o que pode estar relacionado ao perfil mais miscigenado da população urbana da capital e ao maior controle clínico na triagem de doadores. Ainda assim, o volume expressivo de casos reforça a importância da capital como polo de diagnóstico e monitoramento das hemoglobinopatias.

O município de Bacabal, com prevalência de 3,84%, foi o único, além da capital, a apresentar valor inferior à média estadual. No entanto, esse dado deve ser interpretado com cautela, uma vez que o hemonúcleo iniciou suas atividades apenas nos últimos três meses do período avaliado, o que resultou em um volume amostral reduzido ($n = 573$) e possivelmente não representativo da realidade populacional local.

Essa limitação temporal pode ter impactado na detecção das hemoglobinopatias, especialmente em um contexto onde a diversidade genética da região ainda está sendo mapeada.

A análise global do teste qui-quadrado confirmou a existência de associação estatisticamente significativa entre os hemonúcleos de coleta e os fenótipos de hemoglobinopatias, a análise dos resíduos ajustados padronizados permitiu identificar quais pares específicos contribuíram mais intensamente para essa associação.

O município de Balsas apresentou um resíduo significativamente positivo ($z = 3,2$) para o fenótipo Hb AD, indicando uma frequência superior ao esperado dessa variante na região. Esse achado pode estar relacionado a aspectos demográficos e históricos específicos do município, que é reconhecido como um importante polo agrícola da região Sul do Maranhão. Nas últimas décadas, Balsas recebeu fluxos migratórios intensos de famílias oriundas das regiões Sul e Sudeste do Brasil, especialmente do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, atraídas pelas oportunidades geradas pela expansão da agricultura mecanizada e da produção de grãos em larga escala, como soja e milho (IBGE, 2017; FAPEMA, 2021). Esse movimento migratório pode ter contribuído para a introdução de variantes estruturais da hemoglobina associadas a perfis genéticos distintos da ancestralidade afrodescendente predominante em outras regiões do estado, como é o caso da Hb D-Los Angeles, cuja ocorrência tem sido documentada em populações miscigenadas com ancestralidade europeia (BAIN, 2006). No Brasil, essa variante tem sido relatada com maior frequência nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, incluindo estados como São Paulo, Goiás e Minas Gerais, reforçando a hipótese de que a migração inter-regional tenha influenciado a variabilidade genética local (REIS *et al.*, 2006; SANTOS *et al.*, 2010). Portanto, a concentração anormal de Hb AD em Balsas pode refletir uma diversidade genética ampliada por migração interna, com repercussões diretas na distribuição dos fenótipos entre os hemonúcleos maranhenses.

Já Caxias ($z = 2,5$) e Codó ($z = 3,3$) apresentaram resíduos positivos para o fenótipo Hb AC, evidenciando uma frequência significativamente superior ao esperado desse traço nesses municípios. Tais resultados são consistentes com a presença de comunidades afrodescendentes e quilombolas bem estabelecidas nessas localidades.

Por outro lado, o município de Pinheiro apresentou um resíduo padronizado negativo significativo para o fenótipo Hb AC ($z = -3,1$), indicando que essa variante esteve sub-representada em relação ao valor esperado. Esse achado pode estar

relacionado a características demográficas recentes do município, que vem se consolidando como uma cidade universitária na região da Baixada Maranhense. A presença da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) e a instalação de outros centros educacionais têm atraído professores, estudantes e profissionais de saúde oriundos de diferentes regiões do estado e do país, o que pode ter influenciado a composição genética local (UFMA, 2023). Esse processo de migração acadêmica e profissional pode ter diluído a frequência de variantes mais comuns na população nativa, como a Hb C, gerando um perfil genético mais diversificado e, conseqüentemente, com menor prevalência relativa de determinados fenótipos. Esse dado reforça a necessidade de considerar fatores migratórios e socio-educacionais recentes ao interpretar padrões epidemiológicos regionais, especialmente em municípios em transformação demográfica.

A acurácia na triagem e caracterização das hemoglobinopatias depende diretamente da qualidade e integração das metodologias laboratoriais empregadas, bem como da eficácia dos critérios clínicos e hematológicos aplicados na triagem de doadores. Neste estudo, a triagem laboratorial foi realizada principalmente por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), com utilização complementar da ELH de hemoglobinas em pH alcalino e, em casos selecionados, aplicação de biologia molecular para confirmação diagnóstica.

A HPLC foi fundamental para a quantificação precisa das frações de hemoglobina e para a detecção de variantes com tempos de retenção específicos, como Hb A₂, Hb F e diversas hemoglobinas estruturais. Sua elevada sensibilidade analítica permitiu a caracterização de fenótipos como PHHF, β talassemia heterozigota, heterozigoses compostas para Hb variantes. No entanto, apesar de sua robustez, o HPLC apresenta limitações técnicas importantes, especialmente em situações de coeluição entre frações, que podem dificultar a diferenciação entre hemoglobinas estruturalmente semelhantes, como Hb D-Los Angeles, Hb Korle-Bu. Nesses casos, a interpretação isolada do cromatograma pode induzir a erros classificatórios, ressaltando a importância da análise integrada com dados moleculares e clínico-epidemiológicos.

Essa limitação se acentua diante de genótipos como Hb SD e Hb S/Korle-Bu, que, embora apresentem perfis laboratoriais semelhantes, possuem repercussões clínicas contrastantes. O genótipo Hb SD é uma forma reconhecida de doença falciforme, associada a complicações como crises vaso-oclusivas e anemia hemolítica

(KATO *et al.*, 2018), enquanto Hb S/Korle-Bu é considerada uma combinação clinicamente benigna (WENDEL *et al.*, 2016). Nessas situações, o uso complementar da biologia molecular é fundamental para assegurar a precisão diagnóstica.

Adicionalmente, os achados deste estudo evidenciaram fragilidades nos protocolos convencionais de triagem clínica e hematológica de doadores, especialmente aqueles baseados em testes rápidos, como a determinação do hematócrito e a dosagem indireta da hemoglobina por hemoglobinômetro. Embora esses métodos cumpram seu propósito principal de avaliar o risco de anemia no doador, eles não são capazes de identificar indivíduos com distúrbios qualitativos e quantitativos das frações de hemoglobina, como ocorre nas hemoglobinopatias estruturais ou nas talassemias. Assim, doadores com genótipos clinicamente relevantes podem apresentar níveis de Hb ou hematócrito dentro da faixa de normalidade, sendo considerados aptos à doação mesmo em situações que poderiam comprometer a segurança transfusional.

Essa limitação é evidenciada pela identificação, neste estudo, de um doador com Hb SC e outro com Hb S/ β^+ talassemia (mutação IVS-I-6), perfis laboratoriais compatíveis com doença falciforme, mas não detectados pela triagem clínica convencional. Além disso, a acurácia dos testes de triagem depende de calibração frequente e da execução rigorosa de controles de qualidade internos e externos, práticas que nem sempre são mantidas de forma sistemática na rotina dos serviços hemoterápicos. Variações na calibração ou falhas na aferição podem acarretar classificações equivocadas do perfil hematológico do doador, afetando a confiabilidade dos dados e a triagem segura.

Diante dessas limitações observadas nos métodos convencionais de triagem, torna-se evidente a necessidade de aprimoramento dos protocolos adotados pelos serviços hemoterápicos, especialmente considerando os potenciais riscos transfusionais envolvidos. A presença de genótipos clinicamente relevantes entre os doadores, como Hb SC e Hb S/ β^+ talassemia, reforça a urgência de estratégias mais sensíveis e específicas para a detecção de hemoglobinopatias, uma vez que a transfusão de hemocomponentes provenientes desses indivíduos pode comprometer significativamente a segurança de receptores vulneráveis, como pacientes com anemias crônicas.

Adicionalmente, os marcos regulatórios vigentes no Brasil também representam uma limitação à triagem mais abrangente. A Portaria de Consolidação nº

5/2017 do Ministério da Saúde, em seu Anexo IV, estabelece a obrigatoriedade da triagem apenas para a presença da hemoglobina S nos candidatos à doação de sangue, negligenciando outras variantes estruturais e formas de talassemia que também podem impactar a segurança transfusional. Essa diretriz restrita pode levar à subnotificação de perfis clinicamente relevantes, como Hb C, Hb D ou β talassemia menor, especialmente em populações com alta diversidade genética. A ausência de exigência normativa para investigação de hemoglobinas anormais além da Hb S compromete tanto o rastreamento adequado de doadores quanto a vigilância epidemiológica, limitando a implementação de medidas mais efetivas de prevenção de riscos transfusionais.

A biologia molecular, nesse sentido, emerge como ferramenta imprescindível para a confirmação diagnóstica de casos duvidosos e a caracterização precisa de mutações estruturais ou talassêmicas, sobretudo em genótipos compostos ou variantes raras. Além de sua importância clínica, essa abordagem tem implicações diretas na formulação de políticas públicas mais eficazes, baseadas em dados moleculares robustos e contextualizados.

A implementação de núcleos de diagnóstico molecular integrados à rede pública de hemocentros poderia atuar tanto no suporte diagnóstico quanto na vigilância epidemiológica, especialmente em municípios do interior do estado, onde o acesso a exames laboratoriais especializados e políticas públicas de saúde é mais limitado, comprometendo a detecção precoce e o acompanhamento adequado das hemoglobinopatias.

Adicionalmente, é importante destacar que a obrigatoriedade da triagem neonatal para hemoglobinopatias no Brasil foi estabelecida apenas em 2001, por meio da Portaria GM/MS nº 822. Como consequência, muitos indivíduos nascidos antes dessa regulamentação podem desconhecer sua condição genética, permanecendo sem diagnóstico mesmo quando portadores de variantes clinicamente relevantes, o que aumenta o risco de serem considerados aptos à doação em situações incompatíveis com a segurança transfusional. Nesse contexto, o rastreio realizado em doadores de sangue representa não apenas uma medida de proteção transfusional, mas também uma oportunidade valiosa de diagnóstico tardio, especialmente em áreas com cobertura neonatal limitada.

Essa estratégia pode funcionar como uma importante ferramenta de vigilância genético-populacional, sobretudo em municípios do interior do Maranhão, onde o

acesso a exames especializados e a políticas públicas estruturadas é mais restrito. Para que essa abordagem seja efetiva, é fundamental o investimento em políticas públicas voltadas à capacitação técnica das equipes, fortalecimento da infraestrutura laboratorial e informatização dos bancos de sangue, de modo a garantir a integração de dados e o aprimoramento contínuo das ações em saúde pública.

Diante dos achados apresentados, este estudo reafirma a relevância das hemoglobinopatias como um problema de saúde pública no Maranhão e evidencia a complexidade diagnóstica envolvida na triagem de doadores de sangue em regiões de elevada diversidade genética.

7. CONCLUSÃO

Este estudo identificou prevalência de 4,09% de hemoglobinopatias entre doadores de sangue da hemorrede pública do Maranhão, com predominância das heterozigoses para Hb S e Hb C, e ocorrência significativa de β -talassemia e Hb Korle-Bu. Também foram detectadas outras variantes, como Hb D-Los Angeles, Hb Hope, Hb O-Arab, Hb Camperdown, Hb G-Philadelphia e Hb A₂'. A integração de análises cromatográficas, eletroforéticas e moleculares foi decisiva para elucidar genótipos raros, identificar combinações complexas, incluindo coerança com α talassemia e diferenciar variantes estruturalmente semelhantes.

A distribuição regional revelou padrões associados à ancestralidade e a fluxos migratórios, com destaque para prevalências elevadas em municípios como Codó, Balsas e Caxias. A detecção de doadores com doença falciforme aptos à doação expôs limitações da triagem vigente, reforçando a necessidade de ampliar o rastreamento para além da Hb S e incluir outras variantes clinicamente relevantes.

Assim, os achados contribuem de forma inédita para o conhecimento epidemiológico das hemoglobinopatias no Maranhão e indicam a importância de fortalecer protocolos diagnósticos, expandir o uso da biologia molecular e adequar políticas transfusionais às particularidades genéticas regionais, visando maior segurança e equidade no atendimento hemoterápico.

REFERÊNCIAS

ACEDO, L. B. *et al.* Programa comunitário de hemoglobinopatias: abordagem populacional a partir de doadores de sangue de Bragança Paulista, São Paulo, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(6):1597–1601, 2002. DOI: 10.1590/S0102-311X2002000600015.

ARAGÃO, J. F.; BARROS, M. L. A migração sulista e a expansão da fronteira agrícola no Maranhão: uma análise da formação do território agrícola no Sul do estado. *Revista Cerrados*, Uberlândia, v. 11, n. 2, p. 78–94, 2013.

BAHÚ, A. C. F.; FERNANDES, T. A. Prevalência de hemoglobina S em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Maringá. *Revista Saúde e Pesquisa*, Maringá, v. 13, n. 4, p. 787–794, 2020. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/7416>. Acesso em: 13 jul. 2025.

BAIN, B. J. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 2. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2006.

BAIN, B. J. *Haemoglobinopathy Diagnosis*. 3. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2020.

BARRETT, A. N.; SAMINATHAN, R.; CHOOLANI, M. Thalassaemia screening and confirmation of carriers in parents. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, [S.l.], v. 39, p. 27–40, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2016.12.001>.

BELINI JUNIOR, E. *et al.* Diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias estruturais: abordagem prática e interpretação de resultados. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 36, n. 5, p. 329–336, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2014.08.001>.

BONINI-DOMINGOS, C. R. *Electrophoresis of hemoglobins on cellulose acetate: method and interpretation*. São José do Rio Preto: Laboratório de Hemoglobinopatias, IBILCE/UNESP, 2006.

BONINI-DOMINGOS, C. R. *Hemoglobinopatias e Talassemias: Estudos Moleculares, Bioquímicos, Clínicos e Laboratoriais*. São José do Rio Preto: Editora HN, 2011.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual para o Sistema Nacional de Hemovigilância no Brasil – versão 2022*. Brasília, DF: ANVISA, 2022. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/fiscalizacao-e-monitoramento/hemovigilancia/sistema-nacional/arquivos/Manual_de_Hemovigilancia__dez221.pdf. Acesso em: 6 jul. 2025.

BRASIL. Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA). *Cadastro das comunidades quilombolas certificadas*. Brasília: INCRA, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/incra>. Acesso em: 8 maio 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *RDC nº 508, de 27 de maio de 2021*. Dispõe sobre as Boas Práticas em Células Humanas para Uso. Diário Oficial da União, 27 maio 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual técnico: diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias*. Brasília: Ministério da Saúde, 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 34, de 11 de junho de 2014*. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 37, 12 jun. 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de doenças mais importantes, por razões étnicas, na população brasileira afrodescendente*. Brasília: Ministério da Saúde, 2021. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_eticas.pdf. Acesso em: 8 maio 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Orientações para diagnóstico e tratamento das Talassemias β* . Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_diagnostico_tratamento_talasseмии_β.pdf. Acesso em: 8 maio 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017*. Consolida as normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Anexo IV – Portaria nº 158/2016. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 512, 3 out. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria GM/MS nº 158, de 4 de fevereiro de 2016*. Regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 5 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria GM/MS nº 822, de 6 de junho de 2001*. Institui o Programa Nacional de Triagem Neonatal. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 7 jun. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria nº 1.353, de 13 de junho de 2011*. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos Hemoterápicos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 42, 14 jun. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016*. Aprova o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 24, 5 fev. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria nº 822, de 6 de junho de 2001*. Institui o Programa Nacional de Triagem Neonatal – PNTN. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 48, 7 jun. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Resolução CNS nº 715, de 20 de julho de 2023*. Estabelece as diretrizes para o Plano Nacional de Saúde 2024–2027, incluindo ações voltadas à atenção integral às pessoas com hemoglobinopatias. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, 21 jul. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/sctie/dapes/saude-da-populacao-negra>. Acesso em: 6 jul. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas e Estratégicas. *Triagem Neonatal: situação atual*. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br>. Acesso em: 8 maio 2025.

CALVO-GONZÁLEZ, E. A. *A população afrodescendente e o desafio da equidade em saúde no Brasil*. *Revista Saúde em Debate*, Rio de Janeiro, v. 41, n. 112, p. 19–29, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-1104201711202>.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A. A importância da triagem laboratorial na prevenção da doença falciforme e outras hemoglobinopatias. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 203–206, 2007.

CHONG, S. S. *et al.* A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for alpha-thalassemia. *Blood*, New York, v. 95, n. 1, p. 360–362, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V95.1.360>.

COELHO, A. B. *et al.* Custo da doença falciforme no Brasil: uma análise para o sistema público de saúde. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 54, p. 114, 2020. DOI: <https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2020054002455>.

COX, T. M.; ROPER, D. Hemoglobinopathies. In: HOFFBRAND, A. V. *et al. et al. Essential Haematology*. 8. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021. p. 126–148.

CUNHA, M. L. R. S. *Biologia molecular: fundamentos e aplicações nas ciências da saúde*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

FAKHER, R. *et al.* Detection of α thalassemia deletion using multiplex PCR in an Iranian population. *Iranian Journal of Public Health*, Tehran, v. 36, n. 4, p. 70–74, 2007.

FONSECA, S. F.; SILVA, F. A. Importância do diagnóstico diferencial entre talassemia e outras causas de microcitose: uma revisão. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 236–240, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.06.004>.

FRANÇA, E. M. Agricultura e reconfiguração territorial no cerrado maranhense: dinâmicas da fronteira agrícola em Balsas. *Revista NERA*, Presidente Prudente, v. 25, n. 58, p. 360–383, 2022. DOI: <https://doi.org/10.47946/rnera.v25i58.8044>.

FRANGOS, E. *et al.* Exagamglogene autotemcel for transfusion-dependent β -thalassemia and sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 390, n. 9, p. 823-835, 2024. DOI: 10.1056/NEJMoa2312493.

ATAGA, K. I. *et al.* Crizanlizumab for the prevention of pain crises in sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 376, n. 5, p. 429-439, 2017. DOI: 10.1056/NEJMoa1611770.

VICHINSKY, E. *et al.* A phase 3 randomized trial of voxelotor in sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 381, n. 6, p. 509-519, 2019. DOI: 10.1056/NEJMoa1903212.

FREITAS, M. P. S. *et al.* Prevalência de hemoglobinas anormais em adultos no Brasil: resultados da Pesquisa Nacional de Saúde, 2014–2015. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 22, supl. 2, e190007, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1980-549720190007.supl.2>. Acesso em: 24 jun. 2025.

GLOBAL BURDEN OF DISEASE COLLABORATIVE NETWORK. *Global Burden of Disease Study 2021 (GBD 2021): Burden and Strength of Evidence by Risk Factor 1990–2021*. Seattle, WA: Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME), 2024. Disponível em: <https://ghdx.healthdata.org/record/ihme-data/gbd-2021-burden-by-risk-1990-2021>. Acesso em: 14 maio 2025. DOI: [10.6069/gd60-d685.IHME+3](https://doi.org/10.6069/gd60-d685.IHME+3)

GOMES, M. C. A. *et al.* Prevalência de hemoglobinas anormais em comunidades quilombolas do estado do Tocantins. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 41, n. 3, p. 249–254, 2012. DOI: <https://doi.org/10.5216/rpt.v41i3.19010>.

HAKIMI, A.; BELISARIO, A. R.; SILVA, C. M. da *et al.* *Alpha-thalassemia in patients with sickle cell disease: effect on hematological and clinical parameters*. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São José do Rio Preto, v. 35, n. 5, p. 349–353, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5581/1516-8484.20130101>. Acesso em: 13 jul. 2025.

HOFFBRAND, A. V. *et al.* *Essential Haematology*. 8. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2021.

HOPPE, C. An update on the use of hydroxyurea in children with sickle cell disease. *Pediatric Drugs*, Basel, v. 11, n. 3, p. 177–181, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2165/00148581-200911030-00002>.

HOPPE, C. Diagnostic work-up of hemoglobinopathies in the newborn period. *Clinical Chemistry*, Washington, v. 55, n. 9, p. 1583–1590, 2009.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Censo Demográfico 2022: População e domicílios – Primeiros resultados*. Rio de Janeiro: IBGE, 2022. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 8 maio 2025.

IMESC – INSTITUTO MARANHENSE DE ESTUDOS SOCIOECONÔMICOS E CARTOGRÁFICOS. *Perfil socioeconômico dos municípios da Região do Pindaré*. São Luís: IMESC, 2022. Disponível em: <http://www.imesc.ma.gov.br>. Acesso em: 8 maio 2025.

KATO, G. J. *et al.* Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*, London, v. 4, p. 18010, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>.

KATO, G. J.; GLADWIN, M. T. Sickle cell disease: new opportunities for therapy and research. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 22, n. 4, p. 639–662, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18675245/>. Acesso em: 14 maio 2025. PMID: 18675245.

LAVOURAS, N. J. *Hemoglobinopatias: da triagem neonatal ao diagnóstico molecular*. São Paulo: Atheneu, 2017.

LISOT, José Frederico; SILLA, Lúcia Maria da Silva. *Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana*. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 6, p. 1595–1601, nov./dez. 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/csp/a/PKNXcRS86BCrk9k6P67H8mM/>. Acesso em: 13 jul. 2025.

LISOT, R. M.; SILLA, L. M. R. Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 26, n. 3, p. 187–192, 2004. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/QJMpQvgpcL99nDgTf6Yvrhx/?lang=pt>. Acesso em: 13 jul. 2025.

LOPES, F. M. *et al.* Prevalência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos do Maranhão. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 33, n. 6, p. 436–440, 2011.

MARTINS, D. F. Agricultura, agropecuária e transformação territorial: o papel de Caxias na dinâmica regional maranhense. *Revista Geo UERJ*, Rio de Janeiro, n. 35, p. e12899, 2019. DOI: <https://doi.org/10.12957/geouerj.2019.12899>.

MELO-REIS, P. R. *et al.* Análise da distribuição das hemoglobinas anormais em recém-nascidos de Salvador, BA. *Jornal de Pediatria*, Porto Alegre, v. 82, n. 4, p. 285–288, 2006.

MINON, J. M. *et al.* Risks of transfusion from donors with unrecognized beta-thalassemia trait: clinical implications and laboratory challenges. *Transfusion Medicine Reviews*, Philadelphia, v. 33, n. 3, p. 187–193, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tmr.2019.02.003>.

MODELL, B.; DUNN, D. Serious haemoglobin disorders: global burden and health policy. *World Health Organization Bulletin*, Geneva, v. 94, n. 7, p. 479–487, 2015. DOI: <https://doi.org/10.2471/BLT.14.148460>.

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger – Princípios de Bioquímica*. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.

NUNES, K. *et al.* Admixture's impact on Brazilian population evolution and health. *Science*, v. 388, n. 6648, ead13564, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.adl3564>.

OLIVEIRA, J. L. de. Análise molecular de portadores de α talassemia identificados por triagem hematológica e HPLC em Salvador–BA. 2015. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2015.

OLIVEIRA, R. A. G. *et al.* Perfil hematológico de doadores de sangue com hemoglobinas variantes. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 49, n. 1, p. 48–56, 2020.

OLIVEIRA, R. L. C. A cidade e a metrópole: migrações e urbanização em São Luís do Maranhão. *Cadernos Metrópole*, São Paulo, v. 19, n. 39, p. 631–648, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/2236-9996.2017-3911>.

PANDEY, S.; CHANDRA, J. Variants of hemoglobin and their clinical significance: a review. *Annals of Hematology*, Berlin, v. 92, n. 3, p. 261–271, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00277-012-1589-5>.

PANICHELLA, M. L. M. *et al.* Coinheritance of β thalassemia and δ -thalassemia in the Brazilian population. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 290–294, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2019.03.006>.

PIEL, F. B. *et al.* The global epidemiology of haemoglobinopathies: past, present and future. *Nature Reviews Genetics*, London, v. 24, n. 4, p. 213–230, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41576-023-00616-3>.

POLAINAS, R. F. Aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) no diagnóstico das hemoglobinopatias. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, v. 53, n. 1, p. 50–55, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20170009>.

REIS, M. G. *et al.* Caracterização molecular das hemoglobinas variantes em uma população miscigenada do Brasil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 123–127, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842010005000015>.

REIS, M. G. *et al.* Prevalência de talassemias e hemoglobinas variantes no estado de Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 95–100, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/TTcdvRxSZMHXMPZJprV43D/?lang=pt>. Acesso em: 13 jul. 2025.

ROSENFELD, L. G. *et al.* Triagem neonatal para hemoglobinopatias no Brasil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 41, supl. 1, p. 17–22, 2019. DOI: [10.1590/1980-549720190007.supl.2](https://doi.org/10.1590/1980-549720190007.supl.2)

SABATH, D. E. *et al.* Molecular diagnosis of thalassemia. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, Philadelphia, v. 31, n. 2, p. 251–263, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.11.002>.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2. ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANTIAGO, A. P. *et al.* Triagem neonatal para hemoglobinopatias no Maranhão: análise da cobertura e dos resultados de 2014. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 40, n. 2, p. 144–149, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2018.01.002>.

SANTOS, M. N.; LIMA, C. S. P.; GONÇALVES, M. S. Hemoglobinas variantes: avaliação de casos identificados fora do Programa Nacional de Triagem Neonatal. *Revista Ciências da Saúde*, Brasília, v. 10, n. 1, p. 13–19, 2010.

SARAF, S. L. *et al.* Differences in the clinical and genotypic presentation of sickle cell disease around the world. *Blood Reviews*, 41:100643, 2020. DOI: [10.1016/j.blre.2019.100643](https://doi.org/10.1016/j.blre.2019.100643)

SHANG, X. *et al.* Molecular characterization of thalassemia and hemoglobinopathy in Southeast China. *American Journal of Hematology*, Hoboken, v. 92, n. 3, p. E36–E38, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/ajh.24608>.

SIEGEL, S. E.; LYON, J. A. Screening blood donors for hemoglobinopathies: clinical rationale and ethical considerations. *Transfusion*, Bethesda, v. 53, n. 5, p. 1128–1134, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/trf.12155>.

SILVA FILHO, J. L. *et al.* Frequência das principais mutações da β talassemia em pacientes atendidos em serviço de referência no sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 44, n. 1, p. e20220065, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2022.100065>.

SILVA, A. R. B. *et al.* Diagnóstico molecular das hemoglobinopatias: uma abordagem integrada com métodos de triagem convencionais. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 49, n. 4, p. 457–464, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5216/rpt.v49i4.57848>.

SILVA, A. R. B. *et al.* Perfil hematológico de comunidades quilombolas no Tocantins. *Revista de Patologia Tropical*, Goiânia, v. 46, n. 4, p. 440–449, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5216/rpt.v46i4.49142>.

SILVA, F. B. Migrações, transformações socioespaciais e modernização conservadora em Balsas/MA. *Revista Caderno CRH*, Salvador, v. 29, n. 76, p. 495–509, 2016. DOI: <https://doi.org/10.9771/ccrh.v29i76.16334>.

SILVA, L. N. R. *et al.* Importância do diagnóstico molecular em hemoglobinopatias: análise de casos não esclarecidos por métodos convencionais. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 44, e20220065, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2022.100065>.

SOARES, C. A. *et al.* Prevalência de hemoglobinas anormais em doadores de sangue do Hemocentro de Teresina – Piauí. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 31, n. 5, p. 335–338, 2009.

SOARES, L. F. *et al.* Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas do Piauí. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22(11):3773–3780, 2017. DOI: 10.1590/1413-812320172211.19202017.

THEIN, S. L. *Genetic insights into the clinical diversity of β thalassaemia*. *British Journal of Haematology*, Oxford, v. 124, n. 3, p. 264–274, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2003.04755.x>. Acesso em: 13 jul. 2025.

THOM, C. S. *et al.* Fetal hemoglobin and the β globin locus: balancing gene regulation and chromosome structure. *Blood*, v. 121, n. 17, p. 3333–3341, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2012-12-453100>.

THOMPSON, M. W.; THOMPSON, R. H. S.; THOMPSON, J. S. *Genética médica*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

TORRES, L. S. *et al.* Caracterização molecular da hemoglobina D e variantes raras em população miscigenada. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 38, n. 1, p. 25–30, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjhh.2015.08.006>.

UFMA – UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO. *Campus de Pinheiro – Histórico e estrutura*. São Luís: UFMA, 2023. Disponível em: <https://www.ufma.br>. Acesso em: 8 maio 2025.

VIVAS, W. L. *et al.* Frequência de hemoglobinas anormais em doadores de sangue de Aracaju, SE. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 120–122, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbhh/a/8b9mJ3pk7LxvQ3LLzDnznkg/?lang=pt>. Acesso em: 13 jul. 2025.

WALKER, R. H. Transfusion support in patients with hemoglobinopathies. *Transfusion Medicine Reviews*, Philadelphia, v. 14, n. 3, p. 227–235, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1053/tmr.v.2000.8426>.

WATKINS, M. L. *et al.* Transfusion considerations in sickle cell disease: blood donor hemoglobin variants and beyond. *British Journal of Haematology*, Hoboken, v. 202, n. 6, p. 995–1003, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/bjh.19523>.

WEATHERALL, D. J. The inherited disorders of hemoglobin: an increasingly neglected global health burden. *Indian Journal of Medical Research*, New Delhi, v. 134, n. 4, p. 493–497, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3237232/>. Acesso em: 8 maio 2025.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Haemoglobinopathies: Report by the Secretariat*. Geneva: WHO, 2021. Disponível em: <https://www.who.int>. Acesso em: 8 maio 2025.

YAWN, B. P.; BUCHANAN, G. R. Management of sickle cell disease: summary of the 2014 evidence-based report. *American Family Physician*, v. 90, n. 8, p. 621–629, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25203083/>. Acesso em: 14 maio 2025. PMID: 25203083.

Apêndice 1 – Documento de aprovação do Comitê de Ética da UFMS com justificativa para dispensa do TCLE, conforme parecer nº 6.782.645



Continuação do Parecer: 6.782.645

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	JUSTIFICATIVA_DE_AUSENCIA_TCLE.pdf	19/12/2023 18:34:29	EDIS BELINI JUNIOR	Aceito
Orçamento	Orcamento.pdf	19/12/2023 18:13:54	EDIS BELINI JUNIOR	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 23 de Abril de 2024

Assinado por:

Marisa Rufino Ferreira Luizari
(Coordenador(a))

Apêndice 2 - Fluxograma do protocolo diagnóstico para investigação de hemoglobinas variantes a partir de HPLC

