# Diagnóstico de Doenças Hematológicas através do Estudo de Biologia Molecular e Técnicas Hematológicas especializadas

Elisângela Adorno (Professora, UFBA, Orientadora)
Tamires Argôlo de Araújo (Estudante de graduação, UFBA, bolsista PIBIEX)

**Faculdade de Farmácia - Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil**

## INTRODUÇÃO

A Faculdade de Farmácia da UFBA recebe pacientes que utilizam o SUS (Sistema Único de Saúde), onde se encontram os laboratórios: de Parasitologia, Bioquímica Clínica, Imunologia-SIDI (Serviço de Imunologia de Doenças Infecciosas), Imunologia-Dilda (Diagnóstico Laboratorial de Doenças Auto-imunes, Microbiologia, Hematologia Clínica que recebe de 150 a 200 pacientes diariamente.

O laboratório de Hematologia Clínica realiza exames como hemograma completo, contagem de reticulócitos, VHS (velocidade de hemossedimentação), TP (tempo de protombina), TTPA (Tempo de tromboplastina parcial ativada), e o laboratório de Hematologia especializada onde são realizados exames de eletroforese de hemoglobina, teste de fragilidade osmótica, teste de HAM (teste da hemólise do soro acidificado) e sacarose, deficiência de G6PD (glucose-6-fosfato desidrogenase) e são utilizadas também técnicas de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase).

Durante todo o projeto, Existiu a supervisão, acompanhamento e treinamento pelos docentes presentes, e há um(a) técnico(a) para acompanhar as atividades de rotina do laboratório. Assim, os laboratórios da Faculdade de Farmácia, juntamente com os professores, funcionários e estudantes de graduação e pós-graduação prestam um serviço de saúde de qualidade à comunidade, oferecendo exames de média a alta complexidade.

## OBJETIVO(S)

* Avaliação da aplicabilidade da Biologia Molecular no diagnóstico e classificação de doenças hematológicas;
* Estudo dos princípios gerais das técnicas de Biologia Molecular utilizadas no laboratório (PCR);
* Realização dos testes hematológicos especializados, tais como: Eletroforese de Hemoglobina, Curva de Fragilidade Osmótica, Teste de HAM, Teste de Sacarose, Pesquisa de deficiência de G6PD;
* Criação do banco de dados para análise estatística através de programas EPIINFO v. 6,04 e SPSS v. 9,0;
* Avaliação da importância clínica dos testes acima citados para o diagnóstico laboratorial de doenças relacionadas ao sangue.

## METODOLOGIA E RESULTADOS

Antes de iniciar as atividades no laboratório foi realizado um treinamento para capacitação da realização dos exames descritos. Recebendo supervisão e encaminhamento para consulta da literatura.

A técnica de PCR, utilizada para o diagnóstico de talassemia alfa, hemoglobinopatia que altera a síntese das cadeias globínicas, promove, por ação da Enzima DNA Polimerase termoestável e dos oligonucleotídeos sintéticos e bases nitrogenadas, a duplicação do fragmento de DNA in vitro. Assim, é possível a obtenção de muitas cópias de uma sequência específica de ácido nucléico, a partir de uma fita molde.

A eletroforese de hemoglobina (Hb) é o método laboratorial mais útil para separação e medição de hemoglobinas normais e anormais. Por meio da eletroforese, são separados diferentes tipos de Hb formando uma série de bandas distintamente pigmentadas em um meio (acetato de celulose ou gel de amido ou ágar). Os resultados são então comparados com aqueles de uma amostra normal.

## METODOLOGIA E RESULTADOS

É um importante método diagnóstico para estudo das anemias hemolíticas e talassemias. Além dessa técnica, é utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC), que é muito mais rápida, determina o perfil qualitativo e quantitativo das hemoglobinas, permitindo o diagnóstico de hemoglobinas variantes, bem como talassemia beta.

O teste de fragilidade osmótica avalia a capacidade de resistência da membrana das hemácias à entrada de água, determinada pela relação entre sua superfície e seu volume. O resultado é dado em percentagem de hemólise, através de cálculo específico, utilizando as densidades ópticas obtidas com as
leituras. Estes valores são transferidos para um gráfico, formando uma curva, onde já se encontram as curvas-controle.

O teste de HAM e sacarose são utilizados como um teste confirmatório para hemoglobinúria paroxística noturna (HPN) é uma doença adquirida, caracterizada por hemoglobinúria noturna, anemia hemolítica crônica, hematopoiese hipolásica ou aplásica e tendência a trombose venosa e um resultado positivo indica que as hemácias do paciente são anormalmente sensíveis à lise pelo complemento Resultados falso-negativos podem ocorrer após hemotransfusão e uso de heparina, enquanto resultados falso-positivos podem ocorrer na esferocitose, anemia aplásica, leucemia e síndromes mieloproliferativas.

A deficiência de G6PD é uma doença metabólica ligada ao cromossomo X, relacionada à atividade reduzida da enzima G6PD no interior das hemácias. Esta enzima faz parte de uma via metabólica responsável por proteger a hemácia de eventos oxidativos, que levam à hemólise. Na Deficiência de G6PD, a enzima formada devido a variações genéticas, apresenta uma meia vida menor, fazendo com que as hemácias estejam mais expostas a efeitos oxidativos, levando ao quadro clássico da condição, a hemólise provocada por exposição a determinadas substâncias ou infecções.

## CONCLUSÕES

Dessa forma, o estágio permitiu uma aproximação do estudante com a profissão farmacêutica, através do acompanhamento e realização dos diversos testes laboratoriais, bem como a associação dos resultados com a clínica dos pacientes.

Assim, durante o estágio, foi possível aplicar as técnicas de hematologia e biologia molecular voltados para o diagnóstico de doenças, tais como anemia falciforme, talassemias, anemias hemolíticas por defeitos enzimáticos, etc... Além disso, a realização de discussões científicas com o grupo da hematologia sobre temas diversos na área proporcionou amadurecimento, consolidação de conhecimentos teóricos e práticos, além do aprendizado com desenvolvimento de ações sociais.

## REFERÊNCIAS

Naoum, P.C. Hemoglobinopatias e Talassemias. São Paulo Editora Sarvier, 1997.
Ravel R. Laboratório Clínico – Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais. 6ª ed., Rio de Janeiro. 1997. Guanabara Koogan,p:44.
TELEN, M.J.; KAUFMAN, R.E. The mature erythrocyte.In: LEE, G.R. et al. Wintrobe's clinical hematology.Baltimore : Williams & Wilkins, 1999. Cap.10, p.193-227

**APOIO:** UFBA PROEXT