**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**
**Faculdade de Medicina**
**Programas de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto**

Vanessa Cristina Reis de Oliveira

# PREVALÊNCIA DAS HEMOGLOBINAS S, C E OUTRAS HEMOGLOBINAS VARIANTES NO ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO- ELSA-BRASIL

Belo Horizonte
2019

Vanessa Cristina Reis de Oliveira

# PREVALÊNCIA DAS HEMOGLOBINAS S, C E OUTRAS HEMOGLOBINAS VARIANTES NO ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO- ELSA-BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Guatimosim Vidigal
Coorientadora: Prof.ª Drª Chams Bicalho Maluf

Belo Horizonte
2019

Oliveira, Vanessa Cristina Reis de.
OL48p Prevalência das Hemoglobinas S, C e outras Hemoglobinas variantes no Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto - ELSA-Brasil [recursos eletrônicos]. / Vanessa Cristina Reis de Oliveira. - - Belo Horizonte: 2019.
64f.:il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Pedro Guatimosim Vidigal.
Coorientador (a): Chams Bicalho Maluf.
Área de concentração: Saúde do Adulto.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Hemoglobina Falciforme. 2. Hemoglobina C. 3. Hemoglobinas Glicadas. 4. Diabetes Mellitus Tipo 2. 5. Hereditariedade. 6. Dissertação Acadêmica. I. Vidigal, Pedro Guatimosim. II. Maluf, Chams Bicalho. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WK 810

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO

UFMG

# FOLHA DE APROVAÇÃO

**PREVALÊNCIA DAS HEMOGLOBINAS S, C E OUTRAS HEMOGLOBINAS VARIANTES NO ESTUDO LONGITUDINAL DE SAÚDE DO ADULTO**

**VANESSA CRISTINA REIS DE OLIVEIRA**

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO, área de concentração CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE DO ADULTO.

Aprovada em 14 de agosto de 2019, pela banca constituída pelos membros:

Prof. Pedro Gualdimosim Vidigal - Orientador
UFMG

Profa. Maria de Fátima Haueisen Sander Diniz
UFMG

Profa. Silvana Maria Elói Santos
UFMG

Belo Horizonte, 14 de agosto de 2019.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

**Reitora**
Profª. Sandra Regina Goulart Almeida

**Vice-Reitor**
Prof. Alessandro Fernandes Moreira

**Pró-Reitor de Pós-Graduação**
Prof. Fabio Alves da Silva Junior

**Pró-Reitor de Pesquisa**
Prof. Mário Fernando Montenegro Campos

**FACULDADE DE MEDICINA**
**Diretor**
Prof. Humberto Jose Alves

**Vice-Diretora**
Profª. Alamanda Kfoury Pereira

**Coordenador do Centro de Pós-Graduação**
Prof. Tarcizo Afonso Nunes

**Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação**
Profª. Eli Iola Gurgel Andrade

**Chefe do Departamento de Clínica Médica**
Profª. Valéria Maria Augusto

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS APLICADAS A SAÚDE DO ADULTO**

**Coordenadora**
Profª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

**Sub-Coordenador**
Profª. Suely Meireles Rezende

**Colegiado**

Prof. Eduardo Garcia Viela

Profª. Luciana Costa Faria

Profª. Luciana Diniz Silva

Prof. Paulo Caramelli

Profª. Suely Meireles Rezende

Profª. Teresa Cristina de Abreu Ferrari

Letícia Lemos Jardim – Discente Titular

Ricardo Mesquita Camelo - Discente Suplente

## AGRADECIMENTOS

O caminho foi longo, por muitas vezes assustador e penoso, mas quem disse que crescer não doi!

Aos poucos, a insegurança foi dando espaço ao conhecimento e a mente foi se abrindo para novas oportunidades e possibilidades, enfim, posso dizer que aprendi muito nesse período. E o melhor, não aprendi sozinha...

A Deus agradeço por me sustentar e conceder o discernimento necessário para entender que quando estamos cansados devemos descansar, e não desistir.

Aos orientadores Professor Doutor Pedro Guatimosim Vidigal e Professora Doutora Chams Bicalho Maluf, agradeço pela oportunidade. A orientação ensina e motiva o aluno a pensar e fazer escolhas; sou grata por isso.

Ao ELSA agradeço pela oportunidade de desfrutar dessa riqueza imensa de conhecimento. E agradeço também aos participantes que tornaram este trabalho possível.

Aos pesquisadores agradeço pela colaboração e exemplo. O ELSA é um degrau importante para a evolução da ciência no Brasil.

Agradeço da maneira mais sincera possível minha mãe, que por toda vida me ensinou a caminhar ao lado das pessoas de bom coração e seguir com respeito, honestidade e compaixão, independente das dificuldades. Aprendi com ela a viver a palavra resiliência no sentido mais puro. Obrigada, mãe!

Agradeço à minha irmã, meu cunhado e nosso anjo que está no céu por sempre acreditarem em mim!

Sou muito privilegiada por ter tantos amigos e a família que tenho. Agradeço especialmente aos queridos primos Octávio, Regiane, Valquíria, Silvania, Leila e Paulinha. Palavras de incentivo foi o que mais ouvi de vocês nesse período. Obrigada pela empatia!

Aos colegas do ELSA sou grata pela parceria, pois de alguma maneira todos contribuíram para este momento.

Às minhas amigas tão queridas Aline, Marta, Rackel, Poliane, Thainá, Nívia, Carol, Gracielle e Luana; vocês ajudaram mais do que imaginam. Obrigada por todo carinho e compreensão.

Lígia Fedeli, me faltam palavras para te agradecer por todo auxilio. Admiro muito seu trabalho e competência. Vejo em você um grande exemplo de profissional!

Aline Costa, muito obrigada por toda colaboração! Sorte daqueles que tiverem o privilégio de serem seus alunos. Dividimos momentos exaustivos e aos poucos as coisas foram nascendo. O que seria de nós sem os amigos, não é? Serei eternamente agradecida por seu altruísmo.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais, sou grata.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão da bolsa de mestrado.

**“Conheça todas as teorias, domine todas as técnicas,**
**mas ao tocar uma alma humana, seja apenas outra alma humana.”**

**Carl Gustav Jung**

## RESUMO

A população brasileira apresenta alto grau de miscigenação, sendo sua composição fruto da mistura de genes de origem ameríndia, africana e europeia. Poucos são os estudos multicêntricos que avaliaram a prevalência das hemoglobinas variantes no Brasil, que correlacionam com a ancestralidade genética. Conhecer essa prevalência é importante do ponto de vista de políticas e ações de saúde pública que visam o diagnóstico e acompanhamento dos portadores dessas condições. Além disso, a presença de algumas hemoglobinas variantes pode afetar a acurácia das medições de HbA1c e ter impacto diretamente no monitoramento de pacientes com diabetes. Descrever a prevalência das Hb S, C e outras Hb Variantes, detectadas por meio da HPLC de troca iônica usada na determinação da HbA1c, entre os participantes da linha de base do ELSA-Brasil (2008 – 2010). Estudo transversal com 15089 participantes com idade entre 35 e 74 anos do ELSA-Brasil. Os participantes foram submetidos a coleta de sangue por punção venosa para análise da HbA1c e extração de DNA para análise da ancestralidade genética. Para as variáveis quantitativas foram utilizadas média e o desvio padrão ou mediana e intervalo interquartílico, o teste t de Student para comparação das médias e Mann-Withney para medianas. Para variáveis categóricas utilizou-se a frequência e o teste Qui-quadrado para comparação dos grupos. As diferenças foram confirmadas utilizando o teste de Qui-quadrado com correção de Bonferroni. A análise da associação com ancestralidade genética foi realizada por meio do teste de Mann-Whitney. A prevalência de Hb Variantes foi de 7,3%, sendo 2,0% de HbS, 1,5% da HbC e 3,9% de Outras Hb Variantes. A frequência das HbS e C foi significativamente maior entre os indivíduos de raça/cor preta e parda e em participantes com ensino médio e fundamental. Participantes com diabetes apresentaram maior prevalência de HbS (3,6% vs. 1,6%, $p<0,001$). As Hb S e C foram mais frequentes em participantes da região Nordeste do que na região Sul e Sudeste ($p\leq0,001$). Outras Hb Variantes, foram mais prevalentes na região Norte ($p\leq0,001$). Este trabalho mostrou a prevalência dos alelos S e C e de outras Hb variantes nas diferentes regiões do país, considerando a distribuição da raça/cor, de acordo com a ancestralidade genética dos participantes. Nesse estudo, os indivíduos com diabetes apresentaram maior prevalência de HbS, o que ressalta a importância da investigação de hemoglobinas variantes nesses indivíduos que possam interferir na acurácia de alguns testes para diagnóstico e controle desses indivíduos.



**Palavras-chave:** Hemoglobina Falciforme; Hemoglobina C; Hemoglobinas Glicadas; Diabetes Mellitus tipo 2; Hereditariedade.

## ABSTRACT

The Brazilian population has a high degree of miscegenation, and its composition is the result of the mixture of Amerindian, African and European genes. Few multicenter studies have evaluated the prevalence of variant hemoglobin in Brazil, correlating with genetic ancestry. Knowing this prevalence is important to propose public health policies and actions aimed improve the diagnosis and monitoring of patients with these conditions. In addition, the presence of some variant hemoglobin may affect the accuracy of HbA1c measurements and directly impact the monitoring of patients with diabetes. Describe the prevalence of Hb S, C and other Hb Variants, detected by ion exchange HPLC used to determine HbA1c, among participants of the ELSA-Brasil baseline (2008 - 2010). Cross-sectional study with 15,089 participants aged between 35 and 74 years from ELSA-Brasil. Participants underwent blood collection by venipuncture for HbA1c analysis and DNA extraction for analysis of genetic ancestry. For quantitative variables, mean and standard deviation or median and interquartile range were used, Student's t-test for comparison of means and Mann-Whitney for medians. For categorical variables, frequency and the Chi-square test were used to compare groups. Differences were confirmed using the Chi-square test with Bonferroni correction. Analysis of the association with genetic ancestry was performed using the Mann-Whitney test. For quantitative variables, mean and standard deviation were used, and Student's t-test for comparison of means and Mann-Withney for medians. For categorical variables, the frequency and the chi-square test were used to compare the groups. Differences were confirmed using the chi-square test with Chiferroni corrections. The analysis of the association with genetic ancestry was performed using the Mann-Whitney test. The prevalence of Hb Variants was 7.3%, being 2.0% HbS, 1.5% HbC and 3.9% other Hb Variants. The frequency of HbS and C was significantly higher among black and brown individuals and participants with high school and elementary school. Participants with diabetes had a higher prevalence of HbS (3.6% vs. 1.6%, $p < 0.001$). The prevalence of HbS and C in the Northeast of Brazil was significantly higher than South and Southeast ($p \leq 0.001$). Other Hb Variants were more prevalent in the northern region. This study showed the prevalence of S and C alleles and other Hb variants in different regions of the country, considering the distribution of race/color, according to the participants' genetic ancestry. In this study, individuals with diabetes had a higher prevalence of HbS, which highlights the importance of investigating variant hemoglobin in these individuals that may interfere with the accuracy of some tests for diagnosis and control of these individuals.

**Keywords:** Hemoglobin Sickle; Hemoglobina C; Glicated Hemoglobin; Diabetes Mellitus Type 2; Heredity.

## LISTA DE FIGURAS E GRÁFICOS

Figura 1- Estrutura da Hemoglobina .....19
Figura 2- Esfregaço sanguíneo, corado pelo método Romanowsky, de paciente com doença falciforme, mostrando algumas hemácias em “foice e policromáticas .....22
Figura 3- Esfregaço sanguíneo, corado pelo método Romanowsky, de paciente homozigoto da hemoglobina C, mostrando diversas hemácias em alvo e alguns micrócitos..... 23
Gráfico 1- Raça/cor auto referida pela população brasileira .....26
Figura 4- Representação esquemática da reação de glicação da hemoglobina, formando a hemoglobina glicada (HbA1c) ..... 30
Figura 5- Resultado de dosagem de hemoglobina glicada realizada por HPLC de troca iônica com o Sistema Variant BioRad, Hercules, Califórnia, EUA ..... 35
Figura 6- Diagrama de Venn com a distribuição de hemoglobinas variantes e suas interações observadas em 1.108 participantes. Elsa-Brasil, 2008-2010 .....41
Figura 7- Prevalência de hemoglobina S, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 42
Figura 8- Prevalência de hemoglobina C, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 43
Figura 9- Prevalência de Outras Hemoglobinas Variantes, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 44
Figura 10- Prevalência de hemoglobina S, segundo centro de investigação ELSA-Brasil. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 45
Figura 11- Prevalência de hemoglobinas C, segundo centro de investigação ELSA-Brasil. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 46
Figura 12- Prevalência de Outras Hemoglobinas Variantes, segundo centro de investigação ELSA-Brasil ..... 47
Gráfico 2- Ancestralidade genética de acordo com a raça/cor autodeclarada em participantes. ELSA-Brasil, 2008-2010 ..... 49
Gráfico 3- Prevalência de hemoglobinas variantes de acordo com presença e ausência do diabetes (DIABETES). ELSA-Brasil, 2008-2010 .....51

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Quadro 1- Critérios diagnósticos para o diabetes .....29

Tabela 1- Características sociodemográficas, laboratoriais e prevalência de diabetes dos participantes, de acordo com a presença e ausência de hemoglobinas variantes..... 39

Tabela 2- Prevalências de hemoglobinas variantes, segundo raça/cor..... 48

Tabela 3- Contribuição ancestral, de acordo com a presença e tipo de Hb Variante ....50

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|---|---|
| ADA | *American Diabetes Association* |
| CONEP | Comitê Nacional de Ética em Pesquisa |
| DIABETES | Diabetes |
| DNA | Ácido desoxirribonucleico |
| DP | Desvio padrão |
| EDTA | Anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético |
| ELSA | Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto |
| EUA | Estados Unidos da América |
| Hb | Hemoglobina |
| HbA | Hemoglobina A |
| HbA2 | Hemoglobina A2 |
| HbA1c | Hemoglobina A1c |
| HbC | Hemoglobina C |
| HbCC | Portador Homozigoto de Hemoglobina C |
| HbCD | Interação de Hemoglobina C com Hemoglobina D |
| HbCE | Interação de Hemoglobina C com Hemoglobina E |
| HbC/Thal | Interação de Hemoglobina C com talassemia |
| HbD | Portador Heterozigoto de Hemoglobina D |
| HbDD | Portador Homozigoto de Hemoglobina D |
| HbE | Portador Heterozigoto de Hemoglobina E |
| HbEE | Portador Homozigoto de Hemoglobina E |
| HbF | Hemoglobina Fetal |
| HbS | Portador Heterozigoto de Hemoglobina S |
| HbSS | Portador Homozigoto de Hemoglobina S |
| HbS/Thal | Interação de Hemoglobina S com talassemia |
| HbSC | Interação de Hemoglobina S com Hemoglobina C |
| HbSE | Interação de Hemoglobina S com Hemoglobina E |
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IDF | *International Diabetes Federation* |
| IEF | Eletroforese por Focalização Isoelétrica |

| | |
|---|---|
| IQ | Intervalo Interquartílico |
| LPLS | Cromatografia Líquida de Baixa Pressão |
| N | Nitrogênio |
| n | N amostral |
| NGSP | *National Glicohemoglobin Standartization Program* |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| PCR | Reação em Cadeia da Polimerase |
| PPG-CASA | Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto |
| Pré A1c | Hemoglobina instável |
| RDW | *Redcell Distribution Width* |
| SUS | Sistema Único de Saúde |
| TCLE | Termo de Consentimento Livre e Esclarecido |
| UFMG | Universidade Federal de Minas Gerais |
| VCM | Volume Corpuscular Médio |
| vs | Verso |

**SUMÁRIO**


**1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS**.....18
**2. REVISÃO DA LITERATURA** ..... 19
2.1. Estrutura e função da hemoglobina..... 19
2.2. Hemoglobinas Variantes..... 20
2.2.1. Breve histórico..... 20
2.3. Principais Hemoglobinas Variantes .....21
2.3.1. Hemoglobina (HbS) .....21
2.3.2. Hemoglobina C (HbC) ..... 23
2.3.3. Outras Hemoglobinas Variantes (Hb Variantes) ..... 24
2.4. Epidemiologia .....24
2.5. Ancestralidade ..... 25
2.6. Diagnóstico laboratorial.....27
2.7. Interferência das hemoglobinas variantes na dosagem de hemoglobina glicada em pacientes com diabetes ..... 28
2.8. Justificativa.....31
**3. OBJETIVOS**.....33
3.1. Objetivo Geral..... 33
3.2. Objetivos Específicos ..... 33
**4. MÉTODO**..... 34
4.1. Delineamento do Estudo.....34
4.2. População .....34
4.3. Análise de Hemoglobinas Variantes.....34
4.4. Ancestralidade Genética.....35
4.5. Demais Variáveis do Estudo.....36
4.6. Análise Estatística .....36
4.7. Aspectos Éticos.....37
**5. RESULTADOS** .....38
**6. DISCUSSÃO**.....52
**7. CONCLUSÃO**.....56
**8. CONSIDERAÇÕES FINAIS**.....57
**9. REFERÊNCIAS**.....58

**ANEXO:** APROVAÇÃO DO ELSA-BRASIL NA COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA (CONEP) .....63

# 1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Este volume é uma dissertação de mestrado desenvolvida no Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde do Adulto da Universidade Federal de Minas Gerais (PPG CASA-UFMG). Este trabalho é um estudo suplementar do "Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto" (ELSA-Brasil). O ELSA-Brasil é um estudo prospectivo multicêntrico, desenvolvido em instituições de ensino superior e pesquisa, em seis estados brasileiros: Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Bahia e Rio Grande do Sul (AQUINO et al., 2012).

Os principais objetivos do ELSA-Brasil são investigar a incidência e a progressão de doenças crônicas, especialmente o diabetes e as doenças cardiovasculares, e examinar os fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais relacionados a essas doenças e às suas complicações (AQUINO et al., 2012).

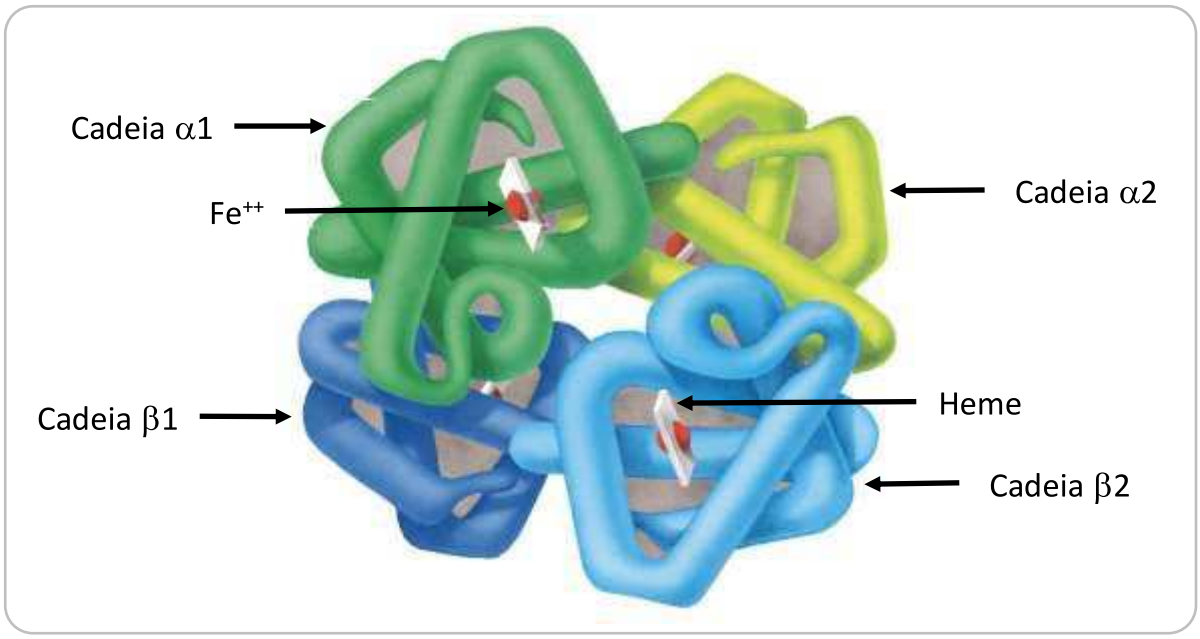
O presente estudo descreveu a prevalência de hemoglobinas variantes nos participantes do ELSA-Brasil utilizando os resultados do teste de determinação da hemoglobina glicada realizado na linha de base do ELSA - Brasil (2008-2010).

# 2. REVISÃO DA LITERATURA

## 2.1 Estrutura e Função da Hemoglobina

A molécula de hemoglobina (Hb) localiza-se no interior dos eritrócitos e é formada no seu processo de maturação. É composta por quatro cadeias polipeptídicas e um grupo heme, também conhecido como grupo prostético, que possui protoporfirina (núcleo tetrapirrólico) e um átomo de ferro ($Fe^{++}$) (Figura 1). O íon ferroso do heme é ligado ao N de uma histidina (LORENZI, 2003; LAVOURAS, 2015).

Figura 1: Estrutura da Hemoglobina




Fonte: Howard Hughes Medical Institute (www.hhmi.org). Todos os direitos reservados. (Para fins didáticos, foram acrescentadas setas e identificação das estruturas)

A Globina é a parte proteica. É composta por quatro cadeias polipeptídicas: alfa (α), beta (β), gama (γ) e delta (δ), que duas a duas se unem formando diferentes tipos de Hb.

- HbA: duas cadeias α e duas β = α2 β2
- HbA2: duas cadeias α e duas δ = α2 δ2
- HbF: duas cadeias α e duas γ = α2 γ2

Em geral as HbA e HbA2 são encontradas nos adultos normais. A HbF predomina no feto e no recém-nascido (LORENZI, 2003).

A Hb é um transportador respiratório de duas vias, transportando oxigênio dos pulmões para os tecidos e facilitando o retorno do dióxido de carbono. O arranjo das subunidades, que é conhecida como a estrutura quaternária, difere na oxi- e desoxihemoglobina. Na circulação arterial, a Hb tem alta afinidade por oxigênio e baixa afinidade por dióxido de carbono. Na circulação venosa, essas afinidades relativas são invertidas (LAVOURAS, 2015).

As globinas são constituídas por diferentes quantidades de aminoácidos. As cadeias α são compostas de 141 aminoácidos e as cadeias β, δ e γ por 146 (LORENZI, 2003). A sequência de aminoácidos é definida pela codificação genética no DNA com a globina equivalente, e a forma globular da Hb é derivada da alfa hélice, que é responsável por alterar sua forma linear em espiral. Essa alteração cria uma depressão onde o heme e o ferro são armazenados. A formação da Hb é controlada por genes que estão posicionados no braço curto dos cromossomos 16 e 11, assim, o processo de formação do heme e da globina ocorrem separadamente, mas se juntam no momento que a globina está sendo finalizada (ZAGO[a], 2013). Mutações genéticas podem levar a alterações estruturais (Hb variantes) ou quantitativas (talassemias) das moléculas de Hb, além da possibilidade de persistência da HbF. As manifestações clínicas podem variar desde anemia hipocrômica leve (Hb de 10-12 g/dL), doença hemolítica moderada ou anemia severa (Hb < 7 g/dL) com paciente dependente de transfusão com elevada morbidade e mortalidade precoce (ZAGO[b], 2013).

## 2.2 Hemoglobinas Variantes

### 2.2.1 Breve Histórico

Historicamente, a doença falciforme (DF) foi citada pela primeira vez em 1904 por James Herrick, que observou a presença de células falciformes no sangue de um paciente anêmico das Índias Ocidentais. Entretanto, somente a partir do final da década de 1930, novas descobertas permitiram o entendimento das alterações na estrutura da Hb que levam à doença (HERRICK, 1910). Em 1937, estudando cristais de Hb de cavalos, Max Perutz identificou a estrutura da Hb; estudo que lhe rendeu o Prêmio Nobel de Química em 1962 (MAX F. PERUTZ - BIOGRAPHICAL, 2019). Em 1947, Jesse Accioly e James Neel, em estudos independentes, no Brasil e nos EUA, respectivamente, demonstraram a hereditariedade da DF e dois anos mais tarde, em 1949, Linus Pauling descobriu que a Hb de pacientes com DF era estruturalmente diferente da Hb de indivíduos sem a doença (NEEL, 1947; ACCIOLY, 1947; PAULING, 1949). Ingram, em 1957, descobriu que as células em formato de foice eram originárias de uma mutação genética que causava a substituição de um aminoácido na cadeia de Hb. Essa

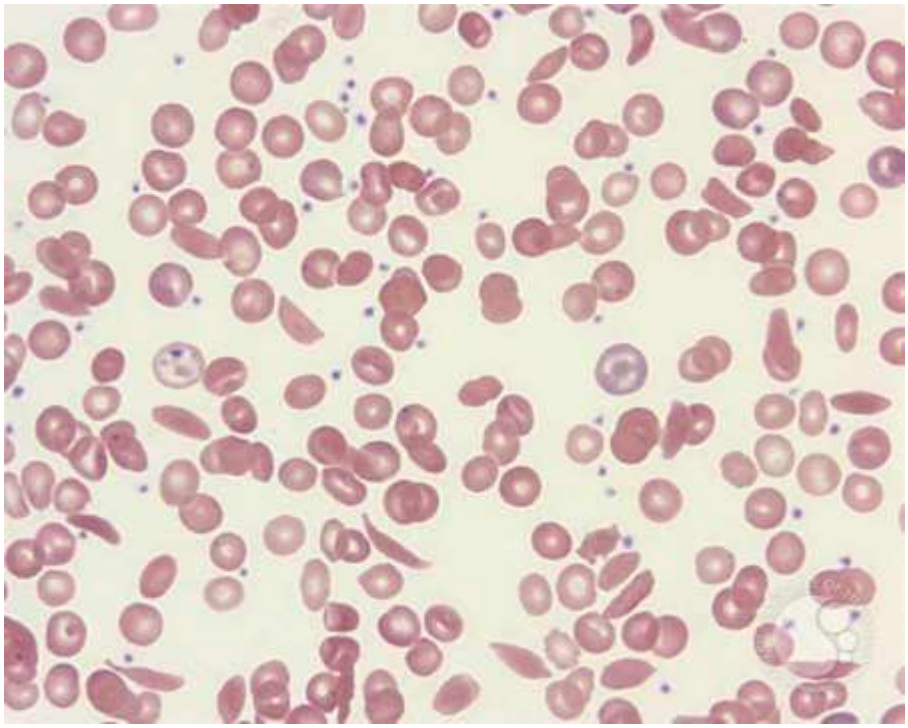
descoberta foi importante para compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na doença (INGRAM, 1957).

## 2.3 Principais Hemoglobinas Variantes

### 2.3.1 Hemoglobina S (HbS)

A HbS parece existir há milhares de anos nos humanos, conforme relato de Konotey-Ahulu (1968) sobre tribos do oeste africano que atribuíam nomes específicos para as síndromes clínicas identificáveis como anemia falciforme. A HbS é a Hb variante mais encontrada na população brasileira e atinge em sua maioria os negros e mulatos, tanto na forma homozigótica (HbSS) quanto heterozigótica (HbAS) (CANÇADO & JESUS, 2007). A HbS ocorre devido a uma mutação da Hb normal do adulto, a HbA. Esta alteração promove a substituição de um ácido glutâmico por uma valina na posição 6 da cadeia de β-globina. Assim, na forma homozigótica, a HbSS apresenta duas cadeias α e duas β, sendo considerado genes normais os α (α α) e os anormais $\beta^S$ ($\beta^S$ $\beta^S$) que originam a HbS (LORENZI, 2003). Após a desoxigenação, a HbS se polimeriza no interior das hemácias, fazendo com que elas mudem de sua forma de disco bicôncava usual para uma forma falciforme irregular (Figura 2). As hemácias falciformes são propensas a aderir à parede dos vasos sanguíneos, causando vaso-oclusão, impedindo o fluxo sanguíneo normal e aporte de oxigênio adequado para órgãos e tecidos. Além disso, essas hemácias são extremamente suscetíveis a hemólise, resultando em um quadro de anemia crônica. Geralmente, a morbidade na DF decorre de eventos vaso-oclusivos ou dano tecidual resultante do fluxo sanguíneo reduzido, sendo que os sintomas mais comuns incluem crises de dor, síndrome torácica aguda, acidentes vasculares cerebrais e disfunção esplênica e renal (SICKLE CELL DISEASE GUIDELINE PANEL, 1993).

Figura 2: Esfregaço sanguíneo, corado pelo método Romanowsky, de paciente com doença falciforme, mostrando algumas hemácias em “foice e policromáticas.



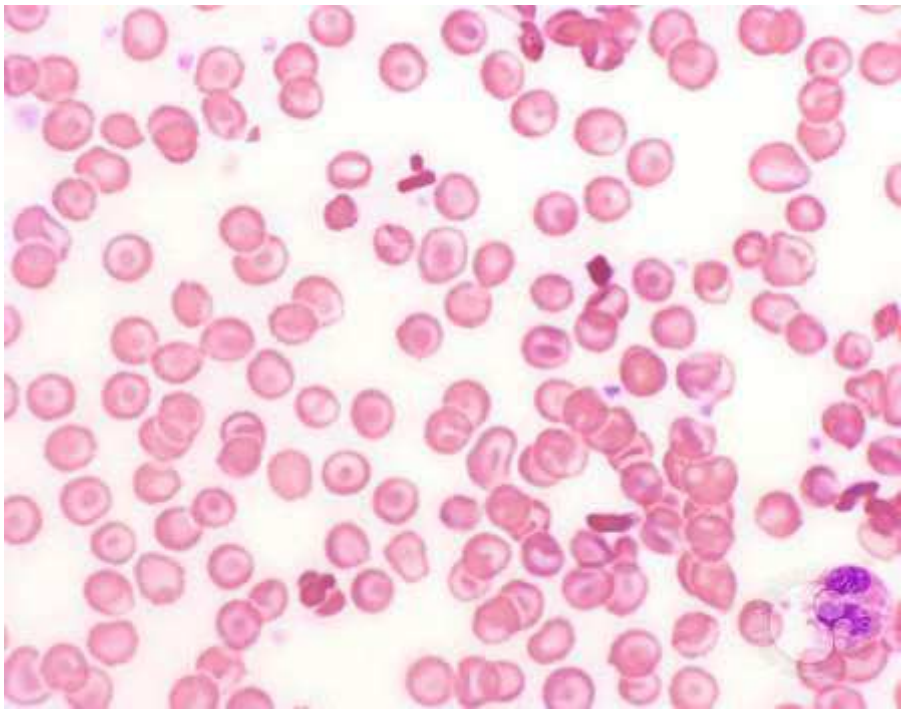
Fonte: ASH Image Bank <www.ashimagebank.org>. Autor: John Lazarchick Título: Doença Falciforme – morfologia da hemácia. Banco de Imagens ASH. Ano:2009; Número da imagem: 3958. Todos os direitos reservados.

Na forma heterozigótica a maior parte das Hb são do tipo HbA e, habitualmente, não há comprometimento na estrutura da hemácia (LORENZI, 2003). Entretanto, indivíduos heterozigóticos (HbAS) quando expostos a condições extremas de baixa tensão de oxigênio, como no caso de despressurização da cabine de voo ou esforços físicos fatigantes, podem apresentar complicações clínicas como hematúria, hipostenúria, embolia pulmonar, infarto esplênico e até morte súbita. O risco de falcização também aumenta com a desidratação, anestesia geral, mergulho, infecções respiratórias graves e episódios de acidose (HARKNES, 1989; ARAÚJO et al., 2004.). Por outro lado, indivíduos heterozigotos que apresentam interações com outros tipos de Hb variantes e talassemias (HbS/Thal, HbSC, HbSD, HbSE, entre outras) podem se comportar clinicamente como um portador de DF homozigótica (HbSS) (BRASIL, 2009).

### 2.3.2 Hemoglobina C (HbC)

A hemoglobinopatia C ocorre devido a substituição do ácido glutâmico na posição 6 da cadeia β pela lisina. Apresenta-se na forma homozigótica ou heterozigótica, mas nos dois casos as alterações apresentam poucos sinais e sintomas hemolíticos. Nos exames laboratoriais é mais comum encontrar anemia moderada, com a presença de células em alvo, reticulocitose, esferocitose e microcitose (Figura 3). Observa-se, ainda, esplenomegalia e presença de cálculos nas vias biliares (colecistolitíase). Na maioria dos casos ocorre anemia leve, mas em caso de anemia severa pode ser necessária a esplenomegalia (LORENZI, 2003). Em pacientes homozigóticos (HbCC) pode-se observar redução do tempo de vida da hemácia (RHEA; ROBERTS-WILSON & MOLINARO, 2012). Algumas interações da HbC com outros tipos de Hb variantes ou talassemias (HbC/Thal, HbSC, HbCD, HbCE, entre outras) podem apresentar quadro clínico variado, dependendo da herança genética.

Figura 3: Esfregaço sanguíneo, corado pelo método Romanowsky, de paciente homozigoto da hemoglobina C, mostrando diversas hemácias em alvo e alguns micrócitos.



Fonte: ASH Image Bank <www.ashimagebank.org>. Autor: John Lazarchick Título: Doença homozigótica da hemoglobina C. Banco de Imagens ASH. Ano:2005; Número da imagem: 3135. Todos os direitos reservados.

### 2.3.3 Outras Hemoglobinas Variantes (Hb Variantes)

Existem mais de 700 Hb variantes descritas na literatura, sendo na sua maioria clinicamente benignas, detectadas de modo fortuito. Aquelas que apresentam repercussões clinicas decorrem principalmente de mutações na cadeia não-α, e que resultam em alteração das estruturas terciárias e quaternárias do tetrâmero de Hb. Essas substituições são mais comuns em posições próximas dos locais de ligação do grupo heme ou da cadeia de globina (CLARKE & HIGGINS, 2000).

Além das Hb variantes S e C, destacam-se a HbD ou HbD-Punjab e a HbE. A HbD é indistinguível da HbS pelos métodos convencionais de eletroforese e cromatografia, porém, não causa falcização (ÖZSOYLU, 1970). Indivíduos homozigotos para HbE (HbEE) geralmente são assintomáticos, e aqueles homozigotos para HbD (HbDD) podem apresentar hemólise leve que pode resultar em anemia leve. Indivíduos que são heterozigotos para qualquer uma destas variantes de Hb são geralmente assintomáticos e têm uma sobrevida normal dos glóbulos vermelhos (LITTLE & ROBERTS, 2009).

## 2.4 Epidemiologia

Inúmeros fatores nos levam a entender o grande número de Hb variantes no mundo. No passado a distribuição geográfica das anemias hereditárias ocorria em regiões tropicais e subtropicais, mas com a ampla miscigenação o cenário da distribuição foi alterado e outras áreas tornaram-se endêmicas (ANGASTINIOTIS et al, 1995).

Durante o processo de colonização do Brasil o país recebeu uma grande quantidade de imigrantes vindos da África e do mediterrâneo (principalmente os italianos). Essa mistura racial foi responsável pela dispersão de variantes de Hb na população, em especial as hemoglobinopatias S, C e β talassemia (NAOUM, 1984, RAMALHO, 1986, FILHO et al., 1988, BONINI-DOMINGOS, 1993). As prevalências no Brasil são de 6% da Hemoglobinopatia S, 1% da Hemoglobinopatia C e 5% da β talassemia (VIVAS et al., 2006). Considerando a variante S como a mais prevalente na população brasileira, estima-se que a DF (HbSS) acometa aproximadamente de 25.000 a 30.000 indivíduos e que a cada ano surjam em média 3.500 casos novos da doença no Brasil. Quando pensamos nos indivíduos portadores do traço falciforme esse número é ainda maior. De acordo com a estimativa, cerca de 4% da população geral possui um alelo S, e esse número é maior na população preta e perda (6% a

10%). Estima-se que haja no Brasil aproximadamente 7.200.000 portadores heterozigotos (HbAS) e que por ano nasçam cerca de 200.000 crianças HbAS (CANÇADO & JESUS, 2007).

Utilizando dados da Organização Mundial da Saúde, cerca de 5% da população mundial carrega em seu patrimônio genético variações de Hb. Estima-se uma incidência anual de aproximadamente 300.000 casos graves dentre os nascidos vivos (LAVOURAS, 2015).

Segundo a teoria de Haldane, datada de 1949, portadores heterozigotos de Hb variantes parecem estar protegidos contra graves infecções causadas pelo *Plasmodium*, agente causador da malária e, em função da seleção natural, essa característica se mantém na população (TEIXEIRA, 2014). Esta teoria origina-se das análises de comparação e classificação tanto da malária, quanto das Hb variantes em diferentes regiões endêmicas para o *Plasmodium* (WILLIAMS & WEATHERALL, 2012). Apesar do potencial de complicações das hemoglobinopatias, essa teoria traz um possível impacto preventivo nos portadores dessas alterações.

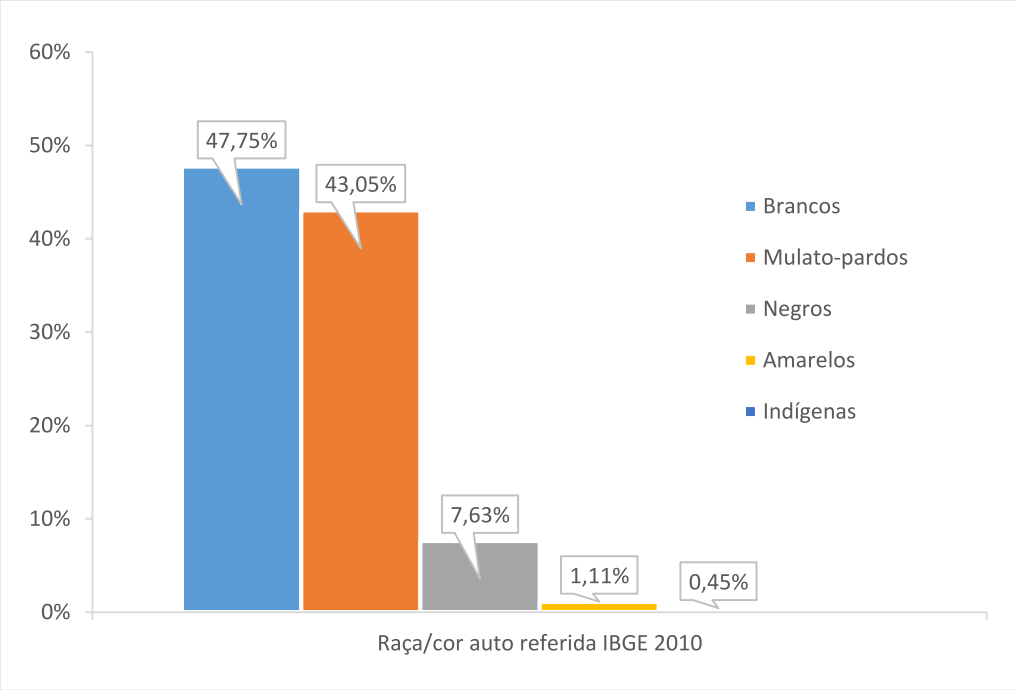
## 2.5 Ancestralidade

No período Pleistoceno da era Cenozoica, os ameríndios ocuparam a América do Sul e após alguns séculos os portugueses chegaram ao Brasil. Nessa época, de acordo com estimativas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o país já era habitado por mais de 2 milhões de ameríndios. No início da colonização os imigrantes eram quase que somente homens, sendo pequena a imigração de mulheres europeias. Fazendo supor que os primeiros brasileiros nasceram da união de homens europeus e mulheres ameríndias (RIBEIRO, 1995; IBGE, 2007).

O Brasil recebeu, de 1500 a 1808, cerca de 500.000 portugueses. Entre meados do século XVI e 1855, cerca de quatro milhões de escravos africanos chegaram ao Brasil. No século XVII, durante 30 anos, um grupo de holandeses dominou o Nordeste, mas Portugal manteve-se como a principal nação colonizadora europeia até 1808. Nesse ano, portos para comércio com outras nações foram abertos pela corte portuguesa, o que possibilitou a chegada de novos povos. De 1820 a 1975, registraram-se quase seis milhões de imigrantes no Brasil, principalmente europeus. Portugueses e italianos migraram para o Brasil quase que na mesma proporção, além de imigrantes espanhóis, alemães, sírios, libaneses e japoneses. Em razão de toda essa variedade de etnias e suas relações, o Brasil tornou-se um dos países com maior miscigenação do mundo (IBGE, 2007).

Considerando tantas variações gênicas compartilhadas por séculos, há de se entender qual a participação dos ameríndios, europeus e africanos na conformação genética do brasileiro (CARVALHO-SILVA et al., 2001). Em 2010, o IBGE apresentou dados de raça/cor autodeclarados pela população, onde esta miscigenação pôde ser confirmada (Gráfico 1) (IBGE, 2010).

Gráfico 1: Raça/cor auto referida pela população brasileira




Fonte: Adaptado de Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) 2010.

A presença de HbS que apesar de ser mais frequentemente encontrada entre os negros, tem sido identificada em populações vindas do Mediterrâneo, assim como Índia, Arábia, Caribe e Américas Central e do Sul (AZEVEDO, 1980; DAUDT et al, 2002). O estudo da presença de hemoglobinopatias em diferentes grupos étnicos pode ajudar a compreender melhor essa distribuição.

No Brasil encontramos grande dispersão de mutações genéticas sendo que a maior concentração está no Norte e no Nordeste onde há um número maior de negros, em função do grande afluxo de escravos africanos no passado (BRASIL, 2001). Embora a HbS esteja presente em diversas regiões do país, os mais afetados estão nas regiões norte e nordeste (6% a 10 % de portadores de HbS na forma heterozigótica) e no Sul e Sudeste a prevalência é menor variando de 2 a 3% (CANÇADO & JESUS, 2007).

No final do século XIX, vários imigrantes italianos povoaram o sul do Brasil e como historicamente são conhecidos por carregarem em seu patrimônio genético, genes da β talassemia (0,40% a 20%), principalmente os habitantes do Norte da Itália, certamente foram também os responsáveis pela dispersão desses genes nessa região do país. Estudo realizado em Porto Alegre mostrou uma frequência de 1,10% de portadores heterozigotos, sendo que 62% desses indivíduos eram descendentes italianos (LISOT & SILLA, 2004). Como o povo brasileiro possui grande diversidade genética, possibilita também uma maior combinação de Hb variantes e outras formas anormais, que podem trazer grande variedade fenotípica e ocasionar manifestações clínicas variadas (BONINI-DOMINGOS, 2006).

## 2.6 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial das Hb variantes, seja nas formas homozigótica e heterozigótica é de extrema importância, assim como a associação com outras Hb variantes ou com a talassemia (LORENZI, 2003). Considerando a gravidade e/ou complexidade das hemoglobinopatias, torna-se fundamental que o diagnóstico seja precoce para possibilitar medidas profiláticas, como o aconselhamento de casais portadores dos genes de Hb variantes, e intervenções para minimizar a morbidade e mortalidade causadas por essas doenças (PAIVA-SILVA; RAMALHO; CASSORLA, 1993; BRASIL, 2001; WATANABE et al, 2008).

Existem vários testes quantitativos e qualitativos para detecção de Hb variantes. Os mais conhecidos são o teste de solubilidade, a eletroforese de Hb e o teste em gel centrifugado. Outras técnicas quantitativas também são utilizadas, como eletroforese por focalização isoelétrica (IEF), cromatografia liquida de baixa pressão (LPLC, do inglês: *Low Pressure Liquid Chromatography*) e cromatografia liquida de alta eficiência (HPLC, do inglês: *High Performance Liquid Chromatography*). Estudos apontam a eletroforese quantitativa e qualitativa como melhor forma de confirmação para Hb variantes, porém, apesar da menor sensibilidade, vários autores recomendam o teste de solubilidade ou gel-centrifugação como triagem em massa por sua facilidade e seu baixo custo, mas com confirmação dos resultados positivos por outros métodos quantitativos (BALASUBRAMANIAM; PHELAN; BAIN, 2001).

Na década de 70, a triagem neonatal, ou “Teste do Pezinho”, foi introduzida no Brasil em versão simplificada. Em 1992 essa triagem foi incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS) com o objetivo de detectar precocemente doenças que podem interferir na vida da criança. Em 2001, a inclusão da pesquisa de HbS nos programas de triagem neonatal foi efetivada pelo Ministério

da Saúde (RAMALHO; MAGNA; PAIVA-E-SILVA, 2003; BONINI-DOMINGOS, 1993). Por meio da Triagem Neonatal o tratamento e acompanhamento precoce de algumas doenças congênitas pôde ser realizado, diminuindo consequências futuras e mais graves, além da conscientização dos pais e da população sobre a importância dessa triagem. Este tipo de aconselhamento tem o papel de prevenir novos casos e melhorar a qualidade de vida dos afetados por possibilitar uma intervenção terapêutica precoce.

Estudos populacionais identificando as regiões de maior prevalência ou incidência das Hb variantes, tornam-se importantes instrumentos na abordagem da população em relação ao planejamento familiar e aconselhamento genético, além de possibilitar um melhor planejamento das políticas públicas regionais voltadas para as hemoglobinopatias e doenças hematológicas.

## 2.7 Interferências das Hb variantes na dosagem da Hb Glicada em pacientes com diabetes

O diabetes é uma doença crônica de alta complexidade ocasionada por alterações no metabolismo e que tem a hiperglicemia como seu marcador diagnóstico. No caso do diabetes do tipo 2 maus hábitos de vida, como a alimentação inadequada e sedentarismo, o envelhecimento e a obesidade são fatores de risco. De acordo com a *International Diabetes Federation* (IDF) existem cerca de 387 milhões de portadores no mundo, sendo que o Brasil contribui com aproximadamente 12 milhões. Estudos apontam para um crescimento de 55% de diabetes até 2035. Dentre os portadores de diabetes, cerca de 90% são acometidos pelo tipo 2; entre 8 e 9% são do tipo 1 e de 1 a 2% pertencem ao grupo de pessoas com diabetes secundário ou ocasionado por outras síndromes (KHAWALI, 2016). Usualmente, o diagnóstico do diabetes é baseado nos testes laboratoriais, conforme critérios descritos no quadro 1 (ADA, 2019).

Quadro 1: Critérios diagnósticos para o diabetes.

| **Critérios Diagnósticos** | **A1C[1]** | **Glicemia jejum[2]** | **Teste oral de tolerância à glicose[3]** |
|---|---|---|---|
| Normal | < 5,7% | < 100 mg/dL | < 140 mg/dL |
| Pré-diabetes | 5,7% a 6,4% | 100 mg/dL a 125 mg/dL | 140 mg/dL a 199 mg/dL |
| Diabetes[4,5] | ≥ 6,5% | ≥ 126 mg/dL | ≥ 200 mg/dL |

[1] O teste deve ser realizado em um laboratório usando método certificado pelo *National Glicohemoglobin Standartization Program (*NGSP).

[2] Jejum definido pela ausência de ingestão calórica por pelo menos 8 horas.

[3] O teste deve ser realizado conforme descrito pela OMS, usando uma carga de glicose contendo o equivalente a 75 g de glicose anidra dissolvido em água.

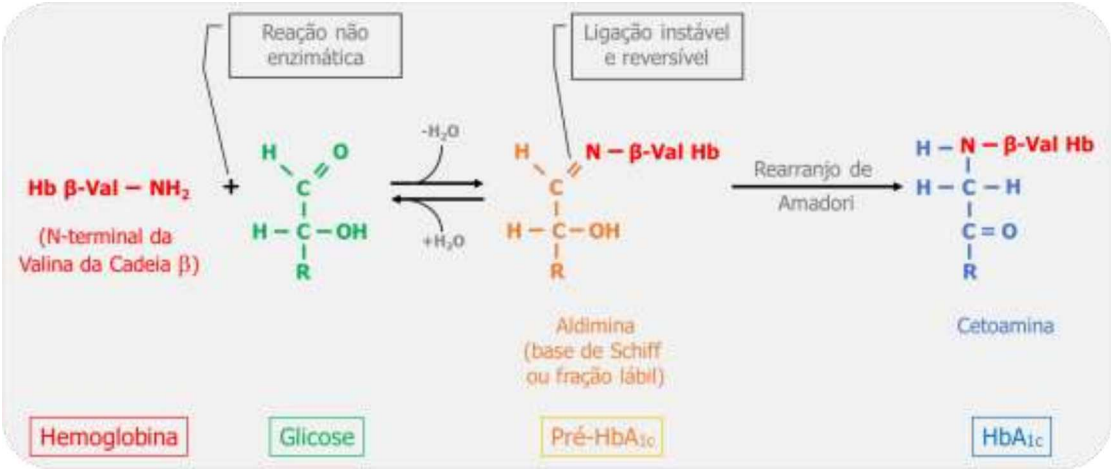
[4] Na ausência de hiperglicemia inequívoca, o resultado deve ser confirmado por repetição de testes em uma segunda ocasião.

[5] O diagnóstico deve ser considerado em paciente com sintomas clássicos de hiperglicemia ou crise hiperglicêmica, que apresenta uma glicose plasmática aleatória ≥ 200 mg/dL.

Fonte: *American Diabetes Association* (ADA) 2019.

Denomina-se Hb glicada um grupo de elementos resultantes das reações entre HbA e outros açúcares. Como a hemácia é livremente permeável à molécula de glicose, a Hb fica exposta às concentrações da glicose plasmática (NETTO et al, 2009). Este processo, conhecido como glicação, refere-se à ligação não enzimática contínua, lenta e irreversível na qual uma valina da cadeia β da Hb liga-se à glicose (Figura 4). Na primeira etapa do processo, é formado um composto intermediário denominado pré-A1c, HbA1c lábil ou instável, aldimina ou ainda base de Schiff, que, após a segunda etapa, é transformado num composto estável tipo cetoamina, não mais dissociável, agora denominado de HbA1c (SACKS, 1999).

Figura 4: Representação esquemática da reação de glicação da hemoglobina, formando a hemoglobina glicada (HbA1c).




Fonte: Elaborado pela autora.

Desde o ano de 1958 a dosagem de HbA1c vem sendo utilizada para avaliar os índices glicêmicos dos indivíduos diabéticos. Mas somente a partir de 1993, após dois importantes ensaios clínicos sobre diabetes, o *Diabetes Control and Complications Trial* (1993) e o *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (1998), reconhecerem o impacto do controle glicêmico sobre as complicações crônicas do diabetes, é que o uso da dosagem HbA1c tornou-se amplamente utilizada na prática médica (NETTO et al, 2009). A partir de 2009, a dosagem de HbA1c passou a ser também utilizada para o diagnóstico do diabetes (INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE, 2009).

A presença de Hb variantes (por exemplo, traço HbS, traço de HbC) e HbF elevada pode afetar a acurácia das medições de HbA1c. Os efeitos variam dependendo da variante e do método específico de determinação da HbA1c (LITTLE et al, 2008; LITTLE et al, 2012; ROHLFING et al, 2008). Como a concentração de HbA1c depende do tempo de vida da hemácia (normalmente de 120 dias), hemoglobinopatias que cursam com redução importante no tempo de vida da hemácia podem interferir na medida da HbA1c. (REEVE et al, 2015). Em portadores de Hb variantes na forma homozigótica não é possível quantificar a Hb glicada devido à ausência da HbA. Já na hemoglobinopatia heterozigótica o valor de Hb glicada pode não se alterar, estar falsamente elevado ou diminuído, dependendo da metodologia aplicada. (SUMITA & ANDRIOLO, 2008). Na presença de HbF igual ou superior a 20%, ocorre interferência significativa nos valores de HbA1c, pois no processo de glicação, a HbF tem menor atração pela glicose que HbA (KHAWALI, 2016).

Existem diferentes testes para dosar HbA1c, como a HPLC de troca iônica, eletroforese em gel de agarose, eletroforese capilar, HPLC de afinidade utilizando derivados do ácido bórico, ensaios imunométricos e colorimétricos, e cada um desses possui particularidades importantes. Alguns métodos, baseados na HPLC e eletroforese capilar, podem identificar a presença de alguns tipos de Hb variantes e desconsiderar a concentração das variantes de Hb glicada no cálculo final da HbA1c. Já os métodos que não detectam a presença das variantes de Hb, consideram estas variantes glicadas no cálculo da HbA1c (SUMITA & ANDRIOLO, 2008).

Indivíduos com diabetes deveriam ser investigados quanto à presença de hemoglobinopatias, uma vez que hemoglobinas variantes podem levar à falsa redução ou aumento da HbA1c glicada, não traduzindo adequadamente o controle glicêmico. Portanto, na presença de hemoglobinopatia deve-se selecionar o método de diagnóstico do diabetes que sofra menor interferência, para não gerar uma interpretação errônea ou comprometer o acompanhamento clínico (LITLLE & ROBERTS, 2009). Essa recomendação deve ser considerada principalmente em regiões de maior prevalência de Hb variantes e, eventualmente, pode ser necessária a utilização de testes alternativos, tais como dosagem de frutosamina, albumina glicada ou 1,5-anidroglucitol (REEVE et al., 2015) no controle do diabetes.

## 2.8 Justificativa

Estudos multicêntricos que avaliam a prevalência das Hb variantes, sobretudo das formas mais frequentes que afetam a população brasileira (Hb S e C) são escassos. A maioria dos estudos descreve a prevalência em neonatos, doadores de sangue ou doentes, sendo raros os estudos que avaliam a prevalência na população adulta que não foi submetida à triagem neonatal.

O Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil) tem como objetivo a identificação do risco de doenças cardiovasculares e do diabetes em população aparentemente saudável. Trata-se de estudo de coorte multicêntrica inédito no Brasil, envolvendo mulheres e homens de 35 a 74 anos, servidores públicos de seis instituições de ensino e pesquisa das regiões Nordeste, Sudeste e Sul do Brasil. A linha de base do estudo foi realizada entre 2008 e 2010, a segunda onda de coleta de dados entre 2012 e 2014 e a terceira onda entre 2017 e 2019.

A diversidade e o tamanho da coorte ELSA-Brasil possibilitam a realização de avaliações transversais, como o presente estudo, que pretende descrever a prevalência de Hb variantes nessa população, considerando suas características demográficas, clínicas, e laboratoriais, incluindo naturalidade e ancestralidade genética. O presente estudo pode contribuir para a

identificação das regiões de maior prevalência das Hb variantes, que são importantes instrumentos na abordagem da população em relação ao planejamento familiar e aconselhamento genético, além de possibilitar um melhor planejamento das políticas públicas regionais voltadas para as hemoglobinopatias e doenças hematológicas.

# 3. OBJETIVOS

## 3.1 Objetivo Geral

Descrever a prevalência das Hb S, C e outras Hb variantes, detectadas por meio da HPLC de troca iônica usada na determinação da HbA1c, entre os participantes da linha de base do ELSA-Brasil (2008 – 2010).

## 3.2 Objetivos Específicos

- Identificar a prevalência de Hb variantes segundo a região de nascimento do participante
- Avaliar a prevalência de Hb variantes segundo os diferentes Centros de Investigação (CI) do ELSA-Brasil
- Avaliar a distribuição das Hb variantes segundo raça/cor auto referida
- Identificar a prevalência de Hb variantes segundo a ancestralidade genética do participante
- Avaliar a prevalência de Hb variantes segundo a presença do diabetes

# 4. MÉTODO

## 4.1 Delineamento do Estudo

Trata-se de um estudo transversal, que utilizou dados da linha de base do ELSA-Brasil.

## 4.2 População

A linha de base do ELSA-Brasil foi realizada entre 2008 e 2010 e constituída por 15.105 participantes, com idade entre 35 a 74 anos. Todos os participantes realizaram entrevistas face a face, exames laboratoriais, de imagem e medidas antropométricas com profissionais treinados e certificados (AQUINO et al, 2012).

Nessa análise foram incluídos os participantes que concordaram em participar do estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e que tinham dosagem HbA1c. Dezesseis participantes foram excluídos por não apresentarem resultado de HbA1c, totalizando 15.089 participantes.

## 4.3 Análise de Hemoglobinas Variantes

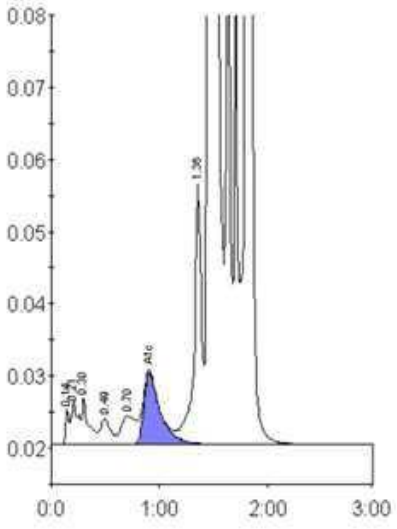
Os participantes foram submetidos a coleta de sangue por punção venosa, utilizando escalpe e tubo a vácuo contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA). Os procedimentos de coleta das amostras biológicas foram padronizados para garantir a uniformidade em todos os centros de investigação ELSA-Brasil e seguiram as recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso (2010).

Para análise da HbA1c, 1,0 mL de reagente hemolisante foi adicionado a 5,0 µL de sangue total em EDTA em um criotubo previamente identificado e a amostra foi homogeneizada por inversão por 10 vezes, conforme orientação do manual de instrução do fabricante do reagente. As amostras foram processadas entre 4 e 8 °C e, posteriormente, armazenadas a -80 °C até o momento da análise. Os procedimentos de coleta e processamento da amostra foram padronizados nos seis centros de investigação e todas as análises foram realizadas no Laboratório Central do ELSA-Brasil, no CI de São Paulo (FEDELI, 2013).

A análise foi feita utilizando o método de HPLC de troca iônica, sistema Variant®, BioRad, Hercules, CA, EUA, certificado pela *National Glicohemoglobin Standardization Program (NGSP)*. Este método consiste na passagem de amostra contendo Hb em suspensão, em alta

pressão, por uma coluna em forma de cilindro contendo partículas esféricas ou gel de sílica. Neste processo, as diferentes Hb adsorvem-se à sílica de acordo com suas interações iônicas. A seguir, a coluna é perfundida com um tampão, fase móvel, que atravessa esta coluna, variando constantemente em pH e força iônica, o que faz com que as diferentes Hb sejam eluídas em momentos diferentes e característicos. As absorbâncias das frações de Hb eluídas são, então, detectadas por um fotômetro, integrado a um sistema computadorizado, e registradas em um cromatograma, que é a demonstração gráfica do resultado obtido (Figura 5). A área sob o pico de absorção corresponde a concentração da fração de Hb detectada (SHARMA & DAS, 2016). Assim, é possível identificar e quantificar as diferentes Hb presentes na amostra.

Figura 5: Resultado de dosagem de Hemoglobina glicada realizada por HPLC de troca iônica, do inglês (*High Performance Liquid Chromatography*) *




Peak table - ID: 0602282601

| Peak | R time | Height | Area | Area % |
|---|---|---|---|---|
| Unknown | 0.14 | 4873 | 11354 | 0.3 |
| A1a | 0.21 | 5934 | 25925 | 0.6 |
| A1b | 0.30 | 6473 | 30497 | 0.7 |
| F | 0.49 | 3551 | 23506 | 0.6 |
| LA1c/CHb-1 | 0.70 | 3923 | 35905 | 0.9 |
| A1c | 0.91 | 9977 | 106213 | 5.7 |
| P3 | 1.36 | 36002 | 172504 | 4.1 |
| Unknown | 1.47 | 413162 | 787922 | 18.9 |
| A0 | 1.48 | 503732 | 1287010 | 30.8 |
| Variant-Window | 1.63 | 93049 | 218533 | 5.2 |
| S-Window | 1.71 | 75585 | 168644 | 4.0 |
| C-Window | 1.84 | 513536 | 1303673 | 31.3 |
| Total Area: | | 4176685 | | |

| Concentration: | |
|---|---|
| % A1c | 5.7 |

*Sistema Variant®, BioRad, Hercules, CA, EUA.

Fonte: Laboratório Central do Elsa-Brasil

## 4.4 Ancestralidade Genética

Para análise da ancestralidade genética foi realizada a extração do DNA a partir de leucócitos de amostras de sangue total anticoagulado com EDTA, por meio da técnica de precipitação salina. Todas as amostras passaram por testes que avaliaram a qualidade e pureza do DNA antes da genotipagem. A classificação baseou-se numa concentração de 50 ng/mL e seleção de qualidade de pureza em dupla fita (260/280). As amostras que se apresentaram fora do padrão, passaram por purificação para aumentar a pureza utilizando o kit comercial Invisorb R

Fragment CleanUP- STRATTEC, Berlin, Alemanha. Ao final, as amostras que atingiram razão de pureza entre 1,68 e 2,12 permaneceram no estudo da ancestralidade.

Genótipos referentes aos 192 marcadores de ancestralidade de cada indivíduo foram obtidos por meio da plataforma comercial de genotipagem Applied Biosystems$^{TM}$ 12K Flex, MA, EUA, que utiliza o método de PCR em tempo real. A análise de ancestralidade foi feita utilizando-se o programa Adiabetesixture conforme descrito por Santos (2015). Para o estudo de ancestralidade foram incluídos 9825 indivíduos que tinham amostras de DNA disponíveis.

Os 192 marcadores para ancestralidade genética foram escolhidos utilizando o algoritmo de Galanter, que identifica quais polimorfismos de nucleotídeo único são mais informativos para cada ancestral. Esse conjunto de marcadores é capaz de capturar 91%, 92% e 74% respectivamente, dos componentes africano, europeu e ameríndio.

## 4.5 Demais Variáveis do Estudo

Características sócio demográficas foram coletadas por meio da aplicação de questionário padronizado para o estudo. Considerou-se nas análises sexo, idade (em anos), raça/cor autodeclarada (branca, parda, preta, amarela e indígena), escolaridade (fundamental, médio completo e superior completo), macrorregião de nascimento do participante, CI ao qual estava vinculado e diabetes. Para avaliar as prevalências das Hb variantes segundo a região de nascimento e por naturalidade, foi considerada a informação obtida por meio de um questionário aplicado ao participante e as opções de resposta foram codificadas seguindo o padrão do IBGE. Essa codificação foi construída, associada e analisada conforme codificação do IBGE por macrorregiões do país.

A presença de diabetes foi definida considerando pelo menos um dos seguintes critérios: diagnóstico auto referido, uso de medicamento hipoglicemiante; glicemia em jejum $\geq$ 126 mg/dL, glicemia 2 horas pós dextrosol $\geq$ 200 mg/dL e hemoglobina glicada $\geq$ 6,5%.

## 4.6 Análise Estatística

A caracterização da amostra consistiu na apresentação das variáveis sócio demográficas e clínicas segundo a presença de Hb variantes. Variáveis quantitativas foram apresentadas como média e desvio padrão ou medianas e intervalos interquartílicos, dependendo da normalidade dos dados, segundo o teste de *Shapiro-Wilk*. Utilizou-se o teste t de Student para comparação

das médias e Mann-Withney para medianas. Variáveis categóricas foram apresentadas como frequência e utilizou-se o teste Qui-quadrado para comparação dos grupos.

As prevalências de Hb variantes foram apresentadas segundo macrorregião de nascimento, CI do ELSA-Brasil, sexo, raça/cor e diabetes, utilizando o teste de Qui-quadrado para comparação dos grupos. As diferenças estatísticas das distribuições das Hb variantes foram confirmadas utilizando o teste de Qui-quadrado com correção de Bonferroni. Posteriormente foi realizada análise de regressão logística entre a prevalência de HbS e diabetes, ajustada por sexo, idade, escolaridade e índice de massa corporal. A análise da associação com ancestralidade genética foi realizada por meio do teste de Mann-Whitney. Todas as análises foram feitas no software Stata (versão 14.0).

## 4.7 Aspectos Éticos

O ELSA-Brasil foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa das instituições de ensino e pesquisa participantes e também pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP 976/20060) do Ministério da Saúde. Todos os participantes assinaram o TCLE (Anexo 2) antes da realização de entrevistas, exames e medidas.

## 5. RESULTADOS

Os participantes incluídos no presente estudo apresentaram média de 52 anos de idade, sendo a maioria mulheres (54,4%), de cor branca (52,2%) e com ensino superior completo (52,6%) (Tabela 1).

A prevalência geral de Hb variantes foi de 7,3%, sendo 2,0% de HbS, 1,5% da HbC e 3,9% de Outras Hb Variantes. A frequência das HbS e C foi significativamente maior entre os indivíduos de raça/cor preta e parda e em participantes com ensino médio e fundamental. Participantes que possuem a HbS apresentaram maior prevalência de diabetes e uma média significativamente menor de Hb e VCM. É importante destacar que a presença de portadores do traço falciforme (HbS) foi significativamente maior entre os diabéticos (3,6% vs. 1,6%, $p<0,001$) (dados não mostrados). Entre os participantes com presença de HbC, observou-se diferença significativa apenas nos valores de VCM, quando comparado aos indivíduos que não possuem tal Hb variante (Tabela 1).

Não houve diferenças estatisticamente significantes entre homens e mulheres na prevalência de HbS (1,8% vs. 2,1%, $p=0,134$) e HbC (1,7% vs. 1,4%, $p=0,200$), respectivamente. Já a prevalência de Outras Hb Variantes foi significativamente maior entre os homens (5,22% vs. 2,83%, $p<0,001$).

Tabela 1: Características sociodemográficas, laboratoriais e prevalência de DIABETES dos participantes, de acordo com a presença e ausência de Hb variantes. ELSA-Brasil, 2008-2010 (N=15.089).

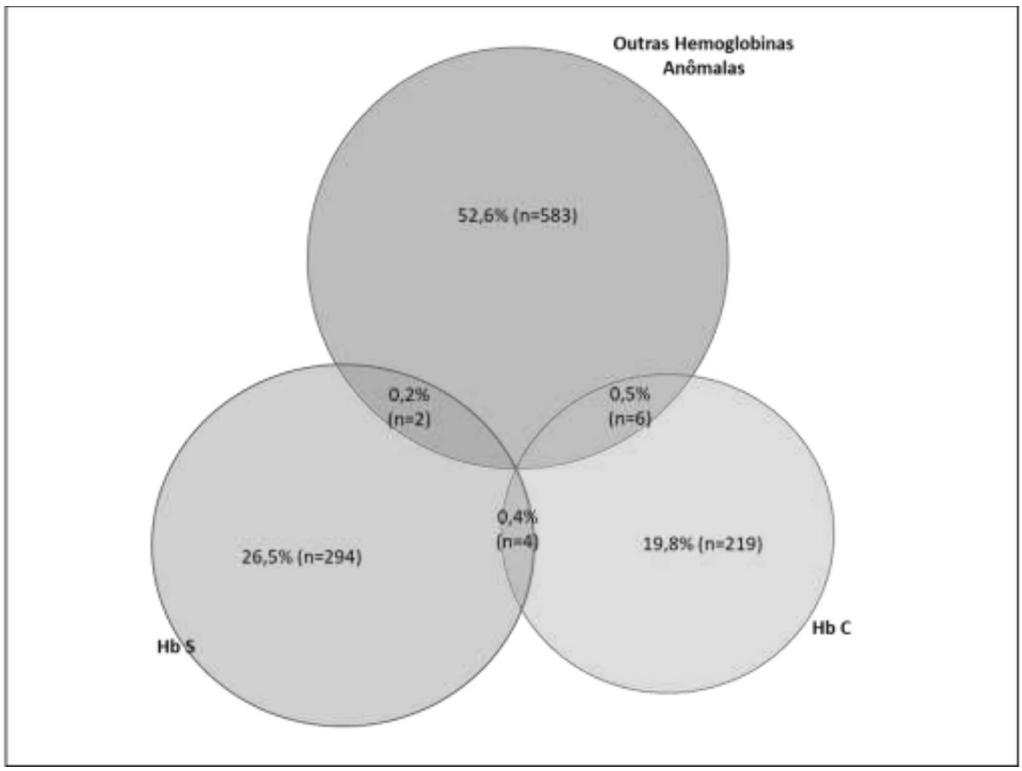
| Características | Todos | HbS | | p* | HbC | | p* | Outras Hb Variantes | | p* |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Não (n=14.789) | Sim (n=300) | | Não (n=14.860) | Sim (n=229) | | Não (n=14.497) | Sim (n=591) | |
| Sexo, % (N) | | | | 0,134 | | | 0,200 | | | <0,001 |
| Mulheres | 54,4 (6880) | 54,3 (8033) | 58,7 (176) | | 54,5 (8094) | 50,2 (115) | | 55,0 (7977) | 39,3 (232) | |
| Homens | 45,6 (8209) | 45,7 (6756) | 41,3 (124) | | 45,5 (6766) | 49,8 (114) | | 45,0 (6521) | 60,7 (359) | |
| Idade, anos (média±DP) | 52,1±9,1 | 52,1±9,1 | 51,3±8,8 | 0,154 | 52,1±9,1 | 51,6±9,0 | 0,419 | 52,1±9,1 | 52,9±9,5 | 0,029 |
| Raça/cor, % (N) | | | | <0,001 | | | <0,001 | | | 0,224 |
| Branca | 52,2 (7782) | 52,9 (7731) | 17,3 (51) | | 52,7 (7734) | 21,1 (48) | | 52,0 (7453) | 56,5 (329) | |
| Parda | 28,2 (4199) | 27,9 (4082) | 39,6 (117) | | 28,0 (4107) | 40,5 (92) | | 28,3 (4056) | 24,6 (143) | |
| Preta | 16,1 (2394) | 15,5 (2271) | 41,7 (123) | | 15,7 (2311) | 36,6 (83) | | 16,1 (2307) | 14,9 (87) | |
| Amarela | 2,5 (374) | 2,6 (372) | 0,7 (2) | | 2,5 (372) | 0,9 (2) | | 2,5 (358) | 2,7 (16) | |
| Indígena | 1,0 (157) | 1,1 (155) | 0,7 (2) | | 1,1 (155) | 0,9 (2) | | 1,0 (150) | 1,2 (7) | 0,072 |
| Escolaridade, % (N) | | | | <0,001 | | | <0,001 | | | |
| Superior completo | 52,6 (7940) | 53,1 (7846) | 31,3 (94) | | 52,8 (7853) | 38,0 (87) | | 52,5 (7611) | 55,7 (329) | |
| Médio completo | 34,6 (5227) | 34,3 (5075) | 50,7 (152) | | 34,5 (5134) | 40,6 (93) | | 34,8 (5048) | 30,3 (179) | |
| Fundamental | 12,7 (1922) | 12,6 (1868) | 18,0 (54) | | 12,6 (1873) | 21,4 (49) | | 12,7 (1839) | 14,0 (83) | |
| Diabetes, % (N) | 19,6 (2963) | 19,3 (2857) | 35,3 (106) | <0,001 | 19,6 (2915) | 21,0 (48) | 0,613 | 19,7 (2849) | 19,3 (114) | 0,826 |
| Hemoglobina, g/dL (média±DP) | 14,1±1,4 | 14,1±1,3 | 13,7±1,4 | <0,001 | 14,1 ±1,3 | 14,1±1,5 | 0,785 | 14,1±1,4 | 14,5±1,2 | <0,001 |
| VCM, fL (média±DP) | 88,4±5,1 | 88,4±5,0 | 85,1±5,4 | <0,001 | 88,4±5,0 | 85,3±6,1 | <0,001 | 88,4±5,1 | 88,7±5,3 | 0,152 |
| RDW, % (mediana, IQ) | 13,6 (12,9–14,7) | 13,6 (12,9–14,7) | 14,1 (13,3–15,2) | <0,001 | 13,6 (12,9–14,7) | 13,8 (13,2–14,3) | 0,201 | 13,6 (12,9–14,7) | 13,9 (13,1–15,3) | <0,001 |
| Plaquetas, x100/ $mm^3$ (média±DP) | 239,3±56,5 | 239,3±56,4 | 239,8±60,6 | 0,896 | 239,3±56,5 | 243,6±54,2 | 0,280 | 239,5±56,6 | 234,3±54,2 | 0,034 |

HbS: hemoglobina S; HbC: Hemoglobina C; VCM: volume corpuscular médio; RDW: *Red Cell Distribution Width*; DP: desvio padrão; IQ: Intervalo interquartílico (P25 – P75). *t Student, Qui-quadrado ou Mann-Whitney.

Fonte: Elaborado pela autora.

O diagrama de Venn apresenta a distribuição das Hb variantes e suas interações. Do total de 1108 participantes com presença de Hb variantes, observamos uma maior prevalência de Outras Hb Variantes, seguido da HbS e HbC. As interações entre os três tipos de Hb variantes parecem semelhantes, variando de 0,2%, entre Outras Hb Variantes e a HbS, a 0,5%, entre Outras Hb Variantes e a HbC.

Figura 6: Diagrama de Venn com a distribuição de Hb variantes e suas interações observadas em 1.108 participantes. Elsa-Brasil, 2008-2010.




Fonte: Elaborado pela autora.

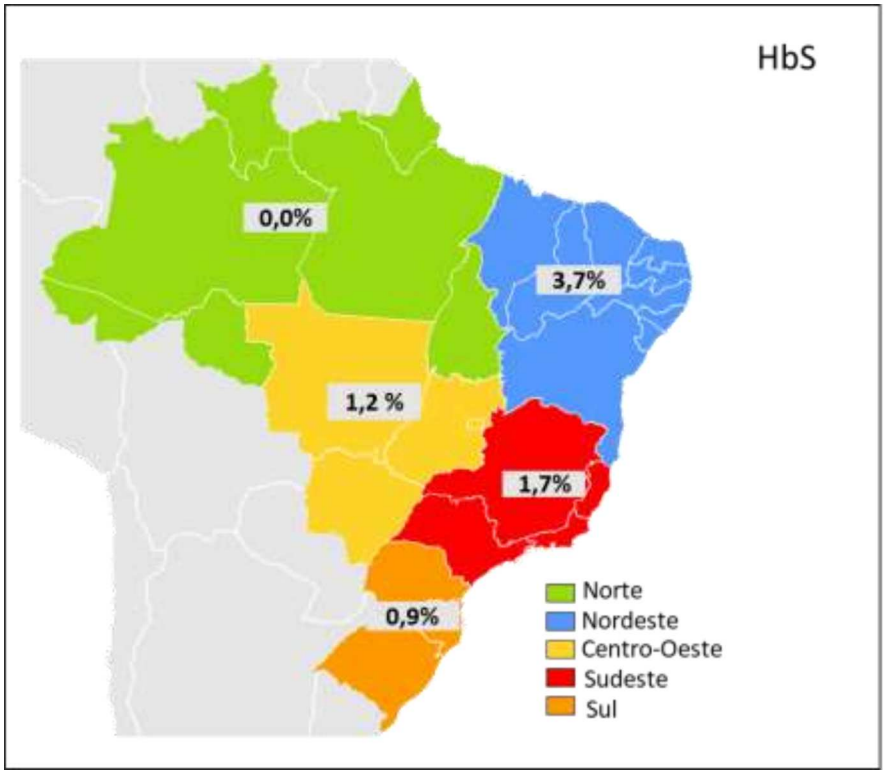
Na análise do local de nascimento, identificou-se que a maioria da amostra (65,1%, n=8.986) era natural do Sudeste, seguida pelo Nordeste (18,1%, n=2.505), Sul (15,8%, n=2.175), Centro-Oeste (0,6%, n=82) e Norte (0,4%, n=56).

A prevalência de HbS nos participantes nascidos no Nordeste foi significativamente maior que a daqueles das regiões Sul e Sudeste ($p \leq 0,001$) e entre os participantes nascidos na região Norte não houve nenhum caso (Figura 7). A HbC também apresentou maior frequência entre os nascidos na região Nordeste do país, seguida pelos nascidos na região Sudeste e, posteriormente, da região Sul ($p \leq 0,001$) (Figura 8). Considerando Outras Hb Variantes, houve

maior prevalência entre os nascidos na região Norte do que nas demais regiões (p≤0,001) (Figura 9).

Considerando os estados onde estão localizados os seis CI do estudo, a Bahia apresentou uma prevalência de HbS significativamente maior que os demais CI (p≤0,001) e Minas Gerais, Espirito Santo e Rio de Janeiro apresentaram prevalências significativamente maiores que o Rio Grande do Sul. A maior prevalência de HbC foi encontrada na Bahia, seguida de Minas Gerais (p≤0,001) e o grupo de Outras Hb Variantes foi mais prevalente na Bahia, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul (p≤0,001) (Figuras 10, 11 e 12, respectivamente).

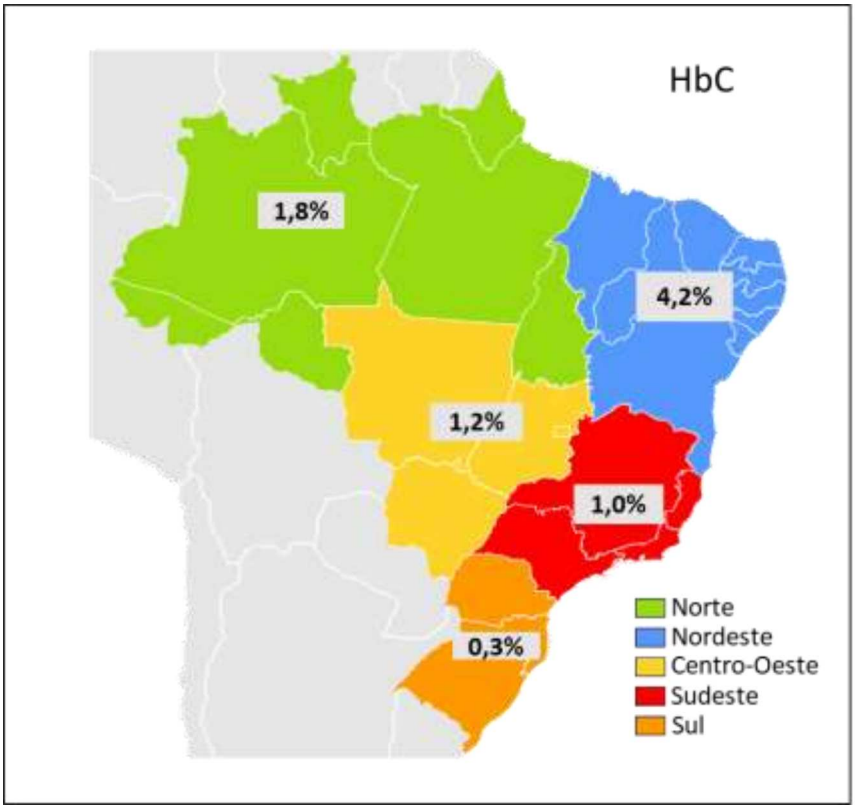
Figura 7: Prevalência de HbS, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010.




| Região | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| Norte | 56 (100,0) | 0 (0) |
| Nordeste | 2412 (96,3) | 93 (3,7) |
| Sudeste | 8836 (98,3) | 150 (1,7) |
| Centro-oeste | 81 (98,8) | 1 (1,2) |
| Sul | 2156 (99,1) | 19 (0,9) |

Fonte: Elaborado pela autora.

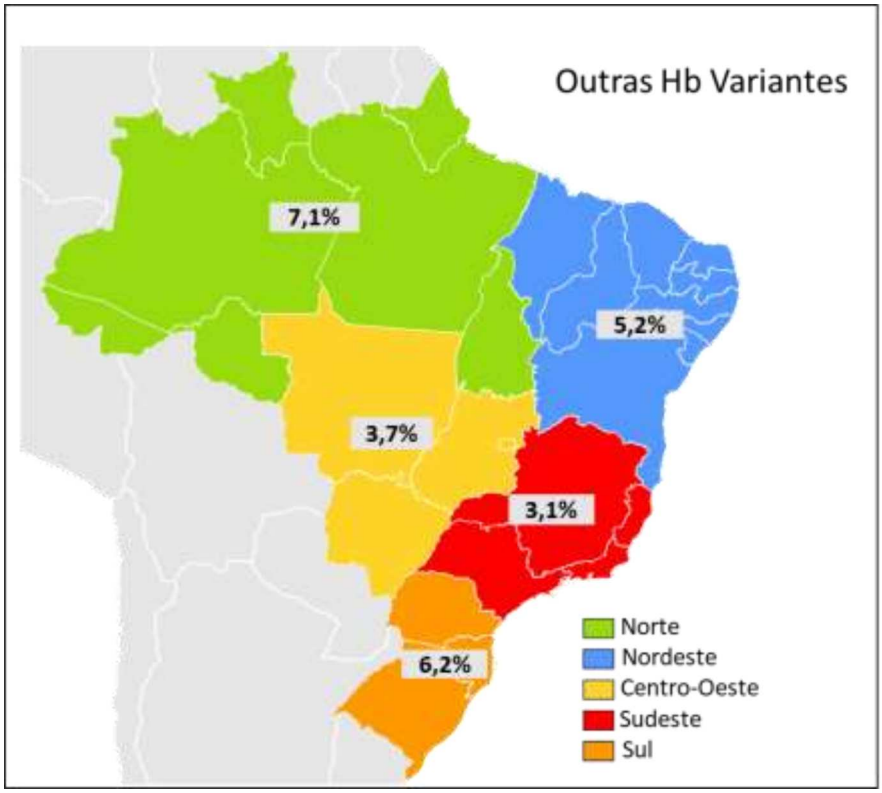
Figura 8: Prevalência de HbC, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010.




| Região | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| Norte | 55 (98,2) | 1 (1,8) |
| Nordeste | 2400 (95,8) | 105 (4,2) |
| Sudeste | 8894 (99,0) | 92 (1,0) |
| Centro-oeste | 81 (98,8) | 1(1,2) |
| Sul | 2169 (99,7) | 6 (0,3) |

Fonte: Elaborado pela autora.

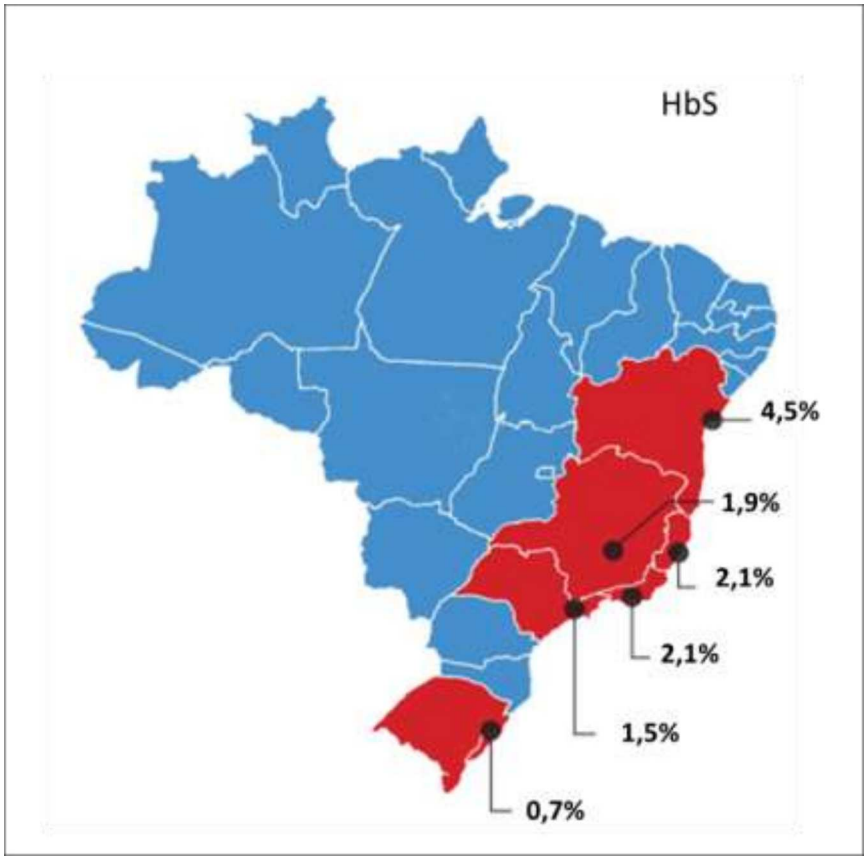
Figura 9: Prevalência de Outras Hb Variantes, segundo macrorregião de nascimento. ELSA-Brasil, 2008-2010.




| Região | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| Norte | 52 (92,9) | 4 (7,4) |
| Nordeste | 2375 (94,8) | 130 (5,2) |
| Sudeste | 8710 (96,9) | 276 (3,1) |
| Centro-oeste | 79 (96,3) | 3 (3,7) |
| Sul | 2040 (93,8) | 135 (6,2) |

Fonte: Elaborado pela autora.

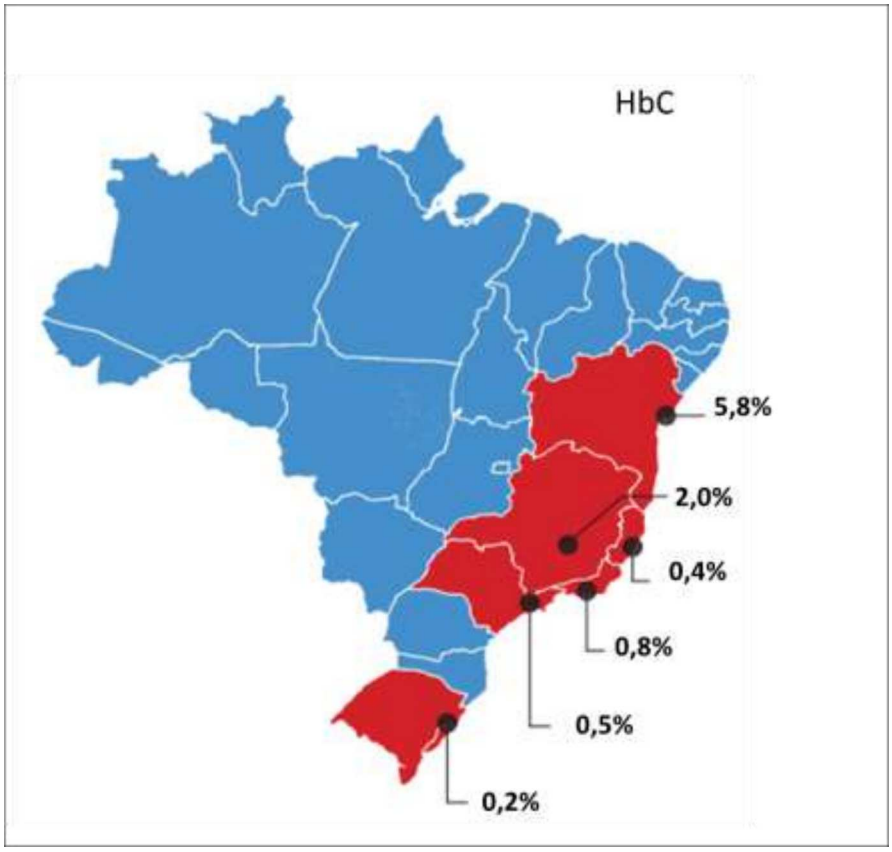
Figura 10: Prevalência de HbS, segundo CI ELSA-Brasil. ELSA-Brasil, 2008-2010.




| CI | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| BA | 1932 (95,5) | 91 (4,5) |
| MG | 3054 (98,1) | 58 (1,9) |
| ES | 1031(97,9) | 22 (2,1) |
| RJ | 1746 (97,9) | 37 (2,1) |
| SP | 4982 (98,5) | 77(1,5) |
| RS | 2044 (99,3) | 15 (0,7) |

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 11: Prevalência de HbC, segundo CI ELSA-Brasil. ELSA-Brasil, 2008-2010.

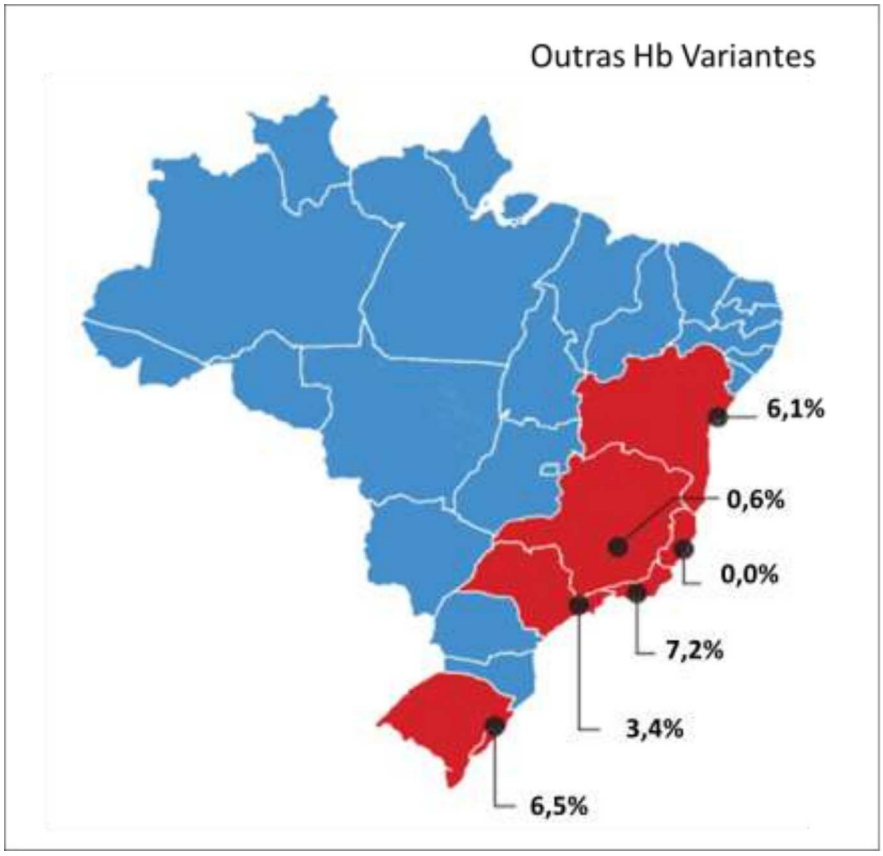



| CI | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| BA | 1906 (94,2) | 117 (5,8) |
| MG | 3050 (98,0) | 62 (2,0) |
| ES | 1049 (99,6) | 4 (0,4) |
| RJ | 1769 (99,2) | 14 (0,8) |
| SP | 5032 (99,5) | 27 (0,5) |
| RS | 2054 (99,8) | 5 (0,2) |

Fonte: Elaborado pela autora.

Para Outras Hb Variantes, a maior prevalência foi encontrada no Rio de Janeiro ($p \leq 0,001$). Não foi encontrado nenhum caso de Hb Variantes no Espirito Santo (Figura 12).

Figura 12: Prevalência de Outras Hb Variantes, segundo CI ELSA-Brasil.




| CI | Não (%) | Sim (%) |
|---|---|---|
| | n (%) | n (%) |
| BA | 1900 (93,9) | 123 (6,1) |
| MG | 3092 (99,4) | 20 (0,6) |
| ES | 1053(100,0) | 0 (0,0) |
| RJ | 1654 (92,8) | 129 (7,2) |
| SP | 4874 (96,3) | 185 (3,7) |
| RS | 1925 (93,5%) | 134 (6,5) |

Fonte: Elaborado pela autora.

Na tabela 2, observa-se uma diferença na prevalência de Hb variantes entre os grupos de raça/cor autodeclarada, sendo que a prevalência de HbS e HbC foi maior entre aqueles que auto declararam pretos. Em relação à prevalência das Hb variantes, brancos, amarelos e indígenas não apresentaram diferenças significativas entre eles. No entanto, quando os comparamos com os pretos e pardos, existem diferenças estatisticamente significantes entre tais prevalências (Tabela 2).

Tabela 2: Prevalências de Hb variantes, segundo raça/cor. ELSA-Brasil, 2008-2010 (N=15.089).

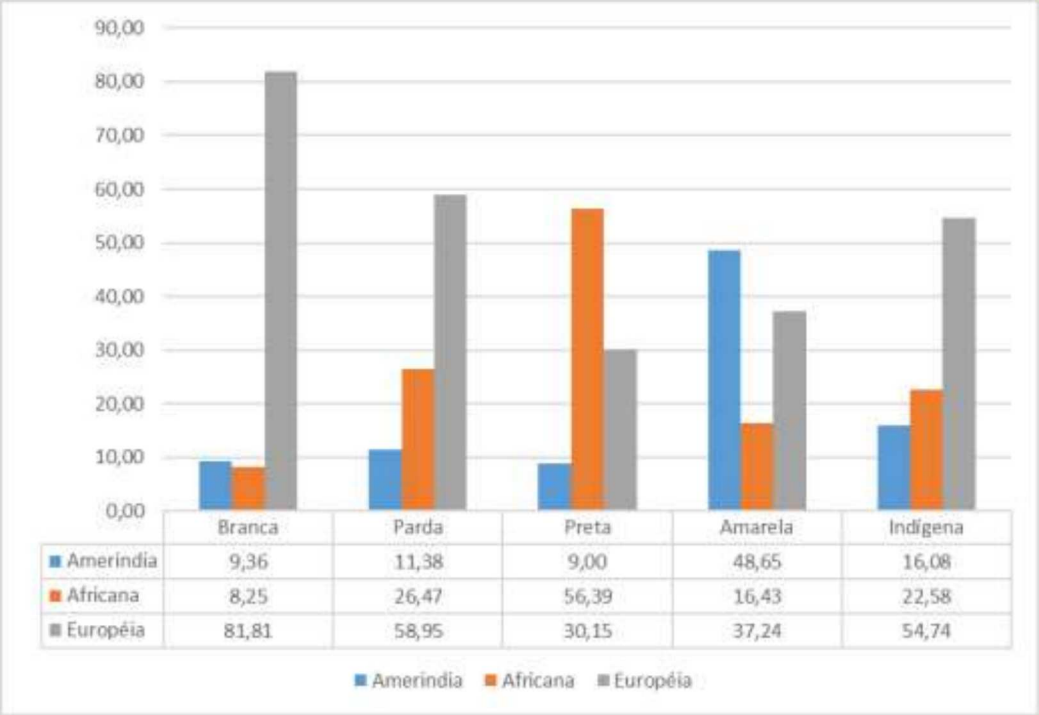
| **Raça/Cor** | **HbS (%)** | **n** | **p** | **HbC (%)** | **n** | **p** | **Outras (%)** | **n** | **p** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Branca | 0,7[a] | 51 | <0,001 | 0,6[a] | 48 | <0,001 | 4,2[a] | 329 | 0,224 |
| Parda | 2,8[b] | 117 | | 2,2[b] | 92 | | 3,4[a] | 143 | |
| Preta | 5,1[c] | 123 | | 3,5[c] | 83 | | 3,6[a] | 87 | |
| Amarela | 0,5[a] | 2 | | 0,5[a] | 2 | | 4,3[a] | 16 | |
| Indígena | 1,3[a] | 2 | | 1,3[a] | 2 | | 4,5[a] | 7 | |

[a,b,c] Letras diferentes representam diferenças estatisticamente significantes. Teste: Qui-quadrado.

Fonte: Elaborado pela autora.

O gráfico 2 representa a correspondência entre a raça/cor autodeclarada e a ancestralidade genética. Tanto os brancos quanto os pretos apresentaram ancestralidade ameríndia por volta de 9,0%. No entanto, eles se diferem pela predominância expressiva de ancestralidade europeia entre os brancos e pela predominância africana na ancestralidade entre os pretos. Tanto pardos quanto indígenas apresentaram maior ancestralidade europeia, mas há uma mistura entre ancestralidade africana e ameríndia em menor porcentagem. A raça/cor amarela apresentou uma distribuição peculiar, com maior participação ameríndia seguida da ancestralidade europeia e africana em menor porcentagem.

Gráfico 2: Ancestralidade genética de acordo com a raça/cor autodeclarada em participantes. ELSA-Brasil, 2008-2010 (N=9.825).




| | Branca | Parda | Preta | Amarela | Indígena |
|---|---|---|---|---|---|
| Amerindia | 9,36 | 11,38 | 9,00 | 48,65 | 16,08 |
| Africana | 8,25 | 26,47 | 56,39 | 16,43 | 22,58 |
| Européia | 81,81 | 58,95 | 30,15 | 37,24 | 54,74 |

Fonte: elaborado pela autora.

Dos 9825 participantes que foram incluídos na análise de ancestralidade, 761 (7,7%) apresentaram Hb variante. Na tabela 3, apresenta-se a contribuição ancestral em cada um dos grupos de Hb variantes. A mediana de contribuição ancestral africana foi maior entre os portadores de HbS e tal valor se difere estatisticamente da média dos que não possuem HbS. Quando se considera a ancestralidade europeia, nota-se uma tendência oposta: a média dos portadores de HbS é significativamente menor em relação aos que não possuem tal Hb variante. Para HbC, a contribuição ancestral ameríndia e europeia foram menores entre os portadores de HbC, ao passo que na ancestralidade africana tal contribuição foi maior entre os que possuem tal variação de Hb. Não houve diferenças estatisticamente significantes nas contribuições ancestrais entre os indivíduos portadores e não portadores das Outras Hb Variantes.

Tabela 3: Contribuição da ancestralidade, de acordo com a presença e tipo de Hb variante. ELSA-Brasil, 2008-2010 (N=9.825).

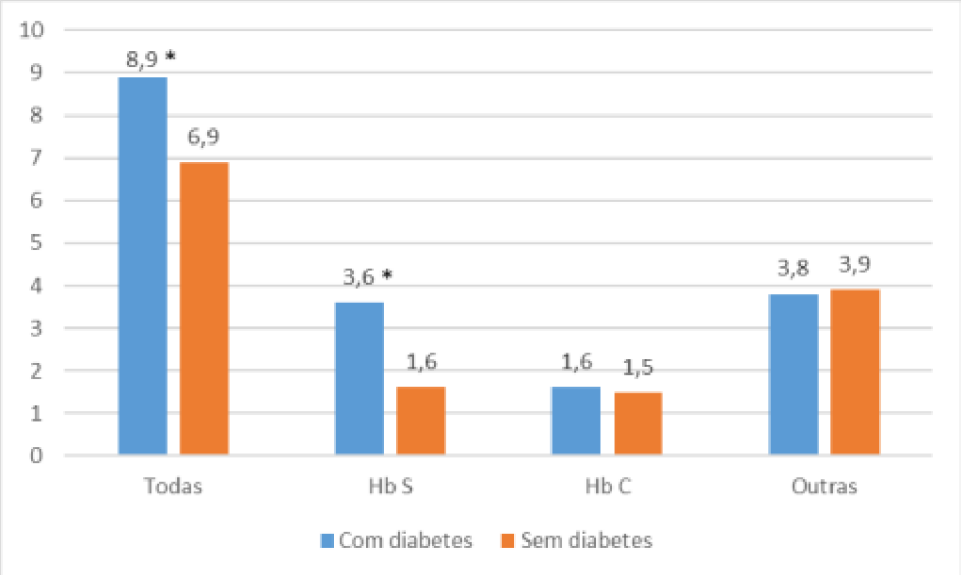
| **Ancestralidade (mediana %, IQ)** | **Todos (N=9.825)** | **HbS** | | **p** | **HbC** | | **p** | **Outras Hb Variantes** | | **p** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **Não (n=9.627)** | **Sim (n=198)** | | **Não (n=9.685)** | **Sim (n=140)** | | **Não (n=9.394)** | **Sim (n=431)** | |
| Ameríndia | 10,1 (5,6–17,1) | 10,1 (5,6–17,1) | 9,6 (5,2–17,3) | 0,824 | 10,1 (5,6–17,2) | 7,8 (4,9–13,5) | <0,001 | 10,1 (5,6–17,1) | 10,3 (5,3–18,7) | 0,262 |
| Africana | 17,3 (6,5–35,0) | 16,9 (6,3–34,5) | 38,4 (22,9–59,4) | <0,001 | 17,1 (6,4–34,7) | 36,4 (16,8–56,6) | <0,001 | 17,3 (6,4–35,0) | 17,3 (7,1–35,0) | 0,775 |
| Europeia | 68,8 (42,3–84,2) | 69,3 (42,8–84,4) | 45,9 (25,5–62,1) | <0,001 | 69,0 (42,6–84,3) | 52,1 (34,4–76,9) | <0,001 | 68,9 (42,6–84,2) | 66,9 (36,7–83,7) | 0,153 |

HbS: hemoglobina S; HbC: Hemoglobina C; IQ: Intervalo Interquartílico (P25 – P75). Mann-Whitney.

Fonte: elaborado pela autora

Ao avaliar a distribuição da prevalência das Hb variantes segundo o diagnóstico de diabetes, observamos que os diabéticos apresentaram prevalência significativamente maior (8,9% vs. 6,9%, p≤0,001) quando comparado com a população total. Na análise estratificada por tipo de Hb variante, apenas a HbS foi significativamente mais prevalente em indivíduos com diabetes em comparação aos que não possuem tal morbidade (Gráfico 3). Não houve diferença estatisticamente significante na prevalência das Outras Hb Variantes e da HbC entre os grupos com e sem diabetes. Foi realizada ainda regressão logística entre HbS e diabetes, ajustada por variáveis confundidoras (idade, sexo, raça/cor, escolaridade, circunferência da cintura, atividade física, hábito de fumar e histórico familiar de diabetes) e observou-se que indivíduos com essa hemoglobina variante têm mais chance de desenvolver diabetes (OR 2,45; IC95% 1,85-3,24).

Gráfico 3: Prevalência de Hb Variantes de acordo com presença e ausência do diabetes. ELSA-Brasil, 2008-2010 (N=15.089).




* p < 0,001, Qui-quadrado

Fonte: Elaborado pela autora.

## 6. DISCUSSÃO

No presente estudo, as prevalências de HbS e HbC foram maiores nos participantes nascidos na região Nordeste, ao passo que a prevalência de Outras Hb Variantes foi maior nos que nasceram na região Norte. Considerando a raça/cor autodeclarada, HbS e HbC predominaram em pretos e pardos. Quanto a ancestralidade, entre os portadores de HbS e HbC a média de contribuição ancestral africana foi maior e a europeia foi menor, em comparação aos que não possuem tais Hb variantes. É importante ressaltar ainda que a prevalência de Hb variantes foi maior entre os indivíduos com diabetes, sendo que após estratificação por tipo, observou-se diferença somente para HbS.

Nos resultados obtidos em nosso estudo não encontramos diferenças entre os sexos quando analisamos os grupos com HbS e HbC, o que já era esperado, pois trata-se de uma condição genética não ligada ao sexo. Entretanto, diferença entre os sexos já foi observada em alguns estudos, sendo explicada em função do tamanho da amostra, conforme relato de Felix et al (2010) que encontraram maior prevalência de HbS entre as mulheres (59,6% vs 40,4%). Em nosso estudo, na categoria de Outras Hb Variantes, a prevalência foi maior entre os homens (60,7% vs 39,3%). A identificação dessas Hb Variantes não foi realizada, não nos permitindo fazer inferências sobre este achado.

Ao analisar a escolaridade dos participantes observamos que os portadores das variantes HbS e HbC possuíam, em sua maioria ensino médio e fundamental. É possível que esse achado esteja relacionado com a distribuição dessas variantes entre os grupos de raça/cor, já que HbS e HbC predominaram entre pretos e pardos e 72,9% dos pretos e 59,8% dos pardos possuem ensino médio ou fundamental (dados não mostrados).

Quanto à distribuição espacial das variantes de Hb, um estudo com quilombolas apontou maior prevalência de heterozigotos para HbS nas regiões Norte e Nordeste (6% e 10%, respectivamente) e menores nas regiões Sul e Sudeste (2% e 3%, respectivamente) (BORGES et al, 2018). As maiores prevalências de HbS no Nordeste e no CI da Bahia, observadas no presente estudo, foram semelhantes àquelas relatadas por Murao & Ferraz (2007) que encontraram uma maior incidência do traço falciforme conforme aumentava a participação da população negra em cada região. Os autores observaram maior prevalência na Bahia (4,5%), seguido pelo Rio de Janeiro (4,0%) e destacando-se com a menor prevalência o estado de Santa Catarina (0,6%). Loureiro e Rozenfeld (2005), em estudo com 9.349 pacientes portadores de DF internados em hospitais da Bahia, Rio de

Janeiro e São Paulo, encontraram maior prevalência de HbS no estado da Bahia, relacionando o achado com o maior número de afrodescendentes nessa região do país. Embora a HbC possua características diferentes da HbS, essa variante também tem origem africana, o que pode explicar a distribuição geográfica que encontramos: mais frequente entre os nascidos na região Nordeste e entre os participantes do CI Bahia. No Brasil, HbC é menos prevalente que HbS e a sua homozigose é considerada benigna em relação à doença falciforme. Angulo & Picado (2009) destacam a importância de se conhecer melhor e estudar aspectos clínicos e hematológicos dos casos dessa mutação em homozigose e na interação com a talassemia beta. Souza et al (2013) apontaram em seu trabalho a necessidade de se considerar as interações entre HbC e outra variante de Hb, uma vez que essa agregação de variantes pode agravar o histórico do indivíduo. Embora não tenha sido possível identificar quais Hb compunham o grupo de Outras Hb Variantes, ao observar a ampla distribuição entre diferentes regiões do país, nossos resultados reforçam a importância de se criar políticas públicas direcionadas para investigação da prevalência de Outras Hb Variantes.

Na análise da ancestralidade genética observamos concordância entre a raça/cor autodeclarada e a participação de cada ancestral, o que suporta o resultado da análise entre Hb variantes e ancestralidade. Observamos que os indivíduos com HbS e HbC tinham participação significativamente maior do ancestral africano que os indivíduos sem essas variantes, ao passo que no grupo de Outras Hb Variantes não observamos diferenças significativas nas participações dos ancestrais da mesma forma que encontramos na análise de raça/cor autodeclarada. Como já discutido acima, a impossibilidade de identificar as variantes que compõem o grupo “outras” também limita a explicação da composição ancestral desse grupo. Já os dados de HbS e HbC reforçam o que já se tem relatado na literatura, de que ambas as variantes têm origem africana (LITLLE & ROBERTS 2009; SANTOS, 2015). Ainda que tenhamos observado a maior participação da ancestralidade africana nos portadores de HbS e HbC, há de se destacar que nossos dados mostram a grande miscigenação da nossa amostra. Esse achado deve ser levado em consideração, pois coloca a população brasileira em um patamar diferenciado, visto que Oliveira (2002) demonstrou que o comportamento de algumas doenças ligadas às etnias negras, seja na América, África ou Europa, podem ter características diferentes no Brasil em função da grande miscigenação de nossa população, demonstrando a necessidade de mais estudos sobre ancestralidade.

Em relação a distribuição do diabetes, nossos resultados demostraram que a prevalência de HbS foi maior no grupo com diabetes (3,6%) que na população sem diabetes (1,6%) (p<0,001) e, mesmo após ajuste por confundidores, a chance de ter diabetes foi mais que o dobro entre participantes com HbS (OR 2,45; IC95% 1,85-3,24). Um estudo de 150 indivíduos com diabetes, oriundos da cidade de Salvador, encontrou prevalência de HbAS de 26,7% e HbAC de 21,3% (Menezes et al., 2012). Zhang et. al. (2015) investigaram as bases genéticas do diabetes em pacientes com anemia falciforme e descobriram um polimorfismo na Apoliproteína B (componente do colesterol LDL). Essa alteração estava associada ao sobrepeso em adolescentes com anemia falciforme, ao risco de diabetes em afro-americanos com sobrepeso e sem anemia falciforme, e com concentrações elevadas de lipídios plasmáticos em populações em geral. Esses achados apresentam importante relevância, considerando o potencial de interferência das Hb variantes na dosagem da HbA1c nessa população. Rohlfing et al. (2016) avaliaram a medida de HbA1c por 12 métodos diferentes e encontraram que todos os métodos são afetados por uma ou mais variantes de Hb C, D Punjab, E ou traço falciforme, o que pode interferir no manejo clínico do indivíduo com diabetes.

Considerando que cerca de 7% da população mundial sejam portadores de Hb variante, Litlle & Roberts (2009), a partir de estimativas brutas, descreveram que em 2000, cerca de 12 milhões de pessoas com diabetes também tinham um distúrbio de Hb e, até 2030, este número pode aumentar para 26 milhões. Esses achados, associados à progressão do diabetes, observada ao longo dos anos, e às estimativas de crescimento dessa morbidade, chamam atenção para o risco de interferências causadas por Hb variantes nos testes para diagnóstico de diabetes (KHAWALI, 2016). Conhecer a presença de Hb variantes na população com diabetes pode ser importante para a seleção do método de determinação da HbA1c ou para a escolha do método diagnóstico e de seguimento desse paciente (RHEA & MOLINARO, 2014; LITLLE & ROBERTS, 2009). Ressalta-se que em indivíduos homozigotos para Hb variantes, que não possuem HbA, o diagnóstico e monitoramento do diabetes deve ser realizado com métodos alternativos, tais como dosagem de frutosamina, albumina glicada ou 1,5-anidroglucitol.

Entre as limitações do estudo está a não determinação de todas as Hb variantes detectadas, uma vez que o método utilizado visou a quantificação da HbA1c e permitiu distinguir especificamente apenas HbS e HbC. A população incluída nesse estudo apresentava faixa etária entre 35 e 74 anos, o que pode ter excluído indivíduos homozigotos, especialmente,

para HbS e HbC que apresentam uma sobrevida média de 40 e 60 anos respectivamente. Apesar do projeto envolver indivíduos nascidos em municípios de todas as macrorregiões do país, o número de participantes naturais de municípios das regiões Norte e Centro-Oeste correspondeu a apenas 1% (n-138) do total da população envolvida no estudo, o que pode ter comprometido as análises dos dados relativos a essas regiões.

Um ponto forte do trabalho, foi a realização do estudo da ancestralidade genética em 65,1% dos participantes (n=9825), que tinham amostras de DNA armazenadas pelo estudo nesse período. Além disso, o diagnóstico de diabetes incluiu todos os testes recomendados pela ADA.

## 7. CONCLUSÃO

Os resultados apresentados nesse trabalho mostraram uma maior prevalência dos alelos S e C em participantes oriundos da região Nordestes do país. Já o grupo de Outras Hb Variantes se diferiu das demais apresentando maior dispersão entre as regiões analisadas. Quando avaliamos essas prevalências segundo CI no qual este indivíduo estava lotado, as prevalências mantiveram-se distribuídas de maneira semelhante.

Os indivíduos que se autodeclararam pretos ou pardos apresentaram maior prevalência das Hb S e C, concordando com uma maior participação africana na composição genética como demonstrado pelo teste da ancestralidade.

Observou-se uma maior prevalência de Hb S entre indivíduos portadores de diabetes. Esse achado reforça a necessidade de uma abordagem mais profunda onde o clínico tenha conhecimento da situação do indivíduo, pois além das complicações hematológicas, a presença de algumas Hb variantes pode interferir na acurácia de alguns testes para controle e diagnóstico do diabetes. Além disso, deve-se avaliar a pertinência da revisão dos critérios diagnósticos do diabetes para populações com alta prevalência de Hb variantes.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabidamente existem centenas de Hb variantes distribuídas em todo mundo e algumas delas podem ser mais prevalentes em alguns países e/ou regiões em função da ancestralidade genética da população. Indivíduos homozigotos acabam por serem diagnosticados ao longo da vida em função das manifestações clínicas da doença. Já os heterozigotos, de maneira geral, não apresentam sintomas clínicos, tornando esse diagnóstico menos frequente ou condicionado aos testes de rastreio.

Entre os resultados desse estudo, destaca-se a maior prevalência da HbS entre os participantes com diabetes. O controle e o monitoramento do diabetes, por meio de dosagens seriadas de glicemia e HbA1c, é fundamental para minimizar as complicações frequentes do diabetes no decorrer da vida. Pacientes heterozigotos para Hb variantes podem apresentar resultados incorretos devido a interferência da Hb variante, podendo resultar em iatrogenia, repetições desnecessárias de exames e outras condutas inadequadas. Esses pacientes deveriam ser triados para que possam realizar o controle do diabetes utilizando métodos de dosagem de HbA1c que não sofram interferências da Hb variante detectada.

## 9. REFERÊNCIAS


ACCIOLY, J. **Anemia Falciforme: apresentação de um caso de com infantilismo**. Arq Fac Méd Univ Federal Bahia 2: 169-198, 1947.

ADA. **American Diabetes Association**. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes - 2019. Diabetes Care, v. 42, Suppl. 1, p. S13–S28. 2019

ANGASTINIOTIS M. et al. **Prevention and control of haemoglobinopathies**. Bull World Health Organ., v. 73, n. 3 p. 375-86, 1995.

ANGULO, I.L.; PICADO, B.R. **Hemoglobina C em homozigose e interação com talassemia beta**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v. 31, n. 6, p. 408-412. 2009.

AQUINO, E.M.L et al. **Brazilian Longitidinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil): objectives and design.** Am. J. Epidemio., v. 175, n. 4, p. 315-24, 2012.

ARAÚJO, M.C.P.E. et al**. Prevalência de hemoglobinas anormais em recém-nascidos da cidade de Natal, Rio Grande do Norte, Brasil**. Cad. Saúde Pública, v. 20, n. 1, p. 123-128, 2004.

AZEVEDO, E.S. **Subgroup studies of black and mixture within a mixed population of Bahia, Brasil**, Annals of Human Genetics, v. 44, n. 1, p. 55-60, 1980.

BALASUBRAMANIAM, J.; PHELAN, L.; BAIN, B.J. **Evaluation of a new screening test for sickle cell haemoglobin**. Clin Lab Haem, v. 23, n. 6, p. 379-83, 2001.

BONINI-DOMINGOS, C.R. **Prevenção das hemoglobinopatias no Brasil: diversidade genética e metodologia laboratorial**. Originalmente apresentada como tese de doutorado. Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista. 138 p. São José do Rio Preto, 1993.

BONINI-DOMINGOS, C.R. **Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de Hemoglobinopatias e Talassemias**. HN Editora, São José do Rio Preto, SP. p. 6-26, 2006.

BORGES, R.P.F. et al. **Sickle Cell Anemia In Quilombolas: A Literature Review Anemia Falciforme em Quilombolas: uma revisão de literatura**. Revista de Patologia do Tocantins, v. 5, n. 1, p. 34-37, 2018.

BRASIL. **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes.** Brasília: Anvisa, 2001. 142 p. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa/diagnostico.pdf>. Acessado em 05 de fevereiro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual de educação em saúde. V. 2. Linha de cuidado em doença**

**falciforme** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada. – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

CANÇADO, R.D.; JESUS, J.A. **A doença falciforme no Brasil**. Rev. bras. hematol. hemoter., v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.

CARVALHO-SILVA, B.R. et al. **The phylogeography of brasilian Y-chromossome lineages.** Am J. Hum. Genet., v. 68, n.1, p. 281-286, 2001.

CLARKE, G.M.; HIGGINS, TN. **Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias review and update**. Clinical Chemistry, v. 46, n. 8(B), p. 1284-1290, 2000

DAUDT, L.E et al. **Triagem neonatal para hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** Caderno de Saúde Pública, v. 18, n. 3, p. 833-841, 2002.

FEDELI, L.M.G**. Implementação do biobanco e do laboratório central e avaliação do protocolo de laboratório do ELSA-Brasil.** Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2013.

FELIX, A.A. et al. **Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v. 32, n.3, p. 203-208, 2010

FILHO, F.A. et al. **Variabilidade polimórfica das hemoglobinas humanas anormais em indivíduos das cidades de Barretos e Colina, SP, Brasil**. Rev.Bras.Patol.Clin., v. 24, n. 2, p. 32-39, 1988.

HARKNESS, D.R. **Sickle cell trait revisited**. Am J Med., v. 87, n. 3N, p. 30N-34N, 1989.

HERRICK, J.B. **Peculiar Elongated and Sickle-shaped Red Blood Corpuscles in a Case of Severe Anemia**. Arch Intern Med., v. 6, n. 5, p.517-521, 1910.

IBGE. **Brasil: 500 anos de povoamento**. Instituto Brasileiro de Geografia Estatística, Centro de Documentação e Disseminação de Informações. - Rio de Janeiro, IBGE, 2007. 232 p. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv6687.pdf>. Acessado em 12 de janeiro de 2019.

IBGE. Censo 2010 - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Características da população e dos domicílios.** Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br/> Acessado em 12 de fevereiro de 2019.

INGRAM, V.M. **Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin**. Nature, v. 180, p. 326-328, 1957.

INTERNATIONAL EXPERT COMMITTEE. **International Expert Committee report on the role of the A1C assay in the diagnosis. of diabetes**. Diabetes Care v. 32, n. 7, p. 1327–1334, 2009.

KHAWALI, C. **Diabetes**. In: Diretrizes para a gestão e garantia da qualidade de Testes Laboratoriais Remotos (TRL) da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial (SBPC/ML), 2ª edição, Manole, 2016. Cap. 8, p 161-176.

KONOTEY-AHULU, F.I.D. **Hereditary qualitative and quantitative erythrocyte defects in Ghana. An historical and geographical survey**. Ghana Med J, v. 7, p. 118–119, 1968.

LAVOURAS, L.I.C. **Hemoglobinopatias: Diagnóstico Laboratorial e sua importância**. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade de Lisboa, 2015. 67p.

LISOT, C.L.A.; SILLA, L.M.R. **Triagem de hemoglobinopatias em doadores de sangue de Caxias do Dul, Brasil: prevalência em área de colonização italiana**. Cad. Saúde Pública, v. 20, n. 6, p. 1595-1601, 2004.

LITTLE, R.R.; ROBERTS, W.L. **A Review of Variant Hemoglobins Interfering with Hemoglobin A1C Measurement**. Journal of Diabetes Science and Technology, v. 3, n. 3, p. 446-451, 2009.

LITTLE, R.R. et al. **Effects of hemoglobin (Hb) E and HbD traits on measurements of glycated Hb (HbA1c) by 23 methods**. Clin Chem., v. 54, n. 8, p. 1277-82, 2008.

LITTLE, R.R. et al. **The effect of increased fetal hemoglobin on 7 common Hb A1c assay methods**. Clin Chem. v. 58, n. 5, p. 945-7, 2012.

LORENZI, T.F. **Anemias**. In: Manual da Hematologia Propedêutica e Clínica, 2 ed. Guanabara Koogan, 2003. Cap. 3, p 253-287.

LOUREIRO, M.M.; ROZENFELD, S. **Epidemiologia de internações por doença falciforme no Brasil**. Rev Saúde Pública, v. 39, n. 6, p. 943-949, 2005.
MAX F. PERUTZ - BIOGRAPHICAL. NobelPrize.org. Nobel Media AB 2019. Disponível em: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1962/perutz/biographical/. Acessado em 20 de Janeiro de 2019.

MENEZES M.G.S. et al. **Determinação de HbA1c por CLAE: interferência de variantes de hemoglobinas S e C e alta concentração de HbF**. J Bras Patol Med Lab, v. 48, n. 5, p. 337-344, 2012.

MURAO, M.; FERRAZ, M.H.C. **Traço falciforme - heterozigose para hemoglobina S**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter, v. 29, n. 3, p. 223-225.

NAOUM, P.C. **Anemias imigrantes: origem das anemias hereditárias no Brasil**. Ciência Hoje, v.3, n. 14, p. 59-64, 1984.

NEEL, J.V. **The clinical detection of the genetic carriers of inherited disease**. Medicine, v. 26, p.115-154, 1947.

NETTO, A.P. et al. **Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais**. Bras Patol Med Lab. v. 45, n.1, p. 31-48, 2009.

OLIVEIRA F. **Saúde da população negra: Brasil ano 2001**. 2. ed. Brasília: Organização Pan-Americana da saúde, 2002, 344 p.

ÖZSOYLU, S. **Homozygous Hemoglobin D Punjab**. Acta Haematologica, v. 43, n. 6, p. 353–359, 1970.

PAULING, L.; ITANO, H.A. **Sickle cell anemia a molecular disease**. Science, v. 110, p. 543-548, 1949.
PAIVA-SILVA, R.B; RAMALHO, A.S.; CASSORLA, R.M.S. **A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil**. Rev Saúde Pública, v. 27, n. 1, p. 54-8, 1993.

RAMALHO, A.S. **A talassemia minor como causa da anemia no Estado de São Paulo**. Rev. Bras. Pat. Clin., v. 22, p. 32-38, 1986.

RAMALHO, A.S.; MAGNA, L.A.; PAIVA-E-SILVA, R.B.A. **Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as Peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil**. Caderno de Saúde Pública, v. 19, n. 4, p. 1195-1199, 2003.

REEVE, J. et al.. **Incidental detection of haemoglobin (Hb) variants during high performance liquid chromatography (HPLC) analysis of HbA1c: is it time for a standardised approach to reporting?** Ir J Med Sci., v. 184, n. 2, p. 353-355, 2015.

RIBEIRO, D. **O povo brasileiro: a formação e o sentido do Brasil**. 2ª edição. Ed. Companhia das Letras, São Paulo, 1995. 477 p. Disponível em: <http://www.iphi.org.br/sites/filosofia_brasil/Darcy_Ribeiro_-_O_povo_Brasileiro-_a_forma%C3%A7%C3%A3o_e_o_sentido_do_Brasil.pdf>. Acessado em 15 de janeiro de 2019.

RHEA, J.M.; MOLINARO R. **Pathology Consultation on HbA1c Methods and Interferences**. Am J Clin Pathol, v. 141, p. 5-16, 2014.

RHEA, J.M.; ROBERTS-WILSON, T.K.; MOLINARO, R.J. **Impacto das variantes da hemoglobina na interpretação da hemoglobina glicada: supomos demais?** Med Lab Obs., v. 44, p. 8-20, 2012.

ROHLFING, C. et al. **Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods**. Clin Chim Acta, v. 455, p. 80-83, 2016.

ROHLFING, C.L. et al. **The effect of elevated fetal hemoglobin on hemoglobin$A_{1c}$ results: five common hemoglobin$A_{1c}$ methods compared with the IFCC reference method**. American Journal of Clinical Pathology, v. 129, n. 5, p. 811–814, 2008.

SACKS, D.B. **Carbohydrate**. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R., editors. Tietz textbook of clinical chemistry. Philadelphia, W.B. Saunders Company 1999; p.750-808.

SANTOS, H.C. **Associação de etinia autoreferida e ancestralidade genética com fatores de risco de doença cardiovascular em uma amostra populacional brasileira: ELSA-Brasil**. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, 2015.

SHARMA P., DAS R. **Cation-exchange high-performance liquid chromatography for variant hemoglobins and HbF/A2: What must hematopathologists know about methodolgy**? World J Methodol v. 6, n. 1, p. 20-24, 2016.

SICKLE CELL DISEASE GUIDELINE PANEL. **Sickle Cell Disease: Screening, Diagnosis, Management, and Counseling in Newborns and Infants**. Clinical Practice Guideline No. 6. AHCRP Pub. No 93-0562. Rockville, MD: Agency for Health Care Policy and Research, Public Health Service, U.S. Department of Health and Human Services. April 1993.

Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial. **Recomendações da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/ Medicina Laboratorial para coleta de sangue venoso** – 2 ed. Barueri, SP: Manole: Minha Editora, 2010. 130 p.

SOUZA, L.O. et al. **Triagem das hemoglobinas S e C e a influência das condições sociais na sua distribuição: um estudo em quatro comunidades quilombolas do Estado do Tocantins**. Saúde Soc. v. 22, n. 4, p. 1236-1246, 2013.

SUMITA, N.M., ANDRIOLO, A. **Importância da hemoglobina glicada no controle do diabetes e na avaliação de risco das complicações crônicas**. J Bras Patol Med Lab, v. 44, n. 3, p.169-174, 2008.

TEIXEIRA, P.M. **Hemoglobinopatias: clínica, diagnóstico e terapêutica**. Originalmente apresentada como dissertação de mestrado. Universidade de Coimbra, 2014. 82p.

VIVAS, W.L.P. et al**. Heterozigose para hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe**. Rev.Bras.Hematol.Hemoter., v. 28, n. 4, p. 284-287, 2006.

WATANABE, A.M. et al. **Prevalência da hemoglobina S no estado do Paraná, Brasil, obtida pela triagem neonatal**. Cad. Saúde Pública, v. 24, n. 5, p. 993-1000, 2008.

WILLIAMS, T.N.; WEATHERALL, D.J. **World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies.** Cold Spring Harb. Perspect. Med. v. 2, n. 9, p. a011692, 2012.

ZAGO[a], M.A. Estrutura, Síntese e Genética das Hemoglobinas. In: ZAGO, M.A.; FALCAO, R.P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**, 2013. Cap. 25, p. 193-197.

ZAGO[b], M.A. Defeitos Hereditários da Hemoglobina. In: ZAGO, M.A.; FALCAO, R.P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**, 2013. Cap. 26, p. 199-203.

ZHANG X. et al. **Genetic polymorphism of APOB is associated with diabetes mellitus in sickle cell disease**. Hum Genet, v. 134, n. 8, p. 895-904, 2015.

# ANEXO

Aprovação do ELSA-Brasil na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)

Fls. nº 109
Rubrica

**MINISTÉRIO DA SAÚDE**
Conselho Nacional de Saúde
Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

**CARTA Nº 976 CONEP/CNS/MS** Brasília, 04 de agosto de 2006.

Senhora Coordenadora,

Tendo a CONEP recebido desse CEP o projeto de pesquisa ***"Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto – ELSA"*** Registro CEP-HU/USP 659/06 - CAAE 0016.1.198.000-06, Registro Sipar MS: nº 25000.083729/2006-38, Registro CONEP nº 13065, verifica-se que:

Trata-se de protocolo a ser desenvolvido por consórcio vencedor da Chamada Pública DECIT/MS/FINEP/CNPq que foi constituído por sete instituições de ensino superior e pesquisa de seis estados, das regiões Nordeste (Universidade Federal da Bahia), Sudeste (FIOCRUZ/RJ, USP, UERJ, UFMG e UFES) e Sul (UFRS). Será um estudo de coorte de 15 mil funcionários de instituições públicas com idade igual ou superior a 35 anos. A coorte será acompanhada anualmente para verificação do estado geral e, a cada três anos, será chamada para avaliações mais detalhadas que incluem exames clínicos. Os sujeitos de pesquisa serão entrevistados por pessoas treinadas e certificadas e os exames serão realizados por profissionais de saúde. O estudo tem como objetivos principais: estimar a incidência do diabetes e das doenças cardiovasculares e estudar sua história natural; investigar associações entre fatores biológicos, comportamentais, ambientais, ocupacionais, psicológicos e sociais relacionados a essas doenças e complicações decorrentes, buscando compor modelo causal que contemple suas inter-relações; descrever a evolução temporal desses fatores e os determinantes dessa evolução; identificar modificadores de efeito das associações observadas; identificar diferenciais nos padrões de risco entre os centros participantes que possam expressar variações regionais relacionadas a essas doenças no país. Dentre os objetivos secundários *consta "estocar material biológico, para estudos futuros com diversos tipos de marcadores relacionados à inflamação, coagulação, disfunção endotelial, resistência à insulina, obesidade central, estresse e fatores de risco tradicionais, bem como prover a extração de DNA para exames genéticos futuros"*. De acordo com informação da pág. 11 do protocolo, item "coleta de sangue", as amostras de sangue serão estocadas para

Fls. nº: 110
Rubrica

Cont. Carta CONEP nº 976/2006

exames adicionais e formação de banco de DNA. Haverá um laboratório central que fará as "determinações básicas do estudo em amostras encaminhadas pelos centros de investigação", as "determinações simples" serão feitas nos próprios laboratórios. O banco de material biológico está em fase de planejamento com local e coordenador a serem definidos.

Diante do exposto, embora nos objetivos do estudo verifica-se que haverá também pesquisa genética, pelas informações do protocolo tal pesquisa não será realizada no momento, não estando descrito ainda (nem no protocolo, nem no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido-TCLE) os procedimentos para tal. Portanto, nesse primeiro momento do estudo não se trata de projeto da área temática especial "genética humana" (Grupo I), conforme registrado na folha de rosto, mas sim, do grupo III. Nesse caso, a aprovação ética é delegada ao Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, devendo ser seguido o procedimento para projetos do grupo III, conforme o fluxograma disponível no site : http://conselho.saude.gov.br e no Manual Operacional para CEP. Não cabe, portanto, a referência a CONEP no 3º parágrafo da pág. 1 e no 6º parágrafo da pág.2 do TCLE. Evidenciamos, entretanto, que o armazenamento e utilização de materiais biológicos humanos no âmbito de projetos de pesquisa está regulamentado pela Resolução CNS 347/2005 e que o projeto em questão deve incluir as determinações dessa resolução. Quando for elaborado o protocolo para os estudos genéticos, deverá também ser cumprida a Resolução CNS 340/04 incluindo obtenção de TCLE específico. Em se tratando de pesquisa com funcionários de instituições públicas, cabe ressaltar o disposto no item IV.3 "b" da Res. 196/96.

Atenciosamente ,

**CORINA BONTEMPO DUCA DE FREITAS**
Secretária Executiva da
COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

Á Sua Senhoria
Sr(a) Maria Teresa Zulini da Costa
Cordenadora Comitê de Ética em Pesquisas
Hospital Universitário da Universidade de São Paulo - HU/USP
Av. Profº Lineu Prestes, 2565
Cidade Universitária São Paulo
Cep:05.508-900

C/ cópia para os CEPs: UFBA, FIOCRUZ/RJ,UERJ, UFMG, UFES e UFRS