

Mestrado em Biologia Humana e Ambiente  
FCUL, 24 de novembro de 2021

## As doenças genéticas relacionadas com a Hemoglobina – as Hemoglobinopatias

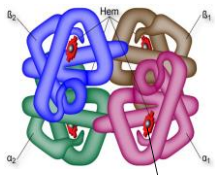
Paula Faustino, PhD  
Unidade de Investigação e Desenvolvimento  
Departamento de Genética Humana, INSA

paula.faustino@insa.min-saude.pt

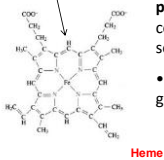
## Sumário

- A Hemoglobina – estrutura e função
- As diferentes hemoglobinas ao longo do desenvolvimento
- Os genes globínicos
- As Hemoglobinopatias – Talassémias e variantes da hemoglobina
  - Transmissibilidade
  - Fenótipos clínicos e hematológicos e as bases genéticas
  - Os fatores modificadores dos fenótipos
  - Tratamento

## A Hemoglobina - estrutura



Hemoglobina A

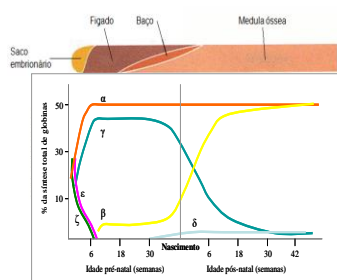


Heme

- A Hemoglobina (Hb) é uma molécula tetramérica, constituída por dois pares de diferentes subunidades proteicas, chamadas **globinas**, duas do tipo alfa e duas do tipo beta ( $\alpha_2\beta_2$ )
- A Hb é uma **metaloproteína** visto que cada cadeia globínica está ligada a um **grupo prostético** - o **Heme** (formado por um complexo de **protoporfirina e ferro**) ao qual se liga o oxigénio.
- A Hb tem um PM= 64 kDa (4 cadeias de globina e 4 grupos heme)

## As diferentes globinas e hemoglobinas ao longo do desenvolvimento

Local da eritropoiese

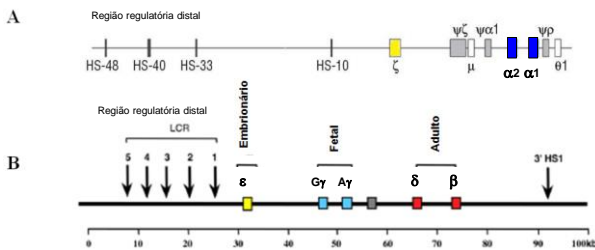


Expressão diferencial das **globinas** ao longo do desenvolvimento

### Hemoglobinas

Período Embriónico	Período Fetal	Período Adulto
Hb Gower 1 ( $\zeta_2\epsilon_2$ )		HbA ( $\alpha_2\beta_2$ )
Hb Gower 2 ( $\alpha_2\epsilon_2$ )	HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ )	HbA <sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ )
Hb Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ )		Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ )

## A estrutura dos agrupamentos genéticos das globinas



A - Agrupamento genético do α-globina (cromossoma 16)  
B - Agrupamento genético do β-globina (cromossoma 11)

## As patologias que envolvem a Hemoglobina – as hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias constituem o grupo de patologias genéticas mais comuns nas populações humanas. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) cerca de 250 milhões de pessoas em todo o Mundo são portadoras de algum tipo de hemoglobinopatia.

• **Hemoglobinopatia do tipo qualitativo - Variantes da Hemoglobina** resultantes da alteração da estrutura de uma cadeia globínica, a maioria afectando as cadeias α ou β globina, ex: Hb S (drepanocitose ou anemia das células falciformes), Hb C, Hb D.

• **Hemoglobinopatias do tipo quantitativas - Talassémias** resultantes da ausência ou diminuição de síntese de uma cadeia globínica, ex: **beta-talassémia**, **alfa-talassémia**, persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPPH).

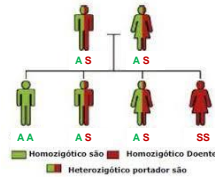
## Hemoglobinopatias – como se transmitem?

As hemoglobinopatias são **doenças hereditárias** da hemoglobina que se **transmitem de um modo autossômico recessivo**.

O **portador** (indivíduo heterozigótico) é, geralmente, clinicamente assintomático e apresenta alterações hematológicas suaves ou moderadas.

O **doente** apresenta manifestações clínicas graves.

Um casal em que ambos os membros sejam portadores de uma hemoglobinopatia tem, em cada gravidez, o risco de 25% de gerar um descendente afetado com a doença.



## Hemoglobinopatias – o que as causa?

Doenças genéticas causadas por

- **Mutações pontuais** (alteração de um só nucleótido)
- **Deleções/insersões**
  - nos genes globínicos
  - nas regiões regulatórias (próximas ou distais) dos genes globínicos

## Hemoglobinopatias – o que as causa?

Exemplo de mutações no gene da beta-globina e as suas diferentes consequências

- Mutações localizadas nos exões e que alteram a codificação de um códon: **mutação missense** >> alteração de aa >> variante de Hb (Hemoglobinopatia qualitativa)  
 Ex. códon 6 de *HBB*, GAT>GTG (Glu>Val)

- Mutações **nonsense**, ou que afetem o **splicing**, ou no **codão de iniciação**, etc >> diminuição da expressão do gene >> **talassémia** (Hemoglobinopatia quantitativa)



As mutações **beta-talassémicas** mais comuns em Portugal:

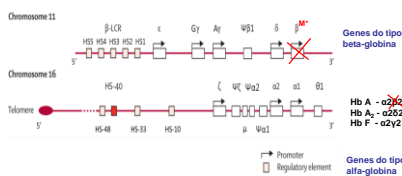
- Mutação em IVS-I-1 (G>A); *HBB*:c.92+1G>A; (tipo  $\beta^0$ )
- Mutação em IVS-I-6 (T>C); *HBB*:c.92+6T>C; (tipo  $\beta^+$ )
- Mutação em IVS-I-110 (G>A); *HBB*:c.92+110G>A; (tipo  $\beta^+$ )
- Mutação no códon 39 (CAG>TAG); *HBB*:c.118C>A (tipo  $\beta^0$ )

## A base molecular das talassémias

**Problema quantitativo** -> diminuição ou ausência de síntese da respetiva cadeia globínica

- A beta-talassémia
- A alfa-talassémia

## A base molecular da beta-talassémia



**M\*** - Mutação que afeta a expressão do gene:  
**Totalmente** - talassémia do tipo  $\beta^0$   
**Parcialmente** - talassémia do tipo  $\beta^+$

Tipos de mutações, ex.: originam códon de stop prematuro, ou afetam o **splicing**, afetam o codão de iniciação, etc

## A Beta-talassémia Fisiopatologia

$\alpha_2\beta_2$  → Diminuição do número de tetraméros de Hb >> **anemia muito grave**

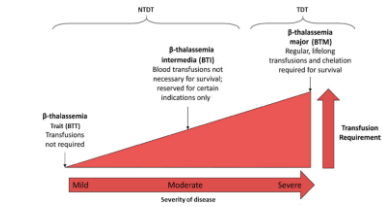
Precipitação das cadeias alfa-globina nos precursores eritroides, ainda na medula óssea >> **destruição precoce dos glóbulos ainda em formação; eritropoiese ineficaz**

## Beta-talassémia - classificação

As  $\beta$ -talassémias são um grupo de anemias hereditárias resultantes de redução ou ausência de síntese da cadeia da  $\beta$ -globina.

- Em **termos bioquímicos** podem ser classificada em  $\beta^0$  (ausência de síntese da cadeia) ou  $\beta^+$  (redução de síntese da cadeia).
- Em **termos genéticos** podem ser classificadas em **heterozigotia** (portador), **homozigotia** e **compostos heterozigóticos**.
- Em **termos clínicos** podem ser classificadas em **talassémia major** (dependente de transfusões), **intermédia e minor** (assintomática).

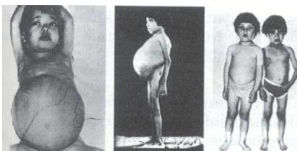
## A gravidade da beta-talassémia



Espectro de gravidade da  $\beta$ -talassémia de acordo com a necessidade de transfusões sanguíneas.

Adaptado de Salah et al. "Revisiting beta thalassaemia intermedia: past, present, and future prospects." Hematology, vol. 22, no. 10, pp. 607-616, Nov 2017.

## Beta-talassémia: fenótipo clínico e hematológico



### • Doente

Anemia muito grave  
Esplenomegalia e Hepatomegalia  
Deformações ósseas  
Eritropoiese extramedular

Hb 3-7 g/dL; MCV 50-60fl; MCH 12-18pg

HbA2 pode estar N ou ligeiramente  $\uparrow$

### • Portador

Geralmente é clinicamente assintomático, mas com um fenótipo hematológico típico:

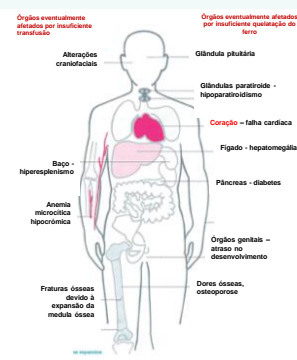
GV  $\uparrow$  (eritrocitose)

VGM  $<$  80 fl (microcitose)

HGM  $<$  27 pg (hipocromia)

HbA2  $>$  3,5% (HbA<sub>2</sub> aumentada)

## Possíveis manifestações clínicas num doente com talassémia major não tratado



Adaptado de Machin A, 2014, InnovAT, 7(3), 558

## - As Alfa-talassémias

### Fisiopatologia

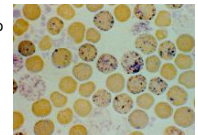
~~$2\beta 2$~~   $\rightarrow$  Diminuição do número de tetrâmeros de Hb  $\gg$  anemia muito grave

Agregação das cadeias de beta-globina em excesso formando homotetrâmeros ( $\beta 4 = \text{HbH}$ )

## Alfa-talassémia - Fisiopatologia

Os **homotetrâmeros  $\beta 4$**  são solúveis não havendo precipitação significativa na medula.

Os tetrâmeros vão precipitando à medida que o eritrócito vai envelhecendo, dando origem à formação de corpos de inclusão (**corpos de HbH**).



Os GV vão sendo destruídos no baço.

A anemia é sobretudo devido à redução do tempo de vida dos GV.

**Diagnóstico de alfa-talassémia:** deteção da deleção no agrupamento génico da  $\alpha$ -globina por métodos de biologia molecular (Gap-PCR)

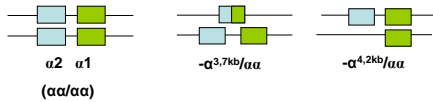
## A alfa-talassémia

A alfa-talassémia é um grupo de condições resultantes de uma redução de síntese das cadeias da alfa-globina ( $\alpha_2\beta_2$ )

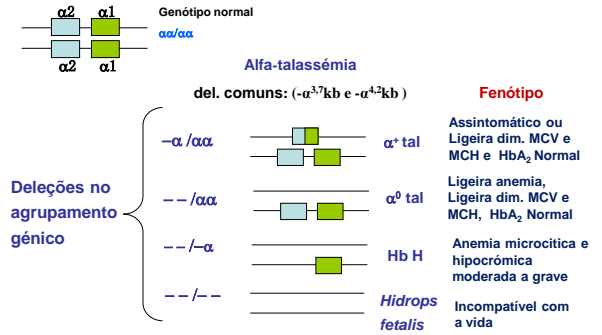
A base molecular da  $\alpha$ -talassémia é sobretudo deleccional.

As deleções mais comuns na nossa população são:

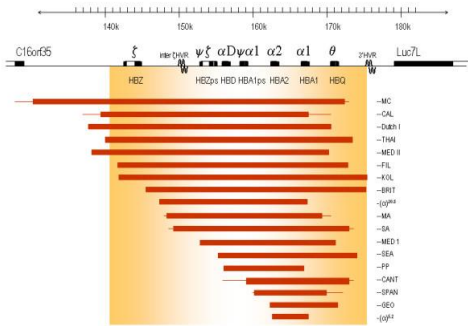
$-\alpha^{3.7kb}$  e  $-\alpha^{4.2kb}$ .



## Lesão molecular na origem da alfa-talassémia



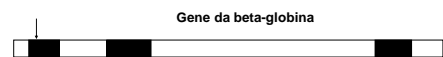
## Grandes deleções no agrupamento génico da alfa-globina causadoras de alfa-talassémia



## As hemoglobinopatias do tipo qualitativo

- As variantes da Hemoglobina
- São originadas por mutações *missense* nos genes globínicos ou, raramente, por deleções.

## Drepanocitose ou Anemia das células falciformes



Codão 6 GAG>GTG  
(Ac. Glutâmico > Valina) → Hb S

A Hb S produz efeitos deletérios porque, em desoxigenação, há redução da sua solubilidade e ocorre **polimerização**.

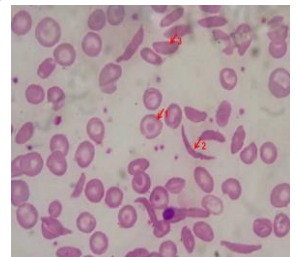
Formam-se grandes polímeros que deformam o GV (forma de foice).

drepanócito



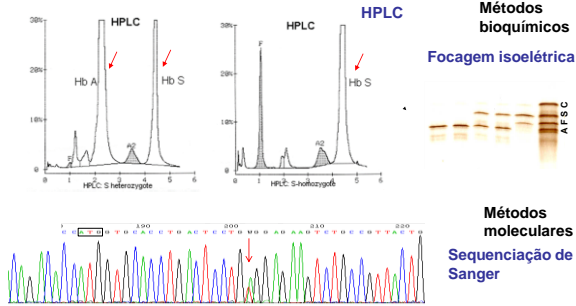
## Hematologia dos doentes com drepanocitose

- Drepanócitos (de ocasionais a 30-40%)
- Células em alvo (*target cells*)
- Policromasia
- Células em forma de barco "*boat-shaped cells*"
- Células irregularmente contraídas "*hemi-ghosts*"
- Glóbulos vermelhos nucleados
- etc



- Glóbulo vermelho em alvo (*target cell*)
- Drepanócito em forma de foice
- GV em forma elíptica ou de barco

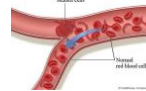
## Diagnóstico da drepanocitose



Sequenciação parcial do gene *HBB* revelando a presença em heterozigotia de uma alteração no códon 6, de **GAT>GTG**, *HBB:c.20 A>T*. Esta mutação no DNA provoca uma alteração do aminoácido 6 da cadeia beta globínica (beta 6 Glu>Val) e que origina a **Hb S**.

## Quais são os sintomas da doença ?

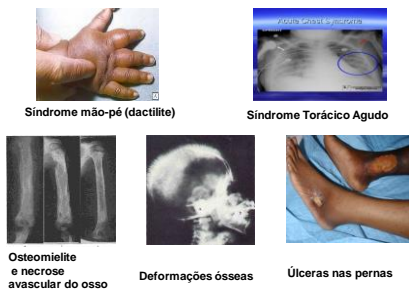
Os sintomas da drepanocitose caracterizam-se por:  
**Anemia crónica** devida à hemólise (rompimento) precoce dos drepanócitos;  
**Infeções recorrentes**;  
**Crises de dor muito intensa** devida à oclusão dos vasos sanguíneos e consequente falta de oxigenação das células.



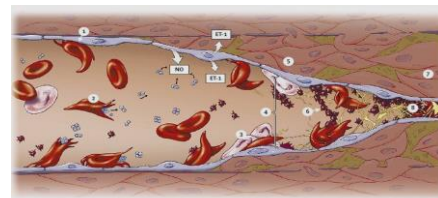
## Manifestações clínicas da drepanocitose



## Drepanocitose – ex. de manifestações clínicas



## Manifestações celulares e moleculares associadas à hemólise e vaso-occlusão na drepanocitose



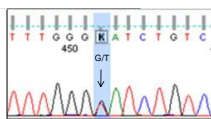
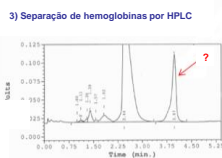
Os drepanócitos possuem propriedades diferentes dos glóbulos vermelhos normais, têm grande capacidade de adesão às paredes dos vasos sanguíneos (1) e sofrem hemólise (rompimento) precoce (2). O revestimento celular dos vasos sanguíneos (o endotélio) é ativado e expressa uma série de moléculas específicas que promovem a adesão de outras células sanguíneas, tais como, leucócitos (3) e plaquetas (6), e libertação de moléculas com atividade vasoconstritora (por ex., a endotelina, ET-1). A hemoglobina livre proveniente dos drepanócitos que hemolisaram consome óxido nítrico (NO; gás com ação vasodilatadora) contribuindo assim para diminuir o tônus vascular (4). Simultaneamente, há remodelação do tecido vascular devido à proliferação das células musculares lisas e fibroblastos na camada íntima do endotélio (5) o que leva ao espessamento da parede do vaso. Por fim ocorre vasculopatia (7) e oclusão do vaso (8).

## Outras variantes da hemoglobina

1) Hemograma:  
 GV =  $3,80 \times 10^{12}$   
 Hbs = 10,4 g/dL  
 VGM = 87,9 fL  
 HGM = 24,4 pg  
 Anemia hipocrômica

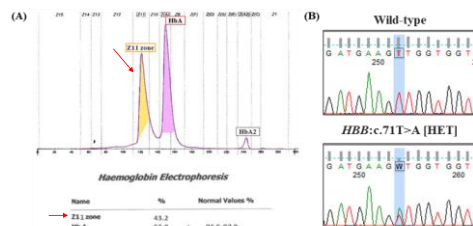
2) Separação de hemoglobinas por eletroforese capilar

Hb A	78,1 %
Hb X	18,9 %
Hb A2	3,0 %



Por sequenciação do DNA foi detetada uma alteração em heterozigotia no exão 2 do gene da beta-globina (*HBB*), códon 47 de **GAT>TAT**; *HBB:c.142 G>T*. Esta alteração é também conhecida como beta 47 (CD6) Asp>Tyr originando um variante de hemoglobina conhecida com **Hb de Maputo** (rs33932070).

## Outras variantes da Hemoglobina



Caracterização bioquímica e molecular de uma variante de hemoglobina – **Hb Strasbourg**. (A) Perfil de separação eletroforética mostrando um pico de hemoglobina variante na "Z11 zone" (amarelo); (B) Sequenciação parcial do gene *HBB*, por método de Sanger, mostrando a variante em heterozigotia no exão 1: c.71T>A (beta 23(85) Val>Asp).

## Outras variantes da Hemoglobina

Há variantes de hemoglobina que são patogénicas.

Exemplo: **Hb Malmö** – Hb de elevada afinidade para o oxigénio

Origina hipóxia tecidual e eritrocitose. O risco de trombose aumenta. O quadro pode ser confundida com policitemia vera.

Parâmetros hematológicos	Criança de 6 anos, sexo masculino
GV (10 <sup>12</sup> /L)	9,02
Hb (g/dL)	20,8

Ex: **Hb Malmö**  
( $\beta$  97 CAC>CAA; substituição do aa Histidina por Ácido Glutâmico na posição 97 da cadeia da beta-globina)

**As hemoglobinopatias são doenças monogénicas mas apresentam grande variabilidade clínica. Porquê?**

## Fatores modificadores do fenótipo da drepanocitose

### 1- A co-herança de alfa-talassémia

- A co-herança da drepanocitose (SS) com alfa-talassémia origina um esfregaço com menos drepanócitos mas mais células em alvo.
- A perda de função esplênica é retardada.
- Observa-se microcitose e hipocromia.
- Melhoria no nível de hemólise crónica – observada por níveis mais baixos de bilirrubina e de contagem de reticulócitos

## Alteração no grau de hemólise pela co-herança de $\alpha$ -talassémia com drepanocitose

Gene	Alelo associado	Presença do alelo associado	Nº de doentes	Marcadores de Hemólise			
				Bilirrubina total (mg/dL) média $\pm$ dp	$p$	Contagem de reticulócitos (%) média $\pm$ dp	$p$
HBA	del 3,7kb	sim	41	2,04 $\pm$ 0,40	$p=0,002$		$p>0,001$
		não	52	2,80 $\pm$ 0,40			
		sim	42		8,77 $\pm$ 0,48		
		não	53		13,21 $\pm$ 0,73		

Alfa-talassémia: a presença da deleção de 3,7kb no gene *HBA* foi encontrada em associação com níveis mais baixos de hemólise (evidenciados pelo menor nível de bilirrubina total e menor contagem de reticulócitos).

Os doentes que apresentam a deleção de pelo menos um gene *HBA* têm uma hemólise reduzida em resultado de uma mais baixa concentração intracelular de HbS, a qual, por seu lado, diminui os danos celulares (falciformação) associados à polimerização da HbS.

Coelho et al, Eur J Haematol. 2014 Mar;92(3):237- 43.

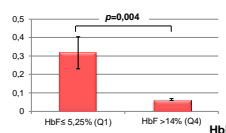
## Fatores modificadores dos fenótipos da drepanocitose

### 2- O nível de hemoglobina fetal (HbF)

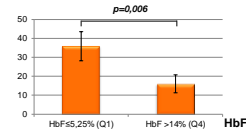
- A hemoglobina fetal não polimeriza juntamente com a HbS
- É geralmente associada a menor morbidade e mortalidade
- Este conhecimento foi usado para o tratamento da doença (Hidroxiureia >> aumento de HbF >> melhoria dos sintomas, maior sobrevivência)

## Associação dos níveis de HbF com a gravidade da drepanocitose

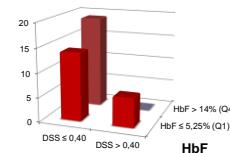
Disease Severity Score



Pediatric Severity Score



Nº de doentes SS



Há uma nítida associação entre os níveis elevados da HbF com menor gravidade da doença, medida pelos scores de gravidade DSS e PSS.

Coelho A, et al, European Journal of Haematology, 2012, 89(6): 501-502.

### Baixos níveis de Hb F associados a risco de AVC na criança com drepanocitose

Num estudo de 66 crianças com drepanocitose divididas em 3 grupos:

- **Stroke (AVC)** n=13; fizeram pelo menos 1 AVC entre os 5 e os 13 anos.
- **Risco** n= 29; TCD >170 cm/s ou com enfartes silenciosos
- **Controlo** n=24; normal TCD e sem patologia na ressonância magnética

High HbF >10% HbF – 36 doentes

Low HbF <10% HbF – 30 doentes

Comparação entre o nível de Hb F (alto ou baixo) entre os grupos com ACV vs controlos

Hematological parameter	Groups	Wilcoxon-Mann-Whitney test for homogeneity (p-value)	Contingency Table		Association		Associated group
			Group	Low HbF	High HbF	Fisher's exact test	
Fetal hemoglobin	Stroke	0.008	Stroke	7	1	0.037	Stroke (Low HbF)
	Control	0.013*		9	15		
	Stroke	0.002	Control	9	15	0.149*	
	Risk	0.007*		7	1		

TCD = Ecodoppler transcraniano

Fator de risco

### O que condiciona os níveis de hemoglobina fetal?

- Fatores não genéticos (ex. a idade)
- Fatores genéticos

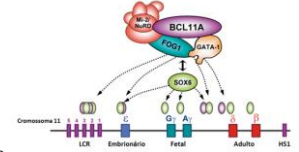
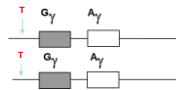
#### • Globínicos

– Polimorfismos nos promotores dos genes gama-globina

#### • Não globínicos (fatores transcricionais em trans)

– Variantes genéticas em BCL11A

#### rs74821144 (C/T)



rs74821144 (aleloT), localizado a -158 nt do gene gama-globina (HBG2), está associado a níveis elevados da expressão do referido gene

Adaptado de Xu et al. 2010

### Fatores modificadores dos fenótipos da drepanocitose

#### • 3. Outros fatores genéticos modificadores

Variantes em genes relacionados com moléculas de adesão das células sanguíneas ao endotélio vascular:

- » Gene **VCAM1**
- » Gene **CD36**

Variantes em genes relacionados com o metabolismo do óxido nítrico (NO) (vasodilatador natural)

- » Gene **NOS3**

### Modificadores genéticos do fenótipo da drepanocitose



#### AVC isquémico

Gene	Variante/Haplótipo	Efeito Vascular Cerebral Previsto	p	Odds ratio	IC <sub>95%</sub>
VCAM1	rs1409419_T	AVC	0,041	4,17	1,04–16,73
		Risco de AVC	0,009	4,71	1,57–14,13
	Haplótipo 7	AVC	0,041	4,17	1,04–16,73
		Risco de AVC	0,009	4,71	1,57–14,13
NOS3	Haplótipo 3	Risco reduzido de AVC	0,045	0,27	0,08–0,91
	VNTR alelo_4b	Proteção – Enfarte Cereb. Silencioso	0,030	0,10	0,01–0,69
	Haplótipo V	Proteção – Enfarte Cereb. Silencioso	0,031	0,18	0,04–0,81
NOS3	Haplótipo V	Risco reduzido de AVC	0,050	0,29	0,09–0,96
	Haplótipo VII	Proteção – Vasculopatia Cerebral	0,006	0,08	0,01–0,69



Risco de AVC

Fonte (imagens adaptadas): National Institutes of Neurological Disorders and Stroke, Wikimedia Commons, www.uhsc.edu

### Hemoglobinopatias - Tratamento

- 1) A cura por transplante de medula óssea
- 2) A terapia convencional
- 3) Os novos fármacos
- 4) As metodologias de terapia génica

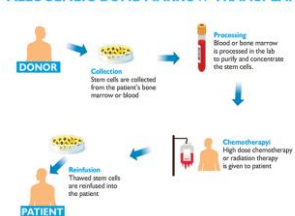
### 1) O tratamento curativo

O único método **CURATIVO** para a Talassémia e para a Drepanocitose:

**TRANSPLANTE DE CÉLULAS ESTAMINAIS HEMATOPOIÉTICAS (TCEH)**

- Colheita de células estaminais (stem cells) da medula óssea de um dador HLA-compatível.
- Purificação e concentração das células estaminais do dador.
- As células estaminais hematopoéticas do doente são eliminadas através de elevadas doses de quimioterapia mieloablativa (destruição completa da medula óssea)
- Re-infusão no doente das células hematopoéticas imunologicamente compatíveis do dador (HLA compatível).

#### ALLOGENEIC BONE MARROW TRANSPLANT



2 ) A TERAPIA CONVENCIONAL

▪ Programa de **transfusões sanguíneas regulares**

Sobretudo na beta-talassémia major – risco de desenvolverem múltiplos anticorpos anti-eritrocitários.

Na drepanocitose - a transfusão reduz o nível de Hb S e reduz a hemólise. É também usada na prevenção de AVC em crianças quando estas apresentam fluxo sanguíneo aumentado a nível cerebral:

Prevenção do AVC pediátrico na Drepanocitose por Doppler transcraniano para medição do fluxo sanguíneo no cérebro, seguido de transfusão de sangue nas crianças em risco (altas velocidades de fluxo sanguíneo >200 cm/s)



▪ **Quelatação do ferro com agentes quelantes:**

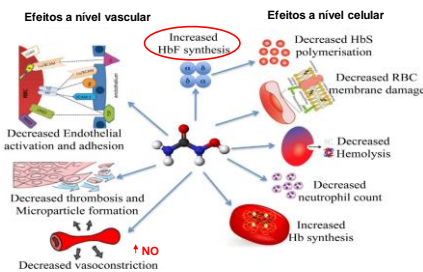
Desferroxamina (DFO, intravenoso); Deferriprona (DFP, oral, 3x/dia), Deferasirox (DFX, 1x/dia)

A terapia convencional na **Drepanocitose**

- Tratamento profilático com **antibióticos (penicilina), ácido fólico, vacinação ...**
- Tratamento sintomático da dor – **analgésicos, opióides ( morfina)**
- Tratamento farmacológico com **Hidroxiureia (hidroxicarbamida)**

1º fármaco aprovado pela FDA e pela EMA.

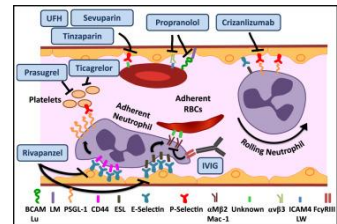
O efeito do tratamento com Hidroxiureia nos doentes com drepanocitose



Adaptado de Verma HK et al, Acta Haematologica Polonica 49, 1: 10.2478/ahp-2018-0001

3 ) NOVOS FÁRMACOS:

(aprovados pela FDA)



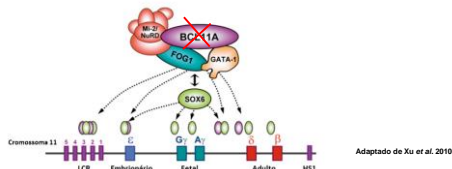
**Crizanlizumab** – inibidor da P-selectina (molécula de adesão) presente à superfície das células endoteliais – reduz as crises vaso-oclusivas

**Voxelator** – inibidor da polimerização da HbS

**L-Glutamina** – reduz o stress oxidativo

4. Terapia Génica

Hipóteses de terapia génica na drepanocitose

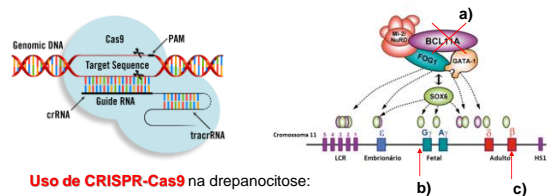


Adaptado de Xu et al. 2010

• O fator transcricional BCL11A atua como um **repressor** da expressão dos genes globínicos fetais.

Hipótese de tratamento: Silenciar a expressão do gene **BCL11A**!

4.1 A edição do genoma com CRISPR-Cas9

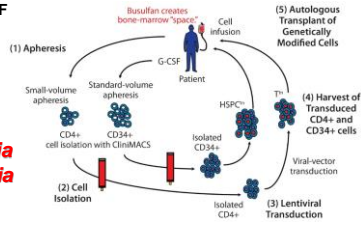


**Uso de CRISPR-Cas9** na drepanocitose:

- para inibir a expressão do gene **BCL11A**
- para alterar a sequência dos promotores dos genes da gama-globina impedindo assim a ligação das proteínas silenciadoras
- para correção da mutação drepanocítica c.20A>T no gene **HBB**

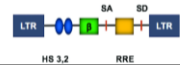
### 4.2 A adição do genoma com Lentiviral vectors

- Infecção das células CD34+ do doente drepanocítico com um "lentiviral vector" que expressa **short hairpin RNA(miR)** para inibir a expressão de **BCL11A** e aumentar a HbF (em ensaio clínico em Boston)



### 4.3 Hipótese de terapia génica na $\beta$ -talassémia

#### Lentiviral vectors



**GLOBE**  
**GLOBE lentiviral vector, a 3<sup>rd</sup> generation self-inactivating lentiviral vector encoding for the human beta-globin gene (2 LCRs elements)**  
 Em ensaio clínico em Itália e França

### Desvantagens da terapia génica

- Individual – não aplicável ao grande número de pessoas afetadas mundialmente
- Terá de ocorrer uma expressão eficiente e duradoura do gene terapêutico nas células alvo
- Danos na saúde por má transferência do DNA/vetor - Inserção mutagénica
- Repetição do tratamento
- Problemas éticos - Modificação do património genético (cel. germinais/somáticas)
- etc

#### Conclusão

No caso das Hemoglobinopatias há que continuar a investir na prevenção do aparecimento de novos casos graves e no tratamento precoce dos doentes

- Detecção e informação dos portadores
- Detecção dos casais em risco
- Diagnóstico Pré-Natal e/ou diagnóstico Neo-Natal
- Acompanhamento precoce dos doentes e aplicação das medidas terapêuticas adequadas

## Agradecimentos

- Ao INSA
- Departamento de Genética Humana e Departamento da Promoção da Saúde

