

Genética molecular das hemoglobinopatias no Departamento de Genética Humana: uma trajetória de contributos para a ciência e para a sociedade

Molecular genetics of hemoglobinopathies in the Department of Human Genetics of INSA: a trajectory of contributions to science and society

Paula Faustino^{1,2}, Pedro Loureiro³, Susana Gomes³, Pedro Lopes¹, João Gonçalves³

paula.faustino@insa.min-saude.pt

(1) Unidade de Investigação e Desenvolvimento. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(2) Instituto de Saúde Ambiental e Laboratório Associado TERRA. Faculdade de Medicina, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(3) Unidade de Genética Molecular. Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

_Resumo

As hemoglobinopatias são um conjunto de anemias hereditárias relacionadas com alterações quantitativas ou qualitativas da hemoglobina, associadas a elevada morbidade e mortalidade. São das doenças genéticas mais prevalentes no mundo, destacando-se as talassemias e a anemia das células falciformes ou drepanocitose.

No contexto das comemorações dos 50 anos do Departamento de Genética Humana (DGH), este artigo visa revisitar a trajetória dos estudos das hemoglobinopatias neste departamento, realçando-se o desenvolvimento dos estudos moleculares e funcionais e as consequentes contribuições científicas e sociais mais relevantes.

No âmbito do diagnóstico pós e pré-natal, o DGH assegura a identificação de casais em risco de transmitirem hemoglobinopatias graves, oferecendo testes moleculares e tornando possível o aconselhamento genético. Por outro lado, o diagnóstico neonatal, permite a deteção precoce de recém-nascidos afetados por doença das células falciformes, proporcionando o início atempado do acompanhamento clínico.

No domínio da investigação, salientam-se os estudos de pesquisa e validação de biomarcadores genéticos que permitem delinear estratégias preventivas e terapêuticas personalizadas. Paralelamente, a investigação de formas muito raras e complexas de hemoglobinopatias tem contribuído para o conhecimento da fisiopatologia da doença e revelado novos mecanismos de regulação génica. Destaca-se, ainda, o contributo para o desenvolvimento de uma abordagem inovadora de terapia génica dirigida à beta-talassemia.

Assim, ao longo das últimas décadas, o DGH tem sido uma referência nacional na área das hemoglobinopatias, integrando diagnóstico altamente especializado, investigação científica, referência laboratorial, apoio técnico a políticas de saúde pública, sensibilização e formação. Esta atuação integrada tem contribuído de forma decisiva para a mitigação do impacto destas doenças em Portugal.

_Abstract

Hemoglobinopathies are a group of hereditary anemias related to quantitative or qualitative alterations of hemoglobin, associated with high morbidity and mortality. They are among the most common genetic disorders worldwide, with thalassemia and sickle cell anemia being the most prevalent.

In the context of the 50th anniversary of the Department of Human Genetics (DGH), this article aims to revisit the history of hemoglobinopathy studies at the department, highlighting the molecular and functional studies, and the more significant scientific and social contributions.

Regarding prenatal and postnatal diagnosis, the DGH ensures the identification of couples at risk of transmitting severe hemoglobinopathies by providing molecular testing and enabling genetic counselling. Additionally, neonatal diagnosis allows the early detection of newborns affected by sickle cell disease, permitting timely initiation of clinical follow-up.

In the field of research, emphasis is placed on studies for the identification and validation of genetic biomarkers that facilitate the development of personalized preventive and therapeutic strategies. Concurrently, research on very rare and complex forms of hemoglobinopathies has contributed to understanding the disease's pathophysiology and revealed new mechanisms of gene regulation. Notably, there has also been a significant contribution to the development of an original gene therapy approach targeting beta-thalassemia.

Thus, over the past decades, the DGH has established itself as a national reference center in the field of hemoglobinopathies, combining highly specialized diagnosis, scientific research, laboratory reference services, technical support for public health policies, awareness-raising, and training. This integrated approach has played a decisive role in mitigating the impact of these diseases in Portugal.

_Introdução

As hemoglobinopatias são um conjunto de doenças genéticas que se caracterizam por alterações na estrutura ou na síntese da hemoglobina, sendo esta a proteína responsável pelo transporte do oxigénio no sangue. Estas doenças hereditárias apresentam transmissão autossómica recessiva e são, geralmente, causadas por alterações patogénicas nos genes que codificam as cadeias de globina, constituintes da molécula da hemoglobina, ou nas suas regiões regulatórias proximais e distais. Podem ser classificadas em duas categorias principais,

as talassemias e as variantes de hemoglobina. As primeiras resultam da redução ou ausência de síntese de uma cadeia globínica (sendo as mais predominantes a beta-talassemia e a alfa-talassemia), enquanto as segundas resultam na síntese de uma hemoglobina estruturalmente anómala (sendo a mais comum a “hemoglobina S”, na origem da drepanocitose, também designada como anemia das células falciformes).

Os indivíduos portadores (heterozigóticos) de hemoglobinopatia são, geralmente, clinicamente assintomáticos, mas podem possuir risco genético reprodutivo para hemoglobinopatia grave o que torna indispensável o aconselhamento genético em consulta de genética médica. Por outro lado, os indivíduos doentes apresentam elevada morbilidade e mortalidade. Nas formas mais graves de talassemia (major) os doentes apresentam anemia grave, são dependentes de transfusões sanguíneas, e têm complicações graves, tais como sobrecarga de ferro e endocrinopatia (1). Na drepanocitose, é de salientar a anemia hemolítica, inflamação crónica e infeções recorrentes. Nestes doentes, pode ocorrer falciformação dos glóbulos vermelhos, episódios vaso-oclusivos, crises de dor muito intensa, isquémia e lesões multiorgânicas (2).

As hemoglobinopatias destacam-se também por serem as doenças monogénicas mais prevalentes no mundo. São originárias de populações da África subsariana, da orla do Mediterrâneo, Médio Oriente, Sudeste Asiático e subcontinente Indiano (3). Contudo, múltiplos movimentos populacionais, forçados ou voluntários, conduziram à sua disseminação pelo mundo, levando a uma distribuição geográfica atualmente alargada a todos os continentes. Consequentemente, as hemoglobinopatias têm representado um importante desafio para a saúde pública mundial, devido à sua elevada prevalência, relevância clínica e impacto sobre os sistemas de saúde.

_Objetivo

No contexto das comemorações dos 50 anos do DGH, este artigo pretende visitar a trajetória dos estudos das hemoglobinopatias neste departamento, iniciados em 1984, destacando os principais contributos para a ciência e para a

sociedade resultantes das atividades de diagnóstico altamente especializado, investigação científica, referência laboratorial, apoio a políticas de saúde pública, bem como ações de sensibilização e formação.

_Métodos

Para a elaboração deste artigo histórico foram consultados os arquivos institucionais do departamento, incluindo bases de dados e artigos científicos. Foram também consultadas bases de dados públicas: *Globin Gene Server* (<https://globin.bx.psu.edu/>), *ITHANET* (<https://www.ithanet.eu/>) e *PubMed* (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

_Resultados e discussão

Contexto histórico, fundação e primeiros marcos

O ano de 1984 marcou o início dos estudos de genética molecular humana no INSA, com a criação do Laboratório de Biologia Molecular (LBM), sob a coordenação do Doutor João Lavinha. Este laboratório foi pioneiro na introdução de diversas metodologias de biologia molecular na área da genética humana, tendo impulsionado a investigação e a implementação de testes moleculares de diagnóstico em várias doenças genéticas hereditárias, incluindo as hemoglobinopatias.

Dois anos mais tarde, em 1986, foi criado em Portugal o Programa Nacional de Controlo das Hemoglobinopatias (PNCH), em cooperação com a Organização Mundial de Saúde e coordenação do INSA e, inevitavelmente, contribuir para o referido programa foi um dos objetivos do LBM.

Desde o final dos anos 80 até ao início dos anos 90 realizaram-se os primeiros estudos de epidemiologia molecular das hemoglobinopatias em Portugal que complementaram o conhecimento anterior, baseado em parâmetros hematológicos e bioquímicos, no âmbito da prevalência da beta-talassemia e a da drepanocitose no país (4). Os resultados da referida investigação contribuíram para a publicação dos primeiros artigos científicos de epidemiologia molecular

revelando a identificação das principais lesões moleculares que constituem a base genética destas doenças no nosso país e o seu padrão de distribuição geográfica (5-8). Por conseguinte, o DGH passou a oferecer serviços de diagnóstico molecular de âmbito nacional para estas doenças genéticas e salienta-se, em 1990, a realização do primeiro diagnóstico molecular pré-natal de drepanocitose e, em 1991, o primeiro diagnóstico molecular pré-natal de talassodrepanocitose.

Os avanços tecnológicos e metodológicos, a acreditação e a referência

Desde então, os estudos na área das hemoglobinopatias desenvolvidos no DGH têm envolvido um investimento constante na inovação tecnológica e metodológica. De lembrar que as primeiras técnicas laboratoriais usadas no LBM eram morosas, requeriam o uso de radioatividade e de quantidades avultadas de material biológico para análise. A partir da implementação da *polymerase chain reaction* (PCR) e de outros métodos nela baseados, da sequenciação de Sanger e da *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) passaram a obter-se diagnósticos com tempos de resposta muito mais curtos, menos dispendiosos e mais completos.

Em paralelo com a inovação tecnológica e metodológica, e primando sempre pela qualidade, o DGH foi o primeiro laboratório no país a obter acreditação pelo IPAC no âmbito da Norma ISO 15189 para diversos testes genéticos, incluindo os das hemoglobinopatias (http://www.ipac.pt/pesquisa/ficha_15189.asp?id=E0015).

Consequentemente ao acima exposto, e também graças à colaboração ativa e complementar entre dois departamentos técnico-científicos, DGH e Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis (DPS), o INSA diferenciou-se como o Laboratório de Referência na área do diagnóstico das hemoglobinopatias em Portugal, albergando a prestação de serviços altamente especializados, tanto de âmbito hematológico e bioquímico (realizada no DPS), como de genética molecular (realizada no DGH) e o adequado apoio da investigação.

Como referido, no início dos anos 90 o DGH identificou as principais lesões moleculares que constituem a base genética das hemoglobinopatias no nosso país (5-8). No entanto, nos últimos anos temos verificado que, embora estas continuem a ser as predominantes, tem havido um alargamento considerável do espectro mutacional sendo este facto, certamente, resultado de fluxos migratórios recentes. A título de exemplo, apresenta-se na **tabela 1** uma compilação (referente aos últimos 15 anos) da diversidade de alterações identificadas no gene da beta-globina (gene *HBB*) ou nas suas regiões regulatórias, associadas a beta-talassemia. A negrito destacam-se as quatro alterações mais frequentes na população portuguesa (7), as quais têm a sua origem ancestral/geográfica na orla do Mediterrâneo ou em Portugal.

Tabela 1: Exemplo da diversidade de alterações identificadas no gene beta-globina associadas a beta-talassemia, diagnosticadas no Departamento de Genética Humana do INSA nos últimos 15 anos

Localização no gene ou natureza da alteração	Alteração no DNA	Consequência funcional	Região do Globo com maior prevalência / Origem da alteração ^(a)
Promotor do gene <i>HBB</i>	c.[-78A>C]	beta+	Azerbaijão
	c.[-92C>G]		Não definida
	c.[-133G>A]		Não descrita
	c.[-138C>T]		África
	c.[-140C>T]		Portugal
Deleções extensas que removem o gene <i>HBB</i> (total ou parcialmente)	[(<i>HBD</i> , <i>HBB</i>)del]	beta°	Não descrita
	[(<i>HBE</i> , <i>HBG1</i> , <i>HBG2</i> , <i>HBD</i> , <i>HBB</i>)del]		Não descrita
	[(<i>HBG1</i> , <i>HBG2</i> , <i>HBD</i> e <i>HBB</i>)del]		Índia
	c.[316-149_*342delinsAAGTAGA]		Paquistão
	c.[316-339_*7130del]		Cabo Verde
Criação de codão de terminação prematuro / desfasamento da grelha de leitura	c.[20delA]	beta°	Mediterrâneo
	c.[25_26delAA]		Rússia
	c.[27dupG]		Índia/Paquistão
	c.[47G>A]		Índia
	c.[48G>A]		Portugal
	c.[126_129delCTTT]		Ásia
	c.[118C>T]		Mediterrâneo
	c.[235delC]		México
	c.[75T>A]		beta+
Alteração do processamento do RNA	c.[92G>C]	beta°	Líbia/Tunísia/Índia
	c.[92+1G>A]		Mediterrâneo
	c.[92+1G>T]		Punjab
	c.[92+5G>C]	beta+	Índia/Bangladesh
	c.[92+6T>C]		Portugal/Mediterrâneo
	c.[93-21G>A]		Mediterrâneo
	c.[315+1G>A]	beta°	Médio Oriente
	c.[316-197C>T]	beta+	Ásia

HBE - gene ϵ -globina, *HBG2* - gene $G\gamma$ -globina, *HBG1* - gene $A\gamma$ -globina, *HBD* - gene δ -globina, *HBB* - gene β -globina; del - deleção;

^(a) segundo *Globin Gene Server* ou *ITHANET*; beta+ = diminuição da síntese de cadeias beta-globina; beta° = ausência de síntese de cadeias beta-globina

Os avanços no conhecimento científico e contribuições para delinear novas estratégias terapêuticas

A investigação na área da genética molecular das hemoglobinopatias no DGH tem, ao longo dos anos, contribuído para desvendar a fisiopatologia destas doenças, ou seja, tem permitido compreender a nível estrutural e funcional as lesões moleculares que dão origem às doenças da hemoglobina e os modificadores genéticos da sua expressividade.

A investigação dos mecanismos de controlo da expressão génica nas hemoglobinopatias contribuiu com avanços pioneiros para o conhecimento científico. Aponta-se, como exemplo, o estudo do mecanismo *nonsense-mediated mRNA decay* (NMD) na beta-talassemia que demonstrou que a posição do codão de terminação prematuro no gene da beta-globina e a ação de fatores de tradução influenciam a ativação do NMD e a síntese residual da proteína, ajudando a explicar a variabilidade clínica entre doentes e a propor novas vias terapêuticas (9,10). Outro exemplo corresponde à identificação de um mecanismo de regulação génica a longa distância dos genes da alfa-globina, anteriormente considerado ausente em humanos. Este avanço possibilitou, no contexto de uma colaboração internacional, o desenvolvimento de uma estratégia terapêutica inovadora para a beta-talassemia, baseada na edição genómica com CRISPR/Cas9, demonstrando o seu potencial como terapia génica para a atenuação dos sintomas da doença (11,12).

Importa ainda destacar a investigação no âmbito da drepanocitose, que tem contribuído significativamente para a descoberta e validação de modificadores genéticos de alguns subfenótipos da doença, como por exemplo, a vasculopatia cerebral e a gravidade da anemia e das crises vaso-oclusivas, em idade pediátrica. A identificação destes biomarcadores e sua validação é de elevada utilidade clínica pois este conhecimento permite a estratificação dos doentes pelo grau de risco e a aplicação de medicina personalizada preventiva (13,14).

Os avanços nas políticas públicas de prevenção

Recentemente, o DGH, através da sua Unidade de Rastreio Neonatal, conduziu um estudo piloto para a integração do rastreio da doença das células falciformes no Programa Nacional de Rastreio Neonatal (PNRN). Os resultados evidenciaram que, devido aos movimentos populacionais, esta doença tem aumentado de relevância em Portugal, refletindo assim a mesma tendência observada a nível europeu. Em janeiro de 2024, procedeu-se à inclusão definitiva desta patologia no painel do PNRN, permitindo, desde então, a deteção precoce destes doentes e o seu acompanhamento clínico nos centros de referência do Serviço Nacional de Saúde (15).

Ações de formação, capacitação e colaboração

No âmbito das hemoglobinopatias, o DGH tem desempenhado um papel relevante na formação pré- e pós-graduada, contribuindo significativamente para a obtenção de graus académicos, como mestrados e doutoramentos. Destaca-se também a promoção contínua de ações de formação e capacitação de profissionais de saúde, com relevância para os estágios de genética molecular humana integrados nos Internatos Médicos de Patologia Clínica e de Genética Médica, assim como na Residência Farmacêutica, bem como a divulgação de informação junto do público em geral. Paralelamente, o DGH tem mantido uma colaboração sólida e duradoura com os PALOP, abrangendo a formação, a colaboração em projetos de I&D (16,17) e a participação em programas de capacitação.

_Conclusões

O percurso do DGH, na área das hemoglobinopatias representa um excelente exemplo de integração entre investigação científica, inovação tecnológica, prestação de serviços, referência e formação. Desde a fundação da genética molecular no INSA, até à implementação de programas nacionais de rastreio, os avanços alcançados têm tido um impacto significativo na melhoria do conhecimento e do diagnóstico destas doenças em Portugal. A capacidade

de gerar conhecimento novo, com relevância internacional, aliada ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras e à aposta na medicina personalizada, consolidou o papel do INSA como referência nacional e internacional nesta área. O compromisso com a formação contínua e com a cooperação com países de expressão portuguesa reforça ainda mais o seu contributo para a mitigação destas doenças.

Desafios e perspectivas futuras

O futuro da investigação e diagnóstico das hemoglobinopatias no DGH aponta para uma crescente aposta na inovação dos processos laboratoriais com a aplicação das tecnologias de sequenciação de nova geração em larga escala, associada à análise de grandes volumes de dados, o que permitirá uma caracterização mais abrangente dos doentes e a identificação de novos biomarcadores com valor prognóstico e terapêutico.

Paralelamente, prevê-se a continuação da investigação translacional, com foco no desenvolvimento de novas terapias inovadoras de precisão e personalizadas.

A nível internacional, o DGH continuará a investir em colaborações com centros de excelência e também na capacitação de técnicos de países de língua portuguesa, contribuindo para uma resposta global mais equitativa a estas doenças genéticas hereditárias. Estas perspectivas reforçam o compromisso do INSA em manter-se na vanguarda científica, tecnológica e social, contribuindo para a melhoria da saúde da população.

Agradecimentos:

Os autores agradecem a todos os colaboradores do DGH, aos médicos, aos doentes e aos seus familiares que, ao longo dos anos, contribuíram para os estudos das hemoglobinopatias no departamento. Um louvor indispensável ao elemento fundador, Doutor João Lavinha, cuja curiosidade e ambição científica foram determinantes para a implementação e sucesso desta área de trabalho. Também um agradecimento especial à Doutora Luísa Romão pelos primeiros estudos de projeção internacional que marcaram, de forma pioneira, o sucesso da investigação nesta área.

Referências bibliográficas:

- (1) Nienhuis AW, Nathan DG. Pathophysiology and Clinical Manifestations of the β -Thalassemias. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Dec 1;2(12):a011726. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011726>
- (2) Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010 Dec 11;376(9757):2018-31. Epub 2010 Dec 3. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X)
- (3) Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Sep 1;2(9):a011692. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011692>
- (4) Martins MC, Olim G, Melo J, et al. Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance, and control. *J Med Genet*. 1993 Mar;30(3):235-9. <https://doi.org/10.1136/jmg.30.3.235>
- (5) Lavinha J, Gonçalves J, Faustino P, et al. Importation route of the sickle cell trait into Portugal: contribution of molecular epidemiology. *Hum Biol*. 1992 Dec;64(6):891-901. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1427745/>
- (6) Romão L, Olim G, Martins MC, et al. Unusual molecular basis of Hb H disease in the Azores Islands, Portugal. *Hemoglobin*. 1990;14(6):607-16. <https://doi.org/10.3109/03630269009046969>
- (7) Faustino P, Osório-Almeida ML, Barbot J, et al. Novel promoter and splice junction defects add to the genetic, clinical or geographic heterogeneity of beta-thalassaemia in the Portuguese population. *Hum Genet*. 1992 Jul;89(5):573-76. <https://doi.org/10.1007/BF00219188>
- (8) Peres MJ, Romão L, Carreiro H, et al. Molecular basis of alpha-thalassaemia in Portugal. *Hemoglobin*. 1995;19(6):343-52. <https://doi.org/10.3109/03630269509005826>
- (9) Romão L, Inácio A, Santos S, et al. Nonsense mutations in the human beta-globin gene lead to unexpected levels of cytoplasmic mRNA accumulation. *Blood*. 2000;96(8):2895-901. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.8.2895>
- (10) Peixeiro I, Silva AL, Romão L. Control of human beta-globin mRNA stability and its impact on beta-thalassaemia phenotype. *Haematologica*. 2011 Jun;96(6):905-13. <https://doi.org/10.3324/haematol.2010.039206>
- (11) Coelho A, Picanço I, Seuanes F, et al. Novel large deletions in the human alpha-globin gene cluster: Clarifying the HS-40 long-range regulatory role in the native chromosome environment. *Blood Cells Mol Dis*. 2010 Aug 15;45(2):147-53. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2010.05.010>
- (12) Mettananda S, Fisher CA, Hay D, et al. Editing an α -globin enhancer in primary human hematopoietic stem cells as a treatment for β -thalassaemia. *Nat Commun*. 2017 Sep 4;8(1):424. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00479-7>
- (13) Silva M, Vargas S, Coelho A, et al. Biomarkers and genetic modulators of cerebral vasculopathy in sub-Saharan ancestry children with sickle cell anemia. *Blood Cells Mol Dis*. 2020 Jul;83:102436. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2020.102436>
- (14) Silva M, Faustino P. From Stress to Sick(le) and Back Again-Oxidative/Antioxidant Mechanisms, Genetic Modulation, and Cerebrovascular Disease in Children with Sickle Cell Anemia. *Antioxidants (Basel)*. 2023 Nov 7;12(11):1977. <https://doi.org/10.3390/antiox12111977>
- (15) Rodrigues D, Marcão A, Lopes L, et al. Newborn Screening for Sickle Cell Disease: Results from a Pilot Study in the Portuguese Population. *Int J Neonatal Screen*. 2025;11(1):10. <https://doi.org/10.3390/ijns11010010>
- (16) Germano I, Santos B, Delgado M, et al. Genetic modulation of anemia severity, hemolysis level, and hospitalization rate in Angolan children with Sickle Cell Anemia. *Mol Biol Rep*. 2022 Nov;49(11):10347-56. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07831-1>
- (17) Santos B, Ginete C, Gonçalves E, et al. Characterization of a cohort of Angolan children with sickle cell anemia treated with hydroxyurea. *Blood Cells Mol Dis*. 2024 Mar;105:102822. <https://doi.org/10.1016/j.bcmd.2023.102822>