

## Interação entre Hb B<sub>2</sub> e Hb S *Interaction between Hb B<sub>2</sub> and Hb S*

Natália Ferreira<sup>1</sup>

Paula J. A. Zamaro<sup>2</sup>

Claudia R. Bonini-Domingos<sup>3</sup>

*As hemoglobinopatias e talassemias constituem as afecções genéticas mais comuns, apresentando-se, na maioria dos casos, em heterozigose. Diante da diversidade de hemoglobinas variantes encontrada na população brasileira, metodologias específicas e complementares para um diagnóstico laboratorial preciso, capaz de elucidar possíveis interações entre estas variantes genéticas, são necessárias. Este relato de caso descreve a interação entre hemoglobina B<sub>2</sub> e a hemoglobina S em um indivíduo do sexo feminino, caucasóide, proveniente da região Sudeste do Brasil, identificada por meio de técnicas eletroforéticas em diferentes pH, cromatografia líquida de alta performance e PCR- RFLP. Visto que a hemoglobina B<sub>2</sub> coelui com a hemoglobina S na análise cromatográfica e dificilmente é visualizada em eletroforese pH alcalino, devido à sua baixa concentração, justifica-se a necessidade da associação de testes laboratoriais, inclusive moleculares, na rotina do diagnóstico de hemoglobinas para a correta identificação do perfil de hemoglobinas do indivíduo e real frequência na população brasileira. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*

**Palavras-chave:** Hemoglobinas anormais; hemoglobinopatias; diagnóstico.

### Introdução

As hemoglobinas (Hb) variantes apresentam estrutura química diferente da Hb normal e são resultantes de mutações em bases nitrogenadas, que podem levar à substituição de aminoácidos nas globinas alfa, beta, delta ou gama.<sup>1</sup> Atualmente existem mais de 1.010 variantes de hemoglobinas já descritas,<sup>2</sup> (disponível em <<http://globin.cse.psu.edu/>) e algumas com consequências fisiopatológicas ao portador.

A Hb S é uma variante resultante da substituição de um ácido glutâmico (Glu) por uma valina (Val) na posição 6 da cadeia beta. O resultado de uma mutação pontual no DNA é responsável por modificações na estabilidade e solubilidade da molécula de Hb e consequente falcização dos eritrócitos,

quando expostos à baixa concentração de oxigênio, acidose ou desidratação. Os estados heterozigotos geralmente apresentam cerca de 40% de Hb S ( $\alpha_2^A \beta_2^S$ ), sendo o restante representado por moléculas de hemoglobina normais ( $\alpha_2^A \beta_2^A$ ). Os portadores dessa condição têm pouca tendência ao afoiçamento das hemácias, exceto em condições de grave hipóxia. Nos homozigotos com a quase totalidade de Hb S, observa-se um quadro clínico de anemia hemolítica crônica de intensidade variável e dependente de fatores genéticos e ambientais.<sup>5</sup>

A Hb B<sub>2</sub> ( $\alpha_2^A \delta_2^B$ ) é uma variante de cadeia delta, resultante da substituição de uma glicina (Gly) por uma arginina (Arg) na posição 16 da cadeia delta.<sup>6</sup> Na presença desta variante, os valores de Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2^A \delta_2^A$ ) apresentam-se

<sup>1</sup> Bióloga. Unesp/Ibilce. Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas (LHGDH).

<sup>2</sup> Médica geneticista. Pesquisadora vinculada ao LHGDH – Unesp – São José do Rio Preto-SP.

<sup>3</sup> Médica geneticista. Responsável pelo LHGDH – Unesp – São José do Rio Preto-SP.

Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas – LHGDH, vinculado à Universidade Estadual Paulista (Unesp), campus de São José do Rio Preto-SP.

**Correspondência:** Claudia Regina Bonini-Domingos

Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas - LHGDH.

Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth

15054-000 – São José do Rio Preto-SP – Brasil

Tel.: (55 17) 3221-2392; Fax: (55 17) 3221-2390

E-mail: [claudiabonini@yahoo.com.br](mailto:claudiabonini@yahoo.com.br)

reduzidos devido à produção de cadeias globínicas delta mutante. As variantes de globina delta não estão associadas a manifestações clínicas significativas, devido ao baixo nível de produção dessas cadeias e de seu conteúdo total nos eritrócitos.<sup>3,4</sup> Devem, no entanto, ser caracterizadas nos testes laboratoriais de rotina diagnóstica para sua adequada identificação, contribuindo assim para o conhecimento das relações antropológicas em nosso país, por meio de sua origem étnica.

## Relato de Caso

Indivíduo do sexo feminino, caucasóide, 37 anos de idade, proveniente da cidade de São Paulo, com anemia microcítica e hipocrômica a esclarecer, foi encaminhado para pesquisa de hemoglobinopatias, tendo em vista que o perfil de ferro apresentava-se normal e outras causas de anemia haviam sido afastadas, conforme histórico clínico. Inicialmente, realizaram-se os testes clássicos para detecção de hemoglobinas variantes, como eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino e eletroforese de diferenciação em ágar fosfato em pH ácido, bem como a análise cromatográfica pela cromatografia líquida de alta performance, HPLC, em sistema automatizado Variant (Bio-Rad), segundo protocolo estabelecido e descrito na literatura.<sup>7</sup> Nessa investigação inicial, a fração correspondente à Hb S foi visualizada em eletroforese em pH alcalino e ácido, e uma diminuição na Hb A<sub>2</sub> foi evidenciada. Na presença de Hb A<sub>2</sub> diminuída em eletroforese, é conduta do laboratório realizar nova eletroforese, com uma macro aplicação, visando a visualização de possível fração compatível com a Hb B<sub>2</sub>, migrando abaixo da Hb A<sub>2</sub> na posição das anidrases, o que pode ser confirmado nesse caso. O cromatograma exibiu um perfil característico de Hb AS com porcentagem de Hb S igual a 41,3 % e tempo de retenção RT de 4.56 minutos. No entanto, a confirmação da Hb B<sub>2</sub> não foi possível, pois esta elui na mesma janela da Hb S no sistema automatizado utilizado.

Posteriormente, foram realizados os testes específicos para a confirmação do perfil de Hb inicialmente observado. Essas análises compreenderam as eletroforeses de cadeias polipeptídicas, em pH alcalino e ácido, e a análise molecular dos mutantes de globina por PCR-RFLP.<sup>7</sup> Na eletroforese de cadeias polipeptídicas em pH alcalino houve separação da  $\beta$  globina mutante, em posição similar a beta S, mas não da delta mutante. Somente as análises moleculares por PCR-RFLP para Hb S e para Hb B<sub>2</sub> comprovaram a heterozigose para ambas as variantes, determinando o perfil de Hb AS associada à Hb B<sub>2</sub>, conforme inicialmente suspeitado no resultado da eletroforese em pH alcalino.

## Discussão

A presença de variantes de hemoglobina de origem africana na população brasileira, como a Hb B<sub>2</sub> e a Hb S,

resultam da imigração forçada de negros africanos para nosso país e refletem a miscigenação característica do Brasil. O gene  $\delta$  globina está localizado próximo ao gene  $\beta$  globina, no braço curto do cromossomo 11 e, devido a esta proximidade, existe uma baixa probabilidade de recombinação entre eles, com uma alta probabilidade de serem herdados juntos, levando à ocorrência de variantes estruturais de cadeia delta e beta em conjunto,<sup>3,4</sup> como a interação entre Hb B<sub>2</sub> e Hb S.

A Hb B<sub>2</sub>, inicialmente identificada como Hb A<sub>2</sub>, é uma variante silenciosa de cadeia delta globina, tem frequência de 9,2% em bantus sul-africanos e, entre 1% a 3% em afro-americanos.<sup>6</sup> Torres *et al.* relataram a frequência de 1% dessa variante em caucasóides da região amazônica brasileira.<sup>8</sup>

Segundo a literatura, dados hematológicos da dupla heterozigose entre Hb S e Hb B<sub>2</sub>, não evidenciam a presença de anemia.<sup>2,3,9</sup> Nesse caso em especial, a presença de anemia microcítica e hipocrômica deverá continuar a ser investigada.

A identificação dessa interação exigiu a realização de testes complementares para a confirmação diagnóstica. A necessidade da associação de diversas metodologias para a determinação do perfil de Hb na população brasileira é importante, visto que a utilização de um ou outro método isoladamente pode fornecer um laudo equivocado. Nessas situações, a análise molecular por PCR-RFLP deixa de ser um teste complementar e torna-se conclusivo na determinação do perfil de mutantes de globina.

Apesar da interação entre Hb S e Hb B<sub>2</sub> não representar quadro clínico significativo, a pesquisa e caracterização dessas variantes é importante para o conhecimento da diversidade de hemoglobinas na população brasileira, altamente miscigenada.

---

## Abstract

*Hemoglobinopathies and thalassemias are the most common genetic diseases, and in most cases, present as heterozygous. Due to the diversity of hemoglobin variants, specific and complementary methodologies are necessary for a precise laboratorial diagnosis, able to elucidate possible interactions between genetic polymorphisms. This case report describes an interaction between hemoglobin B2 and hemoglobin S in a Caucasian woman from the southeastern region of Brazil. This interaction was identified by electrophoresis in different pHs, high performance liquid chromatography and PCR-RFLP. As hemoglobin B<sub>2</sub> is eluted in the same window as hemoglobin S in automatic HPLC systems and is hardly seen in alkaline electrophoresis due to its low concentration, the association must be confirmed using additional laboratorial tests, including molecular biology techniques. These tests should be included in the routine practice of hemoglobinopathy diagnosis in order to correctly identify hemoglobin variants and to know the real frequency of these mutations in the Brazilian population. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*

**Key words:** Abnormal hemoglobin; hemoglobinopathies; diagnosis.

---

## Referências Bibliográficas

1. Naoum PC. Eletroforese, Técnicas e Diagnósticos. 2ª ed. São Paulo, Ed. Santos, 1999.
2. Huisman HJ, Marianne FH, Carver EB, Efremov GD. Hb Var: a database of human hemoglobin variants and thalassemias, summaries of mutation categories. Pennsylvania University USA and McMaster University in Canada, 2001.
3. Pearson HA, Moore MM. Human hemoglobin gene linkage: report of a family with hemoglobin B2, hemoglobin S, and thalassemia, including a probable crossover between thalassemia and delta loci. *Am J Hum Genetics*. 1965;17(2):125-32.
4. Honig GR, Adams JG. Human hemoglobin genetics. Springer Verlag Wien, New York, 1986.
5. Tomé-Alves R, Marchi-Salvador DP, Orlando GM, Palharini LA, Naoum PC, Bonini-Domingos CR *et al*. Hemoglobinas AS/ alfa talassemia: importância diagnóstica. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2000;22(3):388-94.
6. Spurdle AB, Krause A, Ramsay M, Jenkins T. The high frequency of the B<sub>2</sub> variant in the Herero population: a founder effect? *Hemoglobin*. 1994;18(4-5):317-23
7. Bonini-Domingos CR. Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de hemoglobinopatias e talassemias. Ed. HN, São José do Rio Preto, 2006.
8. Torres FR, Ondei LS, Zamaro PJA, Machado R, Bonini-Domingos CR. Identificação de Hb AB2 em dois caucasianos da região amazônica por procedimentos eletroforéticos e cromatográficos. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2005;27(2):138-47.
9. Van Kirk R, Sandhaus LM, Hoyer JD. The detection and diagnosis of hemoglobin A2' by high-performance liquid chromatography. *Am J Clin Pathol*. 2005;123(5):657-61.

Suporte Financeiro: Fapesp e CNPq.

Avaliação: Editor e dois revisores externos  
Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 09/05/2008

Aceito após modificações: 02/07/2009