



HEMOGLOBINAS VARIANTES EM INDIVÍDUOS AUTODECLARADOS DESCENDENTES DE QUILOMBOLAS NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

MARCIO TARCISO REIS SILVA; CARLOS VINICIUS DA SILVA CABRAL;
JEFFERSON BRITO DE CASTRO; TAMARA SARAIVA DE ASSIS; MARCELO
DOMINGUES DE FARIA

RESUMO

A hemoglobina é a proteína responsável pela execução de diversas atividades no organismo humano, dentre elas, o transporte de gases ao longo dos tecidos. Composta por um tetrâmero de quatro cadeias globínicas, essa hemoproteína apresenta formas variantes que, ao serem expressas em homozigose, podem acarretar sérios problemas de saúde. Dentre as formas variantes mais comuns, estão as hemoglobinas S e C, cujas, ao se expressarem em heterozigose, de forma isolada, são assintomáticas, mas associadas outras doenças favorecem o acometimento da saúde do organismo. O presente trabalho, teve por objetivo identificar o tipo de hemoglobina em indivíduos de populações descendentes de quilombolas do Território Quilombola Águas do Velho Chico, no interior do estado de Pernambuco. Após a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) CAAE 54099521.0.0000.8267, foram avaliados 43 indivíduos adultos, mediante assinatura do Requerimento de Consentimento Livre e Esclarecido (RCLE). Para obtenção dos dados, foi utilizado sangue total colhido com EDTA a partir do sangue periférico. A técnica para tipificação da hemoglobina foi eletroforese em acetato de celulose em pH alcalino 8,0-9,0. Do total de indivíduos analisados, cerca de 9,3% eram portadores de hemoglobinas variantes em heterozigose, mostrando que mesmo com a descendência de povos africanos, a população brasileira, como resultado da miscigenação, apresenta diferenças entre si e com os povos formadores. Nesse contexto, o método demonstrou uma prevalência de hemoglobinas do tipo HbAA, e que apesar de reprodutível, apresentou dados não refletem o perfil da região, sendo necessário a realização de novos estudo mais aprofundados.

Palavras-chave: cadeias globínicas; hemoproteína; heterozigose; eletroforese; miscigenação.

1 INTRODUÇÃO

A hemoglobina é uma proteína, da classe das globulinas, envolvida em diversos tipos de atividades, desde o transporte de oxigênio pelo corpo, até regulação do pH e manutenção do equilíbrio Redox (KOSMACHEVSKAYA; TOPUNOV, 2018). Na espécie humana, essa proteína é um tetrâmero composta por quatro cadeias globínicas e um grupamento heme, contendo um átomo de ferro, ligado a cada uma delas (AHMED; GHATGE; SAFO, 2018).

Durante o desenvolvimento humano, em condições normais, é possível identificar a presença de três tipos de hemoglobinas: embrionária, fetal e adulta, cujas se diferenciam tanto nas subunidades de formação, quanto na capacidade de ligação ao oxigênio (MANNING *et al.*, 2020). Na fase de desenvolvimento embrionário, com a eritropoese ocorrendo no saco vitelínico, ocorre a expressão de genes das cadeias globínicas ζ e ϵ , ainda nessa etapa, na fase subsequente, inicia-se a expressão das cadeias α e γ . Com a mudança da eritropoese para o

figado e baço, já na fase fetal do desenvolvimento, ocorre a predominância da expressão dos genes das cadeias α e γ , constituindo a hemoglobina fetal (HbF), na qual corresponde a cerca de 80% da hemoglobina produzida até o nascimento (WEATHERALL; CLEGG, 2001).

Após o nascimento, acontece uma alteração na quantidade das cadeias que constituem a hemoglobina, na qual, a ontogenia dessa hemoproteína passa atuar sintetizando mais cadeias α e cadeias β que, constituem a HbA. Por decorrência dessa substituição, indivíduos adultos, apresentam cerca de 97% de HbA (2 cadeias α e 2 cadeias β), 2% de HbA₂ (2 cadeias α e 2 cadeias δ) e aproximadamente 1% de HbF (2 cadeias α e 2 cadeias γ) (VROST, 2020; ZAGO, 2013).

As formas variantes da hemoglobina são provenientes de substituições na cadeia de aminoácidos que constituem as cadeias α e β da HbA. Tais substituições, são resultantes de alterações em nucleotídeos que constituem o DNA, podendo ser deleções, inserções e mutações de ponto no sítio específico do gene de síntese (STUART; NAGEL, 2005; ZAGO, 2013). Dentre as hemoglobinas variantes, a HbS é a mais comum, cuja é resultado de uma mutação de ponto no gene responsável pela síntese de cadeias β , no qual ocorre a substituição do ácido glutâmico pela valina. Entretanto, além da HbS, existem outra forma variante dessa hemoproteína, a HbC, que também já há registros de portadores em território nacional (WEATHERALL; CLEGG, 2001).

De acordo com o *Globin Gene Server* (2022), existem cerca de 1421 tipos de hemoglobinas variantes, nas quais, quando expressas em heterozigose de forma isolada, não manifestam alterações clínicas nos portadores. Contudo, apesar do baixo interesse médico, ao se associarem com outras patogenias, essas proteínas podem levar o portador a quadros clínicos mais graves, como hipóxia e anemia hemolítica (FUCHAROEN *et al.*, 2007; HARTEVELD *et al.*, 2005).

Segundo o Ministério da Saúde (2015), o gene da hemoglobina S teve sua origem no ocidente do continente africano, expandindo-se para as demais regiões África e outros territórios do Mediterrâneo pelas migrações de populações ancestrais. No Brasil, esse gene foi introduzido através do tráfico de escravos, cujo com processo de miscigenação da formação da identidade brasileira, foi transpassado entre as gerações (NAOUM; BONINII-DOMINGOS, 1997). Nesse contexto, o presente trabalho buscou identificar o tipo de hemoglobina presente em indivíduos autodeclarados de origem quilombola do Território Quilombola Águas do Velho Chico, no interior do estado de Pernambuco.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

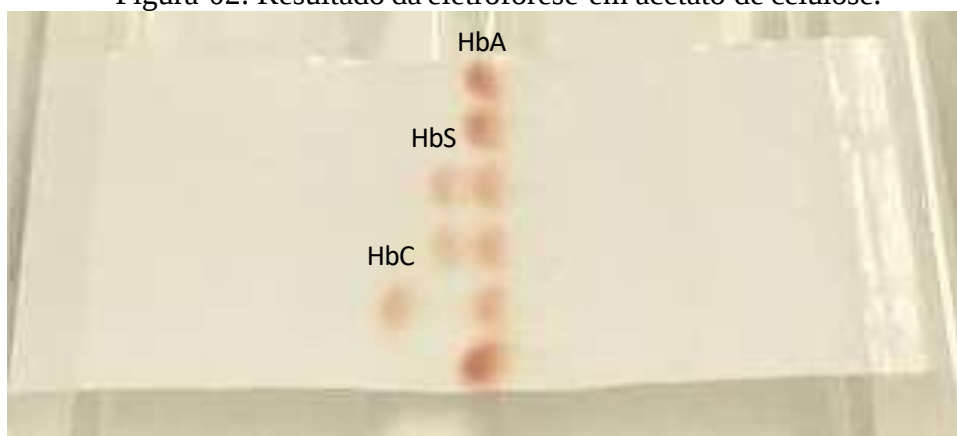
O estudo de natureza transversal foi realizado em junho de 2022, com 43 indivíduos adultos do Território Quilombola Águas do Velho Chico, no interior do estado de Pernambuco. Conduzido sob autorização do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) CAAE 54099521.0.0000.8267.

O sangue foi colhido a partir do sistema venoso superficial com sistema de punção a vácuo com anticoagulante EDTA e submetido a técnica de eletroforese em acetato de celulose com pH alcalino 8,0-9,0

Para realização da eletroforese, foi utilizada uma cuba, específica para eletroforese, preenchida com solução tampão de Tris-EDTA-borato (TEB) a pH 8,0-9,0 com tiras de acetato de celulose. Em seguida, uma pequena fração do hemolisado de hemácias – obtido com auxílio da solução de saponina a 1% - foi no polo negativo da tira de acetato. O princípio desta técnica, consiste na emissão de uma corrente elétrica que migra pela tira do polo negativo, para o polo positivo, fazendo com que as moléculas de hemoglobina, por ser carregada negativamente, fosse atraída pelo polo positivo (GUZELGUL; SEYDEL; AKSOY, 2020; NADKARNI, 2019).

A velocidade em que as moléculas correm a tira é diferente devido a densidade elétrica de cada uma, o que faz com que, ao final – cerca de 45 minutos após o início, o padrão observado seja conforme a Figura 01.

Figura 02: Resultado da eletroforese em acetato de celulose.



Fonte: Autoria própria.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a obtenção dos dados (Tabela 01), foram observados que a maioria dos indivíduos analisados apresentaram gene da HbA em homozigose (HbAA). Contudo, mesmo com a elevada prevalência da hemoglobina do tipo A, foram encontradas hemoglobinas variantes em de 9,3% do total de indivíduos analisados, sendo elas do tipo S e C.

Tabela 01: Resultado eletroforese de hemoglobina.

ID	SEXO	RESULTADO	Tipo
1	M	Positivo	AS
2	M	Negativo	-
3	M	Negativo	-
4	M	Negativo	-
5	M	Negativo	-
6	M	Negativo	-
7	M	Negativo	-
8	M	Negativo	-
9	M	Negativo	-
10	M	Negativo	-
11	M	Negativo	-
12	F	Negativo	-
13	F	Positivo	AS
14	F	Negativo	-
15	F	Negativo	-
16	F	Negativo	-
17	F	Negativo	-
18	F	Negativo	-
19	F	Negativo	-

20	F	Negativo	-
21	F	Negativo	-
22	F	Negativo	-
23	F	Negativo	-
24	F	Negativo	-
25	F	Negativo	-
26	F	Positivo	AC
27	F	Negativo	-
28	F	Negativo	-
29	F	Negativo	-
30	F	Negativo	-
31	F	Negativo	-
32	F	Negativo	-
33	F	Negativo	-
34	F	Negativo	-
35	F	Negativo	-
36	F	Negativo	-
37	F	Negativo	-
38	F	Negativo	-
39	F	Negativo	-
40	F	Negativo	-
41	F	Negativo	-
42	F	Negativo	-
43	F	Positivo	AC

Fonte: Autoria própria. ID – identificação.

Apesar da população estudada ser autodeclarada preta e remanescente de quilombos, etnia na qual ocorre uma elevada prevalência de hemoglobinas variantes, os resultados não apresentaram. O reduzido número de indivíduos positivos pode ser um reflexo do elevado grau de miscigenação em que esses povos, ao longo do processo histórico de formação da identidade brasileira, passaram, cuja, refletiu diretamente nas características genéticas da população (SOARES, 2016).

Esses altos índices de hemoglobinas variantes em populações autodeclaradas pretas, são pautados com base na origem evolutiva da HbS e HbC, nas quais surgem como uma forma de resistência a malária no continente africano (VERRA et al., 2007). A hipótese de surgimento dos alelos variantes das HbS e HbC, se sustenta a partir de dados, onde mostram alta prevalência no continente africano, como é o caso da África Equatorial, em que no início dos anos 2000 cerca de 40% da população portava hemoglobina do tipo S em heterozigose (NAOUM, 2000; PEDROSA; FERREIRA; OLVEIRA, 2004).

Estudos realizados em diversos estados do Brasil, apontaram uma elevada taxa de hemoglobinas variantes entre populações afrodescendentes, como a Bahia que, nos estudos de Soares (2017), apresentou cerca de 15,4% em indivíduos autodeclarados pretos. Teles et al. (2017), observou que em populações de origem quilombola no estado do Pernambuco, a prevalência de HbS ainda é elevada, com cerca de 1 a cada 23 pessoas, sendo superior a média nacional de 1 a cada 35 nascidos vivos. Contudo, Reis et al. (2018) observaram em neonatos assistidos em laboratório no estado Piauí uma maior incidência de hemoglobinas variantes em indivíduos pardos. Esse cenário, em consonância com o resultado do estudo, corrobora com os achados de Kedhy et al. (2015), nos quais demonstram que as migrações de diferentes povos

mesclando características de determinadas regiões.

4 CONCLUSÃO

Neste estudo, foi identificado o tipo de hemoglobina presente em povos do Território Quilombola Águas do Velho Chico. O método utilizado, considerado reprodutível, mostrou que a hemoglobina prevalente entre os indivíduos estudados é do HbAA, apontando apenas dois tipos de variantes S e C. Logo, os resultados encontrados evidenciaram que, apesar dos dados não refletirem perfil da região, a população apresenta características genéticas diferentes de outros povos, também de origem quilombola. Contudo, recomenda-se a realização de novos estudos de maior abrangência, para que assim se possa confirmar os dados expostos aqui.

REFERÊNCIAS

AHMED, M. H.; GHATGE, M. S.; SAFO, M. K. Hemoglobin: Structure, Function and Allostery. **Subcell Biochem**, v. 94, n. 1, p. 345-382. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doença Falciforme: diretrizes básicas da linha do cuidado. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Brasília: Ministério da Saúde, p. 82. 2015.

FUCHAROEN, S. *et al.* Rapid molecular characterization of Hb Queens and Hb Siam: two variants easily misidentified as sickle Hb. **Clinical biochemistry**, v. 40, n. 1-2, p. 137-140. 2007.

GUZELGUL, F. SEYDEL, G.S. AKSOY, K. β -Globin Gene Mutations in Pediatric Patients with β -Thalassemia in the Region of Çukurova, Turkey. **Hemoglobin**, v.44, n.4, p.249-253. 2020.

HARTEVELD, C. L. *et al.* Hb zoeterwoude [β 23(B5)Val $\rightarrow$ Ala]: a new beta-globin variant found in association with erythrocytosis. **Hemoglobin**, v. 29, n. 1, p. 11-17. 2005.

KEDHY, F. S. G. *et al.* Origin and dynamics of admixture in Brazilians and its effect on the pattern of deleterious mutations. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 112, n. 28, p. 8696-8701. 2015.

KOSMACHEVSKAYA, O, V.; TOPUNOV, A. F. Alternate and Additional Functions of Erythrocyte Hemoglobin. **Biochemistry**, v. 83, n. 12, p. 1575-1593. 2018.

MANNING, J. M. *et al.* Embryonic and Fetal Human Hemoglobins: Structures, Oxygen Binding, and Physiological Roles. In: HOEGGER, U.; HARRIS, J. R. **Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins**. vol. 94. Suíça: Springer Nature, 2020. chapter. 11, p. 275-296.

NADKARNI, A. H. *et al.* The phenotypic and molecular diversity of hemoglobinopathies in India: A review of 15 years at a referral center. **International Journal Laboratory of Hematology**, v.41, n.2, p.218-226. 2019.

NAOUM, P. C.; BONINII-DOMINGOS, C. R. Doença falciforme no Brasil. Origem, genótipos, haplótipos e distribuição geográfica. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 33, n. 3, p. 145-153. 1997.

- REIS, F. M. S. *et al.* Incidência de hemoglobinas variantes em neonatos assistidos por um laboratório de saúde pública. **Einsten**, v. 16, n. 2, p. 1-7. 2018
- SOARES, L. F. Prevalência de hemoglobinas variantes em comunidades quilombolas no estado do Piauí, Brasil. **Ciência e saúde coletiva**, v. 22, n. 11, p. 3773-3780. 2016.
- STUART, M. J.; NAGEL, R. L. Sickle-cell disease. **Lancet**, v. 364, n. 9442, p. 1343-1360. 2004.
- TELLES, A. F. *et al.* Hemoglobinas de origem africana em comunidades quilombolas do estado do Tocantins, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 8, n. 1, p. 39-46. 2017.
- VERRA, F. *et al.* Haemoglobin C and S role in acquired immunity against *Plasmodium falciparum* malaria. **PLoS one**, v. 2, n. 10, p. 1-6. 2007.
- VORST, E. P. High-Density Lipoproteins and Apolipoprotein A1. *In*: HOEGGER, U.; HARRIS, J. R. **Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins**. vol. 94. Suíça: Springer Nature, 2020. chapter. 16, p. 399-420.
- WEATHERALL, D. J.; CLEGG, J. B. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 79, n. 8, p. 704-712. 2001.
- ZAGO, M. A. Granulócitos. Produção, Dinâmica e Função. *In*: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2013. cap. 4, p. 23- 33.
- PEDROSA, M. A..F.; FERREIRA, L. B.; OLIVEIRA, S. F. Anemia falciforme em antigos quilombos. **Rev. Ciência Hoje**, v. 35, n. 211, p. 84-85. 2004.
- NAOUM, P. Prevalência e controle da hemoglobina S. **Rev Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 22, n. 2, p. 142-148. 2000.