

Hemoglobinopatia SD apresentada como hemoglobinopatia SS

Hemoglobinopathy SD presenting as Hemoglobinopathy SS

Sonia Maria Lissa¹, Sergio Luiz Bach², Juliana Spezia³, Railson Henneberg^{4*}, Paulo Henrique da Silva⁵

RESUMO

Este relato de caso mostra a interação da hemoglobina (Hb) S com a Hb D de uma criança que foi previamente diagnosticada como anemia falciforme (Hb SS) devido ao seu padrão de migração da eletroforese em pH alcalino. O fenômeno de falcização foi confirmado com 2% de metabissulfito de sódio. O pai e a mãe da criança apresentaram um padrão heterozigoto na eletroforese de hemoglobina em pH alcalino (Hb AS). O fenômeno de falcização foi confirmado para o pai, porém não foi confirmado para a mãe. A eletroforese em pH ácido foi realizado para diferenciar a Hb S da Hb D. O fenótipo da família foi estabelecido: o pai apresenta Hb AS, a mãe AD e a criança SD. O propósito do presente estudo foi ressaltar a importância da confirmação da Hb S detectada na eletroforese em pH alcalino, com o teste de solubilidade ou falcização e com a eletroforese em pH ácido.

Palavras-chave: Anemia Falciforme. Hemoglobina S. Eletroforese.

ABSTRACT

This case report shows the interaction of hemoglobin (Hb) S with Hb D. in a child previously diagnosed with sickle cell anemia based on the Hb electrophoretic migration pattern in alkaline pH. The sickling phenomenon was confirmed with 2% sodium metabisulfite. The father and mother of the child had a heterozygous pattern (Hb AS) in hemoglobin electrophoresis at alkaline pH. The sickling phenomenon has been confirmed to the father, but it has not been confirmed for the mother. The electrophoresis at acid pH was used to differentiate Hb S from Hb D. The family's phenotype was established: the father has Hb AS, the mother AD and, the child SD. The purpose of this study was to emphasize the importance of confirmation of Hb S detected in electrophoresis at alkaline pH, with the solubility test or 2% sodium metabisulfite and with the electrophoresis at acid pH.

Keywords: Anemia, Sickle Cell. Hemoglobin S. Electrophoresis.

1. Especialista, Bioquímica. Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital das Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR).
2. Doutor, Bioquímico. Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital das Clínicas da UFPR.
3. Mestre, Professora substituta. Departamento de Análises Clínicas da UFPR.
4. Doutor, Professor adjunto - Departamento de Análises Clínicas da UFPR.
5. Doutor, Professor sênior. Departamento de Análises Clínicas da UFPR.

CORRESPONDÊNCIA:
Prof. Railson Henneberg
Universidade Federal do Paraná – UFPR - Campus Botânico,
Av. Lothário Meissner, 632
CEP 80210-170; Curitiba - PR, Brasil
e-mail railson@ufpr.br

Recebido em 15/07/2016
Aprovado em 28/03/2017

Relato de caso

Este trabalho relata o caso de uma criança de três anos, portadora de hemoglobinopatia SD que teve o diagnóstico inicial de anemia falciforme (Hb SS). Os resultados da eletroforese de hemoglobina dos pais, apresentaram um padrão de Hb AS em ambos. O que chamou a atenção foi o teste de falcização dos pais, que foi positivo para o pai, mas negativo para a mãe. A partir desta discrepância foi realizada a eletroforese em pH ácido e o diagnóstico de hemoglobinopatia SD na criança foi estabelecido. O fenótipo do pai é Hb AS e da mãe, Hb AD. Este caso mostra a necessidade de se fazer o teste de falcização e/ou de solubilidade quando a eletroforese de hemoglobina mostra uma fração com migração na faixa de Hb S. Em caso negativo para o teste de falcização e/ou de solubilidade, deve ser feita a eletroforese de hemoglobina em pH ácido. A criança e os pais foram atendidos no ambulatório de Hematopediatria da Universidade Federal do Paraná e os exames foram realizados na Unidade de Apoio Diagnóstico e Serviço de Análises Clínicas, também, da Universidade Federal do Paraná.

Foram coletadas as amostras sanguíneas do pai (D.S.R., 41 anos), da mãe (V.P.L., 36 anos) e da criança (M.E.R., 3 anos) em frascos de 3.5 mL com anticoagulante EDTA-K₂. O hemograma foi realizado no analisador hematológico Sysmex XE2100D e a contagem de reticulócitos no contador Sysmex XT2000i. As eletroforeses, tanto em pH alcalino como em pH ácido, foram realizadas no equipamento Sebia Hydrasys LC que utiliza o princípio da eletroforese capilar em gel de agarose. O teste de falcização foi realizado usando, como agente redutor, o metabissulfito de sódio a 2%.

Resultado

Os resultados parciais do hemograma do pai, da mãe e da criança foram descritos na tabela 1. O pai da criança é portador do traço falciforme (Hb AS), devido à presença de uma banda eletroforética na posição de Hb S e outra na posição de Hb A, como mostrado na eletroforese de hemoglobina em pH alcalino da figura 1, posição 7. O teste de falcização foi positivo, e na eletroforese em pH ácido não se evidenciou banda na posição de Hb D, conforme mostrado na figura 2, posição 2. O resultado da eletroforese em pH alcalino da mãe mostrou a presença de uma banda na posição de Hb A e uma banda na posição Hb S, conforme mostrado na figura 1, posição 8, o que lhe conferiu o fenótipo de Hb AS. O teste de falcização na amostra de sangue da mãe foi negativo, fato que motivou a realização da eletroforese em pH ácido, a qual revelou a presença de uma banda na posição de Hb D, conforme mostrado na figura 2, posição 3, determinando o fenótipo AD para mãe da criança. A criança mostrou, na eletroforese em pH alcalino, a presença de uma única banda na posição de Hb S, conforme mostrado na figura 1, posição 9. O teste de falcização foi positivo mas pelo fato do teste de falcização da mãe ser negativo, a criança não poderia ter um fenótipo de Hb SS. O resultado da eletroforese de hemoglobina em pH ácido da criança, mostrou uma banda na posição de Hb D, conforme mostrado na figura 2, posição 4. A partir da eletroforese em pH ácido, o fenótipo de Hb SD pôde ser estabelecido para a criança. A tabela 2 mostra o perfil eletroforético e a dosagem das hemoglobinas A₂ e fetal, na qual foi demonstrado que a criança apresentou um aumento da hemoglobina fetal, também observado na eletroforese em pH alcalino.

Tabela 1: Resultado parcial do hemograma do pai, da mãe e da criança

| Família | Leucócitos (x10 ⁹ /L) | Eritrócitos (x10 ¹² /L) | Hb (g/dL) | Hct (%) | VCM (fL) | RDW (%) | Reticulócitos (%) | Eritroblastos (%) |
|----------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--------------|------------|-------------|------------|----------------------|----------------------|
| Pai | 8.79 | 5.11 | 16.0 | 44.9 | 87.8 | 13.3 | 2.0 | 0 |
| Mãe | 8.57 | 5.03 | 15.4 | 43.2 | 85.8 | 13.1 | 1.0 | 0 |
| Criança | 16.55 | 2.20 | 6.4 | 20.8 | 94.5 | 28.7 | 20.2 | 19 |

Hb (Hemoglobina); Hct (Hematócrito); VCM (Volume corpuscular médio); RDW (*Red Cell Distribution Width*), índice de Anisocitose.

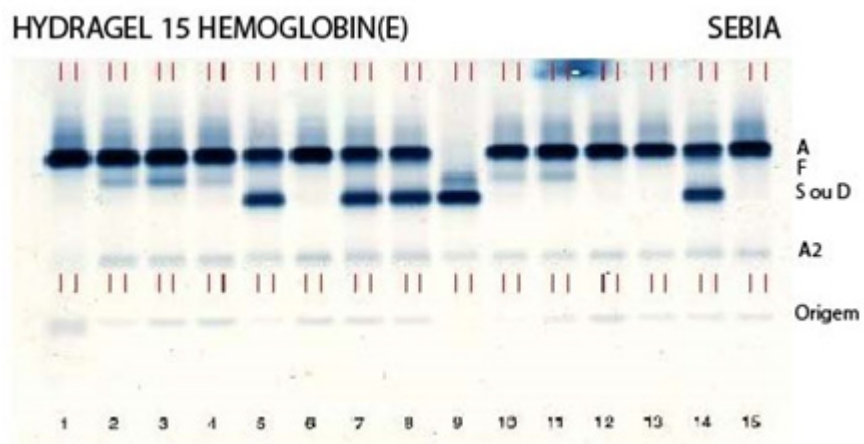


Figura 1. Resultado da eletroforese de hemoglobina em pH alcalino.
 Nota: Posição 7: Hb AS (pai); Posição 8: Hb AS (mãe); Posição 9: Hb SS (criança);

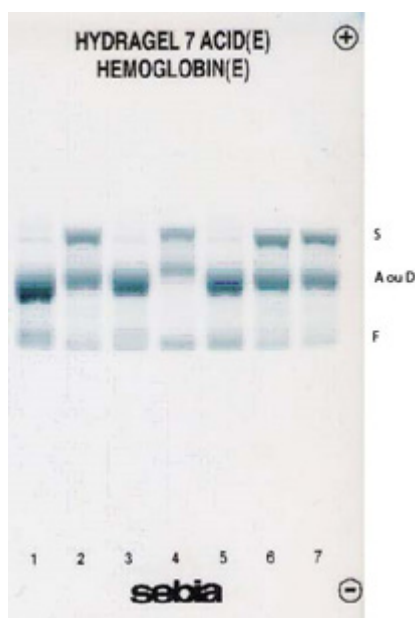


Figura 2. Eletroforese de hemoglobina em pH ácido.
 Nota: Posição 2: Hb AS (pai); Posição 3: Hb AD (mãe); Posição 4: Hb SD (criança).

Tabela 2: Diagnóstico eletroforético e dosagem das hemoglobinas A₂ e Fetal.

| Família | Fenótipo (%) | Hemoglobina A₂ (%) | Hemoglobina Fetal |
|----------------|---------------------|--------------------------------------|--------------------------|
| Pai | AS | 2.0 | 0.5 |
| Mãe | AD | 2.0 | 0.6 |
| Criança | SD | 2.2 | 13.2 |

Discussão

As hemoglobinas D Los Angeles ou D Punjab, são idênticas e foram descritas por Itano em 1951, em uma família de Los Angeles, descendentes de ingleses e indianos. Em 1962, a estrutura química foi caracterizada como sendo uma substituição do ácido glutâmico por glutamina, no aminoácido de posição 121 (GLU e GLN ($\beta^{121(\text{GH}4)\text{Glu-Gln}}$) da cadeia beta de globina.^{1,2} É a terceira hemoglobina variante mais comum e existem pelo menos 16 subtipos de Hb D derivados de diferentes pontos de mutação no gene β -globina. A Hb D Punjab é o subtipo de Hb D mais frequente. Sugere-se que a mutação ocorreu na região central da Ásia devido ao grande número de ocorrência na região de Punjab, na Índia e se espalhou por diversos países através da migração. A Hb D Punjab é mais comumente encontrada na Índia, Paquistão e Irã.^{1,3,4,5} Raros indivíduos são homocigotos para Hb D e são geralmente assintomáticos, assim como os heterocigotos de Hb D com a Hb A. Também podem ocorrer a associação da Hb D com outras formas variantes da cadeia beta de globina, como a Hb S. O indivíduo heterocigoto Hb SD resulta em alterações clínicas mais perceptíveis.^{5,6} As características clínicas e laboratoriais variam dependendo do subtipo de Hb D envolvido.^{3,7,8}

A Hb D interage com a Hb S favorecendo a polimerização durante a desoxigenação e produzindo uma anemia hemolítica com características clínicas semelhantes a anemia falciforme de intensidade moderada.⁹⁻¹³ O sangue periférico mostra um quadro de anemia normocítica e normocrômica, com anisocitose, policromatofilia e pecilocitose, com codócitos e raros drepanócitos.^{13,14,15} O aumento da hemoglobina fetal observado no presente estudo, pode ocorrer de modo geral, com valores inferiores a 8%, mas já foram descritos valores >25%.^{9,16} Em pacientes falciformes (Hb SS), é comum a presença de Hb F elevada. A Hb F não polimeriza com Hb S, o que representa um caráter protetor aos vasos sanguíneos quanto maior sua concentração, e consequentemente, menor as chances de lesões vasculares. Esta situação parece não ocorrer com pacientes com fenótipo Hb SD, que apesar de níveis elevados de Hb F, apresentam complicações clíni-

cas graves semelhantes, ou até mesmo superiores, aos observados em pacientes com Hb SS, como sepse, crise de sequestro esplênico, hemólise e crises vaso oclusivas. A severidade clínica depende também da expressão fenotípica da hemoglobina variante.^{9,15,16,17}

A hemoglobinopatia SD foi descrita pela primeira vez em 1966 em um homem com características caucasoides que tinha diagnóstico de anemia falciforme (Hb SS).¹⁸ O diagnóstico de anemia falciforme foi estabelecido porque, na eletroforese em pH alcalino, as hemoglobinas S e D apresentam mobilidade eletroforética similares, por isso, migram na mesma posição. A diferenciação entre as duas hemoglobinas foi realizada através da eletroforese em pH ácido, assim como relatado no nosso caso. Neste pH, a Hb D migra na posição da Hb A, permitindo a identificação da hemoglobina variante.^{11,13} A realização da eletroforese em pH alcalino é prática comum em alguns laboratórios clínicos como exame de triagem para hemoglobinopatias, porém, o método dificulta a identificação de casos de Hb SD. Outras técnicas também podem ser utilizadas para a identificação de hemoglobinas variantes como a focalização isoelétrica, a eletroforese capilar, a Cromatografia Líquida de Alta Pressão (HPLC) ou através de técnicas moleculares. Apesar de serem mais precisas, são técnicas de custo elevado e que exigem pessoal experiente para execução.^{3,17,19}

Conclusão

É necessário que todas as amostras que apresentam uma única banda na posição de Hb S sejam testadas novamente por técnicas alternativas, tanto para confirmar a presença de doença falciforme como também para excluir a possibilidade de um heterocigoto composto. A Hb D pode ser claramente distinguível da Hb S pela sua solubilidade normal, pela ausência de formação de células falciformes e pela diferença na mobilidade eletroforética em pH ácido.^{3,19} Este caso mostra a importância da realização dos testes complementares à triagem para a Hb S e suas associações para confirmação do fenótipo de Hb S ou Hb D a fim de evitar que diagnósticos errôneos sejam feitos e para um manejo adequado aos pacientes afetados.

Referências

- Chinelato-Fernandes AR, Leoneli GG, Calderan PO, Oliveira RBd, Silva Jr WAd, Hidalgo CA, et al. Electrophoretical, chromatographic and molecular valuations of Hb D Los Angeles in Brazil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2003;25:161-8.
- Itano HA. A third abnormal hemoglobin associated with hereditary hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1951;37:775-84.
- Ahmad R, Omar SL, Arif SHH, Hamid FSA, Aziz NA, Mustapha NHN, et al. Haemoglobin sickle d punjab:-a case report. *Med J Malaysia.* 2014;69(1).
- Almeida AM, Henthorn JS, Davies SC. Neonatal screening for haemoglobinopathies: the results of a 10-year programme in an English Health Region. *Br J Haematol.* 2001;112:32-5.
- Bonini-Domingos CR. Compound heterozygosity for hemoglobin S and D: what do we need to know? *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38:188-9.
- Torres LS, Okumura JV, Silva DG, Bonini-Domingos CR. Hemoglobin D-Punjab: origin, distribution and laboratory diagnosis. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37:120-6.
- Figueiredo MS. Comments on: "Clinical, hematological and genetic data of a cohort of children with hemoglobin SD". *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38:190-2.
- Rezende PV, Costa Kda S, Domingues Junior JC, Silveira PB, Belisario AR, Silva CM, et al. Clinical, hematological and genetic data of a cohort of children with hemoglobin SD. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2016;38:240-6.
- Adekile A, Mullah-Ali A, Akar NA. Does elevated hemoglobin F modulate the phenotype in Hb SD-Los Angeles? *Acta Haematol.* 2010;123:135-9.
- Kelleher JF, Jr., Park JO, Kim HC, Schroeder WA. Life-threatening complications in a child with hemoglobin SD-Los Angeles disease. *Hemoglobin.* 1984;8:203-13.
- McCurdy PR, Lorkin PA, Casey R, Lehmann H, Uddin DE, Dickson LG. Hemoglobin S-G (S-D) syndrome. *Am J Med.* 1974;57:665-70.
- Schneider RG, Ueda S, Alperin JB, Levin WC, Jones RT, Brimhall B. Hemoglobin D Los Angeles in two Caucasian families: hemoglobin SD disease and hemoglobin D thalassemia. *Blood.* 1968;32:250-9.
- Sturgeon P, Itano HA, Bergren WR. Clinical manifestations of inherited abnormal hemoglobins. I. The interaction of hemoglobin-S with hemoglobin-D. *Blood.* 1955;10:389-404.
- Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, et al. *Hematology: basic principles and practice.* 4 ed: Elsevier Health Sciences; 2005.
- Italia K, Upadhye D, Dabke P, Kangane H, Colaco S, Sawant P, et al. Clinical and hematological presentation among Indian patients with common hemoglobin variants. *Clin Chim Acta.* 2014;431:46-51.
- Oberoi S, Das R, Trehan A, Ahluwalia J, Bansal D, Malhotra P, et al. HbSD-Punjab: Clinical and hematological profile of a rare hemoglobinopathy. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2014;36:e140-e4.
- Patel D, Purohit P, Dehury S, Das P, Dutta A, Meher S, et al. Fetal hemoglobin and alpha thalassemia modulate the phenotypic expression of HbSDPunjab. *Int J Lab Hematol.* 2014;36:444-50.
- Cawein M, Lappat E, Brangle R, Farley C. Hemoglobin SD disease. *Ann Intern Med.* 1966;64:62-70.
- Souza LT, Okumura JV, da Silva DGH, Bonini-Domingos CR. Hemoglobin D-Punjab: origin, distribution and laboratory diagnosis. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2015;37:120-6.