

Análise dos haplótipos do gene da β^S -globina no Ceará

Primeira submissão em 03/01/05
Última submissão em 03/01/05
Aceito para publicação em 22/08/05
Publicado em 20/10/05

Analysis of β^S -globin gene haplotypes in Ceará, Brazil

Gentil Claudino de Galiza Neto¹; Maria da Silva Pitombeira²; Hélio Forta Vieira³;
Maria Laíse Chaves Vieira⁴; Danúbio Andrade Bezerra Farias⁵

unitermos	resumo
Anemia falciforme	No presente trabalho abordam-se vários aspectos relacionados à natureza molecular da anemia falciforme (AF), desordem hematológica de caráter hereditário. A descoberta do polimorfismo do DNA no grupamento do gene β^S , originando diferentes haplótipos da doença, permitiu ampliar o conhecimento em torno da heterogeneidade clínica observada nos pacientes falcêmicos nas mais diversas regiões do mundo. Analisaram-se os diferentes haplótipos e seus parâmetros hematológicos, presentes em um grupo de 22 pacientes naturais e procedentes do estado do Ceará. A distribuição das frequências dos haplótipos encontrados foi de 55,9% para Benin; 41,2% para República Centro-Africana (CAR); e de 2,9% para o haplótipo Senegal. Esses dados, em comparação com os demais estudos realizados no Brasil, mostram associação entre os seus valores para um alfa de 5% ($p < 0,05$). Os resultados obtidos possibilitam um entendimento mais completo da fisiopatologia desta doença e da sua complexidade clínica em nosso meio, bem como permitem um conhecimento mais amplo da AF em nosso país.
Hemoglobinopatia	
Globina β^S	
Haplótipos	

abstract key words

The present work deals with numerous aspects related to the molecular nature of sickle cell anemia. The discovery of the DNA polymorphism in the β^S -globin gene cluster, gave origin to different haplotypes of the disease, making possible to enlarge the knowledge about the clinical heterogeneity observed on the patients with sickle cell disease, in the various regions of the world. The different haplotypes and its hematological parameters were analysed in a group of 22 patients born in the State of Ceará, northeast of Brazil. The distribution found in the haplotypes frequency was of 55.9% for the Benin, of 41.2% for the CAR, and of 2.9% for Senegal haplotype. The data, compared to the others works done in Brazil, show relations among their values to alpha of 5% ($p < 0,05$). The results make possible a full understanding of the pathophysiology of the illness and of its clinical complexity in our State, as well as it allows a better knowledge of the sickle cell disease in our country.

Sickle cell anemia
Hemoglobinopathie
Haplotypes
 β^S -globin

Introdução

A anemia falciforme (AF) é uma das doenças hematólicas herdadas mais comuns em todo o mundo, atingindo grande número de indivíduos dos mais diferentes países. Ela surgiu nos países do centro-oeste africano, da Índia e do leste da Ásia há cerca de 50 mil a 100 mil anos, entre os períodos paleolítico e mesolítico^(17, 25). O

fato que motivou a mutação do gene da hemoglobina normal (HbA) para o da hemoglobina S (HbS) ainda permanece desconhecido.

A simples substituição pontual de uma base nitrogenada, timina por adenina (GAT → GTT), no sexto códon do éxon 1 no DNA do cromossomo 11 (**Figura 1**) ocasiona o surgimento de uma hemoglobina patológica⁽³⁾.

1. Médico patologista clínico; mestre em Clínica Médica; médico-assistente do Serviço de Hematologia da Universidade Federal do Ceará (UFC).

2. Professora-doutora; professora-titular do Departamento de Clínica Médica da UFC.

Trabalho realizado junto ao Departamento de Clínica Médica da UFC, com apoio da Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) e do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), e baseado na dissertação de mestrado Estudo dos haplótipos da anemia falciforme e sua relação com as origens étnicas da população negra no Ceará, do ano de 2001, apresentada na UFC.

3. Professor-doutor; professor titular do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem (FFOE) da UFC.

4. Professora-doutora; professora titular do Departamento de Análises Clínicas da FFOE/UFC.

5. Farmacêutico-bioquímico; funcionário adjunto do Laboratório de Biologia Molecular da FFOE/UFC.

A troca de bases nitrogenadas no DNA, ao invés de codificar a produção (transcrição) do aminoácido ácido glutâmico, irá, a partir daí, determinar a produção do aminoácido valina, que entrará na posição 6 da seqüência de aminoácidos que compõem a cadeia beta da hemoglobina, modificando sua estrutura molecular⁽⁴⁾.

Em 1978, Kan e Dozy publicaram a primeira descrição da existência de duas mutações distintas para a hemoglobina S detectadas pela ação da enzima de restrição Hpa I no sítio de 5kb a 3' do gene beta, estabelecendo o conceito de origem multicêntrica para esta doença. Estudos subsequentes definiram os três principais haplótipos para a anemia falciforme: CAR (República Centro-Africana), Benin e Senegal, originados em regiões distintas do continente africano⁽¹⁸⁾, e um outro haplótipo, também de origem independente, foi descrito em populações provenientes da península arábica e da Índia⁽¹³⁾. A variabilidade genética em torno da mutação permitiu uma melhor compreensão da heterogeneidade clínica da doença, além de ter importância para o estudo antropológico⁽²⁸⁾.

O tipo de variabilidade mais comum no complexo gênico das globinas alfa ou beta é aquele produzido por

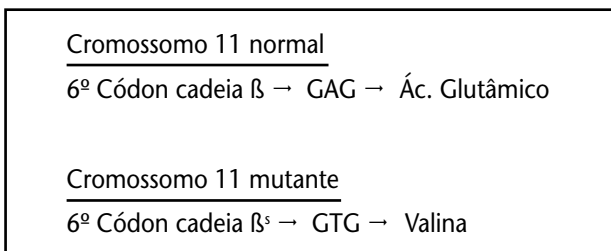


Figura 1 – Representação esquemática da mutação gênica responsável pelo surgimento da Hb S

variações de seqüências que alteram o sítio de reconhecimento de uma enzima de restrição. Essas alterações ocorrem aproximadamente a cada cem bases ao longo do genoma. O padrão de combinação dos sítios polimórficos para qualquer cromossomo é chamado de haplótipo⁽²⁾. O primeiro polimorfismo associado ao gene β^S foi descrito, como referido acima, por Kan e Dozy, em 1978, no sítio para a enzima de restrição Hpa I localizado na posição 3' do gene, seguindo-se novas descrições de outros sítios de polimorfismos de restrição^(1, 14).

Foram descritos 17 sítios polimórficos (**Figura 2**) no complexo dos genes da globina alfa e mais de duas dezenas no complexo da globina beta⁽²⁾. A descoberta dos haplótipos do gene β^S apresentou-se como importante elemento de análise antropológica para estudo das composições populacionais, bem como elementos de estudo clínico, os quais podem fornecer dados preditivos acerca da evolução da doença e de seu nível de gravidade⁽²⁰⁾.

Os haplótipos do gene β^S têm papel importante na regulação variável da síntese da Hb fetal, na relação final entre as concentrações de HbS e HbF no adulto e na taxa de redução da HbF durante a infância. A concentração de HbF está aumentada nos haplótipos Senegal e asiático (árabe) e decresce nos haplótipos CAR e Benin, devido a uma taxa de translação no sentido 5' para 3' e de substituição da HbF por HbS mais lenta nos dois primeiros que nos dois últimos haplótipos⁽²⁰⁾.

No presente trabalho foram determinados os haplótipos do gene da β^S -globina num grupo de pacientes com AF, todos oriundos do estado do Ceará, esperando assim contribuir para um melhor entendimento de alguns aspectos dessa doença em nosso meio.

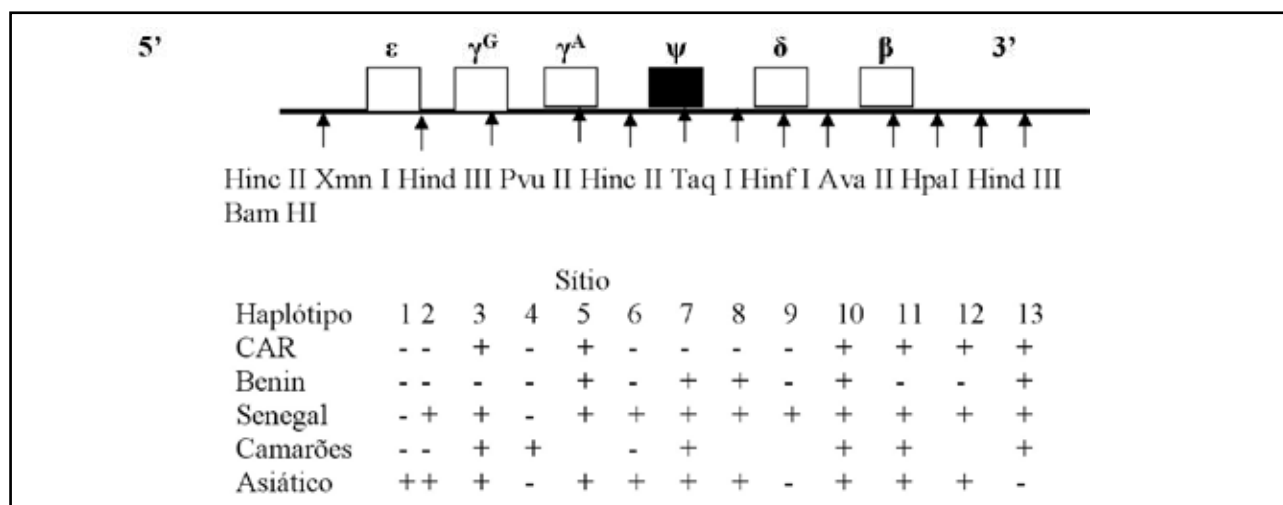


Figura 2 – Principais haplotipos do complexo do gene β^S definido pela ação de 13 enzimas de restrição

Material e métodos

Participaram deste estudo 22 pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial de AF (forma homozigótica SS) atendidos no ambulatório do Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio, da Universidade Federal do Ceará (UFC), de ambos os sexos, todos nascidos no estado do Ceará, com seus antepassados até a segunda ascendência (pais e avós) igualmente naturais desse estado. Outro critério de inclusão foi a ausência de tratamento transfusional com concentrado de hemácias por um período mínimo de 90 dias antes da coleta das amostras sanguíneas para a realização dos exames laboratoriais. Foram coletados 5ml de sangue de cada um dos pacientes em tubos de tipo vacutainer, contendo etilenedinitrilotetraacetato (EDTA). O estudo hematológico foi procedido em contador automatizado, marca Coulter, modelo T-890, sendo analisados os seguintes parâmetros: número absoluto de hemácias (Hm), concentração de hemoglobina (Hb), determinação de hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM).

O estudo dos haplótipos da mutação β^S no gene da cadeia betaglobínica foi realizado através da técnica da reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR) e da digestão com enzimas de restrição específicas, seguindo as recomendações contidas no trabalho de Sutton⁽²³⁾, com modificações. Depois de realizada a amplificação do material genômico, realizou-se digestão enzimática utilizando-se as seguintes enzimas: Hind III, Hinc II, Ava II e Hinf I, das marcas Promega e Gibco, para determinar os haplótipos mais freqüentes: CAR (Bantu), Benin (Ben) e Senegal (Sen).

Foram estudados os seguintes sítios gênicos, respectivamente: Hind III na região IVS2 do gene γ^A e na região IVS2 do gene γ^G ; Hinc II em $\psi\beta$ e na extremidade 3' de β ; Ava II na região IVS2 de β ; e Hinf I na extremidade 5' de β ⁽²³⁾. As posições desses sítios de polimorfismos gênicos situados no complexo gênico da betaglobina estão representadas na **Figura 3**.

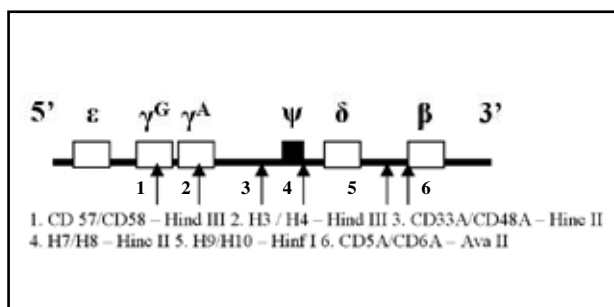


Figura 3 – Localização dos sítios polimórficos utilizados para a definição dos haplótipos

Resultados

Os resultados obtidos em 22 pacientes portadores de Hb SS mostraram que a faixa etária situou-se entre 15 e 51 anos, com idade média de $29,33 \pm 11,92$ anos (média e desvio-padrão), sendo que o grupo masculino ($n = 9$) teve média de idade de $28,87 \pm 13,02$ anos e o feminino ($n = 13$), $30,36 \pm 9,75$ anos. Em relação à faixa etária, observamos que 77,26% dos pacientes têm idade entre 15 e 30 anos (**Figura 4**).

A **Tabela 1** exhibe os valores hematológicos médios e os índices hematimétricos de todos os pacientes (Hb, Ht, VCM, HCM, CHCM e HbF). O VCM mostrou uma média de $105,57 \pm 10,05$ fl, demonstrando acentuada macrocitose ($VCM > 100$ fl) para ambos os sexos, sem diferença estatística entre eles. A concentração de Hb fetal para todo o grupo foi de 7,61%, tendo concentração em nível mais elevado no grupo feminino, com 8,49%, em relação ao masculino, com 7,44%. Entretanto, essa diferença não teve significância estatística.

O padrão dos sítios polimórficos, conforme definido e apresentado na Figura 3, caracterizou os diferentes ha-

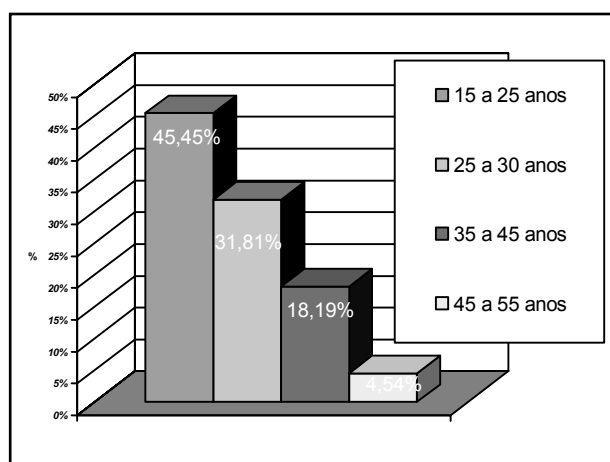


Figura 4 – Distribuição dos pacientes com anemia falciforme, por faixa etária

Dados hematológicos dos 22 pacientes falcêmicos

Tabela 1

Parâmetros laboratoriais	Resultados ($\bar{x} \pm dp$)
Hb (g/dl)	$8,077 \pm 1,036$
Ht (%)	$24,147 \pm 2,968$
VCM (fl)	$105,57 \pm 10,05$
HCM (pg)	$33,95 \pm 2,98$
CHCM (g/dl)	$32,49 \pm 1,65$
HbF (%)	$7,61\% \pm 1$

plótipos de acordo com a presença (+) ou ausência (-) de resposta aos cortes enzimáticos (**Figura 5**). A caracterização do haplótipo CAR foi definida como [+ - - - + -]; o haplótipo Benin foi definido pela seqüência [- - - + + -]; e o haplótipo Senegal o foi pela combinação [+ - + + + +].

Os casos de heterozigose (**Figura 6**) para dois haplótipos definiram-se, de acordo com as observações anteriores de Kulozik *et al.*⁽¹³⁾ e Rieder *et al.*⁽²²⁾, pela presença de um haplótipo comum, presente em combinação com um haplótipo raro, ao invés de dois haplótipos raros. No presente trabalho observou-se a presença de cinco haplótipos com a combinação [- - - + -], sem possibilidade de serem definidos.

A distribuição geral dos genótipos para o grupo de pacientes encontra-se disposta na Figura 5. Os genótipos mais freqüentes foram Ben/Ben e CAR/Ben, ambos com 27,27%. Foram evidenciadas a ocorrência de um paciente heterozigoto para o haplótipo Senegal, o qual tem baixa freqüência

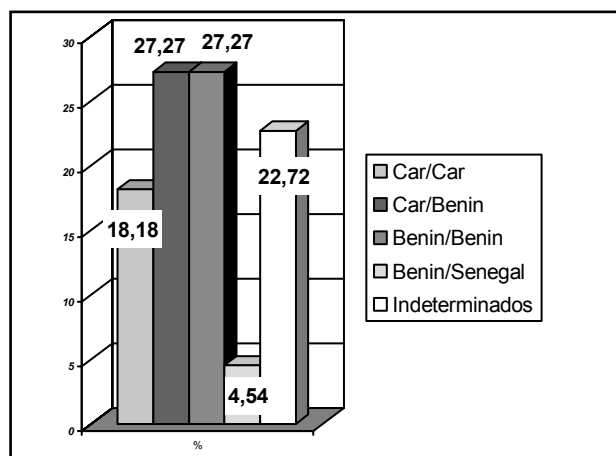


Figura 5 – Distribuição (%) das freqüências dos genótipos, relativos aos haplótipos, no grupo de 22 pacientes estudados

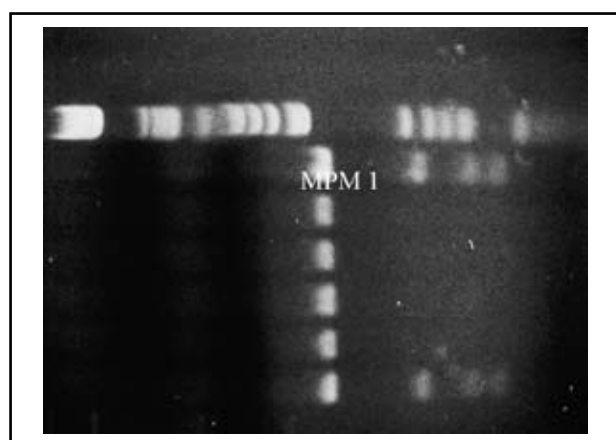


Figura 6 – Eletroforese em gel de agarose a 2%, corado pelo brometo de etídio, para visualização do resultado da digestão enzimática com a enzima Ava II, do fragmento amplificado com os primers CD5A-CD6A: MPM 1: PGM (marcador de peso molecular)

no Brasil, e a presença de haplótipos indeterminados em 22,72% dos pacientes. Em relação à freqüência dos haplótipos estudados por cromossomos, observou-se a presença, em maior número, do Benin, com 43,18%, seguido pelo CAR, com 31,82%, como exposto na **Tabela 2**.

Os valores médios dos dados laboratoriais dos pacientes pertencentes aos haplótipos CAR, Benin e Senegal estão distribuídos na **Tabela 3**. Notam-se as concentrações mais elevadas de Hb (8,9g/dl) e de HbF (13,4%) para os pacientes do haplótipo Senegal.

Discussão

Estes resultados representam a primeira análise dos haplótipos da AF em pacientes naturais do Ceará. O estudo dos polimorfismos gênicos pode ser utilizado com diferentes objetivos: para a determinação da origem unicêntrica ou multicêntrica de uma mutação, para discriminar eventos epistáticos (quando outros genes interferem na expressão fenotípica do gene mutante) e para definir o caminho de

Distribuição das freqüências dos haplótipos, por cromossomo, no grupo de 22 pacientes estudados

Tabela 2

Freqüências dos haplótipos por cromossomo	Resultados	
	n	%
CAR (Bantu)	14	31,8%
Benin	19	43,2%
Senegal	01	2,3%
Indeterminados	10	22,7%
Total	44	100%

Distribuição dos valores médios (χ) hematológicos dos pacientes com haplótipo CAR, Benin e Senegal

Tabela 3

Características laboratoriais	CAR (χ)	Benin (χ)	Senegal (χ)
Hb (g/dl)	8,5	7,7	8,9
Ht (%)	24,5	23,7	23
VCM (fl)	107,8	95,8	92
HCM (pg)	34,6	30,7	35,6
CHCM (g/dl)	32,3	32,1	38,7
HbF (%)	6,2	8,6	13,4

fluxo de um gene específico mutante. Quando os dados e informações estão suficientemente consolidados, como no caso do agrupamento do gene beta mutante, os haplótipos podem ser úteis no estudo da origem e evolução da raça humana⁽¹⁵⁾.

A descrição da existência de duas mutações distintas para a HbS detectadas pela ação da enzima de restrição Hpa I no sítio de 5kb a 3' do gene beta estabeleceu o conceito de múltipla origem para esta doença⁽¹²⁾. Estudos subseqüentes definiram os principais haplótipos para a anemia falciforme na África: CAR, Benin e Senegal⁽¹⁸⁾, e um outro haplótipo foi descrito em populações provenientes da península arábica e da Índia⁽¹³⁾. A diversidade genética assim observada permitiu a compreensão da heterogeneidade clínica da doença, além de contribuir para o estudo antropológico⁽²⁸⁾.

No Brasil, vários estudos dos haplótipos relacionados a AF têm sido realizados (**Tabela 4**). A distribuição das frequências dos haplótipos em Belém, no Pará, foi de 66,7% para o haplótipo CAR, 30% para o Benin e 3,3% para o Senegal⁽¹⁹⁾. Em Salvador, na Bahia, a distribuição das frequências dos haplótipos foi de 55% para o CAR, 45% para o Benin e não houve ocorrência do haplótipo Senegal⁽⁸⁾. Na região de Campinas, São Paulo, a distribuição das frequências dos haplótipos foi de 64,7% para o CAR, 35,2% para o Benin e não houve ocorrência do haplótipo Senegal⁽⁹⁾. Em Ribeirão Preto, São Paulo, a distribuição dos haplótipos foi de 73% para o CAR, 25,5% para o Benin e 1,5% de ocorrência do Senegal⁽²⁶⁾. A distribuição das frequências dos haplótipos na cidade de Porto Alegre, no Rio Grande do Sul, foi de 79,6% para o haplótipo CAR, 18,4% para o Benin e 2% para o Senegal⁽²⁴⁾.

A distribuição das frequências dos haplótipos encontrados, considerando apenas os que puderam ser determinados, para este grupo (Ceará) foi de: 55,9% para o haplótipo Benin, 41,2% para o CAR e 2,9% para o Senegal. Os nossos dados, em comparação com os dos demais estudos realizados no Brasil, mostram associação entre os seus valores para

um alfa de 5% ($\alpha = 0,05$), com diferenças estatisticamente significantes ($\chi^2 = 17,02/p < 0,05$).

Avaliando qualitativamente esses resultados, observa-se uma tendência para a presença em maior número do haplótipo Benin em relação ao CAR, divergindo das frequências encontradas nas cidades de Belém, Campinas, Ribeirão Preto e Porto Alegre, onde o haplótipo CAR é preponderante (Tabela 4). Entretanto assemelham-se aos encontrados na cidade de Salvador, e isso pode ser devido ao fato de essa cidade ter sido importante entreposto do comércio escravagista, tornando-se uma fonte importante de fornecimento de escravos para o Ceará⁽¹⁰⁾.

O paciente portador do haplótipo Senegal, identificado neste estudo, mostra alguns valores hematológicos distintos dos encontrados para as médias dos indivíduos com outros haplótipos. As principais diferenças devem-se ao valor mais elevado da Hb ($\chi = 8,9\text{g/dl}$) e da HbF ($\chi = 13,4\%$). Entretanto, o valor do VCM ($\chi = 92\text{ fL}$) para esse indivíduo, ao contrário, ficou abaixo dos resultados observados nos demais haplótipos. Esses valores são compatíveis com o descrito por Nagel *et al.*⁽¹⁶⁾, que, estudando 60 indivíduos com pelo menos um cromossomo pertencente ao haplótipo Senegal, evidenciaram uma concentração de Hb de $9,6 \pm 1,1\text{g/dl}$, VCM de $91,2 \pm 9,2\%$ e concentração de Hb fetal igual a $9,9 \pm 5,4\%$.

As análises hematológicas não apresentaram diferenças em relação aos valores usualmente encontrados e amplamente descritos na literatura⁽²¹⁾ para os portadores da hemoglobinopatia SS. A exceção deveu-se à presença de valores aumentados para o VCM, principalmente relacionados ao haplótipo CAR. Sabe-se que macrocitose faz parte do quadro laboratorial da anemia falciforme em decorrência da marcante produção de reticulócitos e da presença, em grande número, das células densas, sendo agravada por uma deficiência no aporte nutricional e medicamentoso (de reposição) do substrato ácido fólico.

Tabela 4 Distribuição das frequências (%) dos haplótipos CAR, Benin e Senegal em diversas populações do Brasil

Populações	Número de cromossomos	CAR	Benin	Senegal
Belém (PA)	60	66,7	30	3,3
Salvador (BA)	42	55	45	0
R. Preto (SP)	67	73	25,5	1,5
Campinas (SP)	142	64,7	35,2	0
Porto Alegre (RS)	49	79,6	18,4	2
Fortaleza (CE)/presente estudo	34	41,2	55,9	2,9

Não encontramos dados na literatura associando os haplótipos do gene β^S ao aumento do VCM. Não podemos descartar, ainda, a possibilidade de termos, por conta da pouca contribuição dos povos mediterrâneos na formação étnica da população cearense, uma diminuta associação de anemia falciforme com talassemia alfa. Sabe-se que o valor do VCM observado nessa hemoglobinopatia é menor que o encontrado na AF⁽⁷⁾. A associação dessas duas patologias foi descrita pela primeira vez numa família da Arábia Saudita, por Wheatherall, em 1969⁽²¹⁾, e no Brasil foi identificada em pacientes de São Paulo, em 22%⁽⁵⁾ e 17%⁽⁸⁾. A menor associação da talassemia alfa com a anemia falciforme no nosso meio poderia se expressar pela falta do seu efeito redutor no VCM dos pacientes.

A média da concentração de hemoglobina fetal para o grupo de pacientes foi de $7,61 \pm 1\%$, e equiparou-se ao observado nos demais estudos da literatura. A concentração média de HbF encontrada por Queiroz⁽²¹⁾, na Bahia, foi de

6,45%. Em São Paulo, Figueiredo⁽⁸⁾ encontrou uma HbF de 6,35%, e em Alagoas, Costa⁽⁶⁾ encontrou concentração média de HbF de 9,28%.

Os estudos dos haplótipos realizados neste grupo de pacientes constituem fonte pioneira de dados referentes ao diagnóstico molecular da anemia falciforme no estado do Ceará. Contribui-se dessa forma com mais informações sobre a doença e a expressão do seu polimorfismo genético, para serem analisadas em conjunto com os demais dados provenientes de outras localidades e regiões do Brasil.

Além disso, nesse trabalho indica-se aparente predominância do grupo Benin em nosso meio, o que parece confirmar as informações obtidas através dos documentos históricos sobre nossa origem étnica. Os dados hematológicos avaliados junto ao contexto molecular da anemia falciforme serão referência para o aprofundamento do conhecimento clínico da doença, bem como valioso adjuvante no seguimento clínico dos pacientes ao longo do tempo.

Referências

- ANTONARAKIS, S. E.; BOEHM, C. D.; GIARDINA, P. J. V.; KAZAZIAN Jr, H. H. Nonrandom association of polymorphic restriction sites in the β -globin gene cluster. *Proc Natl Acad Sci*, v. 79, p. 137-41, 1982.
- ANTONARAKIS, S. E.; KAZAZIAN Jr, H. H.; ORKIN, S. H. DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters. *Hum Genet*, v. 69, p. 1-14, 1985.
- BALLAS, S. K.; MOHANDAS, N. Pathophysiology of vaso-occlusion. In: CHARACHE, S.; JONHSON, C. S. (eds.). *Hematology/Oncology Clinics of North America – Sickle Cell Disease*, v. 10, n. 6, p. 1221-40, 1996.
- BUNN, H. F.; FORGET, B. G. *Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects*. 1. ed. W.B. Saunders Company, 1986. 690 p.
- COSTA, F. F. et al. β^S gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia from two regions of Brazil. *Am J Hematology*, v. 46, p. 96-7, 1993.
- COSTA, P. J. M. S. *Anemia falciforme: diversidade clínica e laboratorial em crianças e adolescentes portadores do haplótipo Bantu do gene da globina β^S* . 1999, p. 64. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança) – Universidade Federal de Alagoas, Maceió.
- CHARACHE, S.; LUBIN, B.; REID, C. D. (ed.). *Management and therapy of sickle cell disease*. U.S. Department of Health and Human services – Public Health Services – National Institute of Health, August, 1991.
- FIGUEIREDO, M. S. *Efeitos da talassemia alfa e dos haplótipos do complexo da globina beta nas alterações clínicas e laboratoriais da anemia falciforme no Brasil*. 1993. 79 p. Tese (Doutorado) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.
- GONÇALVES, M. S. et al. Sickle cell disease in a Brazilian population from São Paulo: a study of the β^S haplotypes. *Hum Hered*, v. 44, p. 322-7, 1994.
- GIRÃO, R. *A abolição no Ceará*. Imprensa Oficial do Ceará, Secretaria de Cultura Turismo e Desporto, 1984. Capítulo III, p. 47-55.
- HOFFBRAND, A. V.; PETTIT, J. E. *Essential Haematology*. 3. ed. London, UK: Blackwell Science, 1993. 437p.
- KAN, Y. M.; DOZY, A. M. Polymorphism of DNA sequence adjacent to human beta globin structural gene: relationship to sickle mutation. *Proc Natl Acad Sci*, v. 75, p. 5631-5, 1978.
- KULOZIK, A. E. et al. Geographical survey of β^S globin gene haplotypes: evidence for an independent Asian origin of the sickle-cell mutation. *Am J Hum Genet*, v. 39, p. 239-44, 1986.
- MEARS, J. L. et al. The sickle gene polymorphism in North Africa. *Blood*, v. 58, p. 599-601, 1981.
- NAGEL, R. L.; RANNEY, H. M. Genetic epidemiology of structural mutations of the beta globin gene. *Seminars in Hematology*, v. 27, p. 342-59, 1990.
- NAGEL, R. L. et al. The Senegal DNA haplotype is associated with amelioration of anemia in African-American sickle cell anemia patients. *Blood*, v. 77, n. 6, p. 1371-5, 1991.
- NAOUM, P. C. *Hemoglobinopatias e talassemias*. Ed. Sarvier, 1997.
- PAGNIER, J. et al. Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. *Proc Natl Acad Sci*, v. 81, p. 1771-3, 1984.
- PANTE-DE-SOUZA, G. et al. Origin of the hemoglobin S gene in

- a northern Brazilian population: the effect of slave trade and internal migrations. *Genet Mol Biol*, v. 21, n. 4, p. 1-10, 1998.
20. POWARS, R. D. β^S -gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. In: NAGEL, R. L. (ed.). *Hematology/Oncology Clinics of North America – Hemoglobinopathies*, v. 5, n. 3, p. 475-93, 1991.
21. QUEIROZ, I. M. L. P. *Características clínicas, hematológicas e genéticas em pacientes homocigotos para a hemoglobinopatia S da Bahia e de São Paulo*. 1996. 111 p. Dissertação (Mestrado em Hematologia) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.
22. RIEDER, R. F. et al. Effect of beta-globin gene cluster haplotype on the hematological and clinical features of sickle cell anemia. *Am J Hemat*, v. 36, p. 184-9, 1991.
23. SUTTON, M.; BOUHASSIRA, E.; NAGEL, R. L. Polymerase chain reaction amplification applied to the determination of the β -like globin gene cluster haplotypes. *Am J Hematology*, v. 32, p. 66-9, 1989.
24. WAGNER, S. C. et al. Caracterização molecular da anemia falciforme em pacientes de Porto Alegre. *Rev Bras de Genet*, v. 19(suppl.): 244 (abstract), 1996.
25. WHO. Working Group – Hereditary anemias: genetics basis, clinical features, diagnosis and treatment. *Bull WHO*, v. 60, p. 643-60, 1982.
26. ZAGO, M. A.; FIGEIREDO, M. S.; OGO, S. H. Bantu β^S cluster haplotype predominantes among Brazilian blacks. *Am J Phys Anthropol*, v. 88, p. 295-8, 1992.
28. ZAGO, M. A. Origem e heterogeneidade da anemia falciforme. *Boletim*, v. XV, n. 162, p. 3-8, 1993.

Endereço para correspondência

Gentil Claudino de Galiza Neto
 HEMOCE
 Av. José Bastos, 3.390
 CEP: 60435-160 – Fortaleza-CE
 Tel.: (85) 3433-4400
 e-mail: gentilgaliza@ig.com.br