

Classe 23
18



HEMOGLOBINAS NORMAIS E ANORMAIS

CARLOS TRINCÃO

Separata dos ANAIS DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL — INFORMAÇÃO
BIBLIOGRÁFICA, Volume XII, Suplemento N.º 3 — Setembro de 1955



HEMOGLOBINAS NORMAIS E ANORMAIS

CARLOS TRINCÃO

Desde 1910, graças aos trabalhos de Walkulenko, que se sabe que a hemoglobina do sangue do cordão umbilical difere da do sangue do adulto normal, pela maior resistência à desnaturação pelos álcalis.

A hemoglobina fetal ainda se diferencia da hemoglobina adulta, por oferecer também maior resistência à desnaturação pelos ácidos, por propriedades imunológicas, cristalográficas, espectrofotométricas e por diferente velocidade de migração em camada monomolecular.

Constitui 55 a 98 % da hemoglobina do recém-nascido e praticamente toda se transforma em hemoglobina do tipo adulto, nos primeiros meses de vida (Jonxis).

Beaven e col. já encontraram hemoglobina de tipo adulto, na percentagem de 6 %, num feto de 20 semanas.

Não se pode exactamente marcar a idade em que a hemoglobina fetal desaparece dos glóbulos rubros dos recém-nascidos. A partir do 7.º mês, já geralmente ela ali se não encontra, mas pode persistir, em pequena quantidade, até cerca dos 19 meses (Zannos). Contudo Chernoff e Singer afirmam observar normalmente a sua persistência até à idade de 30 meses, podendo excepcionalmente manter-se até aos 5 anos.

Nos últimos tempos, descobriu-se que a hemoglobina de tipo fetal pode aparecer nos eritrócitos de indivíduos com mais idade, num certo número de doenças, a principal das quais é a *thalassaemia major*, ou doença de Cooley (Vecchio e Putignano e Fiore Donati).

Choremis e col. verificaram que, como regra, mais de 50 % da hemoglobina das crianças com esta doença, era do tipo fetal, fluando as concentrações encontradas entre 7 e 98 %. Não havia,

contudo, relação entre a gravidade da anemia e a percentagem de hemoglobina de tipo fetal encontrada, embora os doentes com menos de 20 % desta tivessem um quadro clínico menos grave.

A hemoglobina de tipo fetal encontra-se ainda na *thalassaemia minor*, ou síndrome de Rietti-Greppi-Micheli (Perosa, Putignano e Fiore Donati), mas aqui inconstantemente, não existindo em mais de 16 % dos doentes (Choremis e col.).

Pode também reaparecer na anemia perniciosa progressiva não tratada, nalgumas anemias hemolíticas, na leucémia, etc.

Nos últimos tempos, procurou-se averiguar se a hemoglobina de tipo fetal da *thalassaemia major e minor*, é ou não idêntica à hemoglobina fetal pròpriamente dita.

Embora ambas se comportem semelhantemente, em relação à velocidade de desnaturação pelos álcalis, outros reagentes já permitem reconhecer diferenças entre elas. Podemos apontar as seguintes:

1.º Desigual velocidade de desnaturação pelos ácidos das correspondentes oxihemoglobinas (Perosa, Putignano e Fiore Donati e Agnisetta e Massenti), demonstrando-se mais resistente nestas condições, a oxihemoglobina dos doentes de talassémia que a fetal (Perosa e Martino).

2.º Desigual velocidade de desnaturação, agora tanto pelos ácidos como pelos álcalis, das correspondentes carboxihemoglobinas (Putignano e Cognetti), sendo maior o tempo de desnaturação pelos álcalis do sangue fetal que o dos doentes com o síndrome mediterrânico, mas comportando-se ao invés os mesmos sangues quando sujeitos à desnaturação pelos ácidos.

3.º O comportamento electroforético das duas hemoglobinas, em tampão de veronal sódico (pH 9), depois de 12 horas de passagem duma corrente de 120 V. é também diferente (Perosa e Bini). A hemoglobina de tipo adulto normal desloca-se mais rapidamente que a fetal, e a dos doentes de Cooley tem velocidade de migração intermédia entre ambas. Além disso o aspecto das manchas destas várias hemoglobinas, depois de coradas pelo negro de naftalena, é diverso.

A demonstração da presença de hemoglobina fetal, ou de tipo fetal, nos eritrócitos faz-se correntemente pela prova da desnaturação alcalina, para a qual foram propostas várias técnicas. A de Singer e col., que é a mais vulgarmente adoptada, consiste em expor

uma determinada quantidade de hemoglobina à acção dum álcali, durante exactamente 1 minuto. Interrompe-se súbitamente a desnaturação, por adição dum soluto que simultâneamente baixa o pH e precipita a hemoglobina desnaturada, filtra-se e, no filtrado, doseia-se a hemoglobina não desnaturada, cuja percentagem se estabelece em relação à concentração total de hemoglobina no soluto sobre que incidiu a prova.

Sob o ponto de vista qualitativo, pode dizer-se que o sangue em estudo não contém hemoglobina alcalino-resistente quando o filtrado seja incolor e que a contém quando ele se apresente corado. Todavia, pequenas quantidades de pigmento podem escapar à vista desarmada e só ser apreciáveis por fotometria.

A técnica consiste em extrair sangue oxalatado que se centrifuga, desprezando-se o plasma. Lavam-se os glóbulos rubros com soro fisiológico, voltando-se a centrifugar para eliminar o líquido de lavagem. Hemolisam-se seguidamente os glóbulos rubros com 1,2 a 1,8 volumes de água destilada, a que se juntam 0,4 volumes de tolueno. O hemolisado centrifuga-se durante 20 minutos, a 3.000 rotações por minuto, para eliminar o estroma eritrocitário. Desprezam-se as duas camadas superiores e filtra-se o soluto de hemoglobina, ajustando-lhe o volume, por adição de água, de modo que o soluto final tenha uma concentração de aproximadamente 10 % de hemoglobina. Derrien e col. julgam que, na técnica da desnaturação alcalina de Singer, se deve fazer um soluto de hemoglobina a 3 %, para ter a certeza de hemolisar todos os eritrócitos, visto a diminuição da resistência globular ser uma característica da talassémia.

Tomar depois 16 ml de soda, ou potassa N/12, para um tubo de ensaio e colocá-lo num banho-maria a 20°. Decorridos alguns minutos, deitar no tubo 0,1 ml do soluto de hemoglobina preparado como atrás se descreveu, lavando a pipeta 6 vezes no conteúdo do tubo. Agitar este brandamente durante 15 segundos. Tomar nota, com um relógio conta-segundos, do momento exacto em que se juntou a hemoglobina ao soluto alcalino. Sessenta segundos depois, deitar no tubo 3,4 ml do reagente precipitante (mistura de 800 ml dum soluto de sulfato de amónio a meia saturação com 2 ml de ácido clorídrico 10 N). Misturar, invertendo 6 vezes os vários reagentes e filtrar por duas camadas de papel de filtro. A hemoglobina alcalino-resistente doseia-se depois espectrofotométricamente.

O sangue dos adultos normais não contém mais de 2 % de hemoglobina de tipo fetal, de modo que, acima desta percentagem, se pode afirmar estar em presença dum caso patológico.

Roche e col. ainda isolaram fracções diversas, dentro das hemoglobinas de tipo adulto e fetal, mas não nos habilitaram a tirar conclusões de valor prático deste fraccionamento.

Em 1949, Pauling e col. verificaram, pela primeira vez, que a mobilidade electroforética da hemoglobina dos doentes de anemia de células falciformes difere da dos indivíduos normais.

Viram depois que estes doentes tinham, nos seus critrócitos, uma mistura de proporções variáveis de hemoglobina normal e patológica, a qual, nas formas assintomáticas, oscilava entre 24 e 45 % do total. Nos casos patentes, a percentagem de hemoglobina patológica variava entre 70 e 100 %, sendo a restante hemoglobina do tipo fetal.

Estes factos mais reforçaram o conceito de Neel (1949 e 1951), hoje geralmente aceite, de que os casos assintomáticos de drepanocitose traduzem a herança heterozigótica do gene causador da drepanocitose, e os casos de anemia, a herança homozigótica deste gene.

Os estudos electroforéticos de hemoglobina dos ascendentes de vários doentes de anemia de células falciformes, levaram Itano e Neel à descoberta doutras variedades de hemoglobina anormal.

Tornou-se assim necessária a escolha duma nomenclatura para as diversas hemoglobinas patológicas que se foram sucessivamente descobrindo. Resolveu-se designá-las pelas letras do alfabeto. Inicialmente, escolheu-se a letra *A* para a hemoglobina de tipo adulto, a letra *F* para a hemoglobina fetal e a letra *S* para a hemoglobina da anemia de células falciformes (*sickle-cell anemia*). A descoberta doutros tipos de hemoglobina provocou a reunião dos investigadores norte-americanos interessados no seu estudo, tendo eles decidido modificar a nomenclatura, adoptando a letra *B* para a hemoglobina da drepanocitose e reservando as outras letras, de *C* a *E* e de *G* em diante para as variedades de hemoglobina já descobertas, ou a descobrir. Como, porém, a designação da hemoglobina falciforme por *S* já estivesse largamente divulgada, resolveu-se posteriormente voltar a denominá-la assim, perdendo-se a letra *B* para a classificação das hemoglobinas patológicas, para evitar a confusão que pudesse resultar da dualidade de nomenclaturas.

Assim, as hemoglobinas patológicas hoje conhecidas designam-se pelas letras *S*, *C*, *D*, *E*, *G* e *H*.

O tipo de prova que melhor se presta à caracterização destas várias hemoglobinas é a electroforese, quer em coluna líquida, quer em papel. Esta última presta-se muito bem a este tipo de estudos.

Mede-se pela electroforese a migração, num campo eléctrico, dum soluto de hemoglobina. Usa-se correntemente como dieléctrico um soluto tampão de veronal, com pH 8,5, força iónica 0,05, através do qual, na técnica de Spaet, se faz passar uma corrente contínua de 110 volts e 0,1 miliampères, durante cerca de 14 horas. O método de Motulsky e col. difere do descrito porque emprega uma corrente de 260 a 280 volts e 1,2 a 1,6 miliampères, a qual se deixa actuar durante 4 a 4 ½ horas apenas.

Para separar a hemoglobina fetal da hemoglobina adulta, Benhamou e col. recomendam um tampão de fosfato dissódico 0,01 M.

A velocidade de migração das várias hemoglobinas dispõe-se, em ordem crescente, pela seguinte escala: *C*, *E*, *S*, *G*, *A* e *H*. A hemoglobina *D* confunde-se com a *S* e a *F* com a *A*, quando se usa o tampão de veronal.

Pode distinguir-se, todavia, a hemoglobina *D* da *S*, pela ausência de transformação falciforme dos eritrócitos que apenas contenham a primeira e pela sua maior solubilidade nas condições que adiante referiremos.

A hemoglobina *F* distingue-se da *A* por uma menor mobilidade electroforética no tampão de fosfato dissódico 0,01 M, a qual, se não permite a perfeita separação das duas hemoglobinas, mostra um alongamento do diagrama electroforético. Caracteriza-se ainda pela maior resistência à desnaturação alcalina, na prova de Singer e col.

Enfim, a hemoglobina *G* distingue-se da *S* por uma mobilidade electroforética ligeiramente maior e pela impossibilidade da transformação falciforme dos eritrócitos que a contenham, sem mistura de hemoglobina *S*.

O estudo da solubilidade da hemoglobina faz-se em relação a 50 mg. do pigmento, que se lançam em 2 tubos, contendo um 8 ml e o outro 9,2 ml dum tampão de fosfato 2,8 M. Adicionam-se 100 mg de metabissulfito de sódio, para transformar a hemoglobina em hemoglobina reduzida, e completa-se o volume de 10 ml. Observa-se a precipitação da hemoglobina reduzida à temperatura de 250° (Itano).

A cromatografia também tem sido usada para separar as várias hemoglobinas. As primeiras tentativas de cromatografia em papel de Sansone e Cusmano e de Penati e col. permitiram separar a hemoglobina fetal, ou de tipo fetal, da hemoglobina adulta, nós próprios tentámos o método para separar a hemoglobina falciforme da hemoglobina normal e recentemente Huisman e Prins e Prins e Huisman conseguiram pela cromatografia em coluna, com tampão de ácido cítrico (pH 6,5), separar as hemoglobinas *A*, *S*, *C* e *F*. Nestas condições experimentais, a velocidade de migração das várias hemoglobinas difere da que se verifica na electroforese, sendo máxima a da hemoglobina *F* e seguindo-se-lhe, por ordem decrescente de velocidades, as hemoglobinas *A*, *S* e *C*.

A hemoglobina *S* parece provir duma raça primitiva que a transmitiu às populações indianas, e que do sul da Índia a levou para a África e para os países da bacia do Mediterrâneo (Lehmann). As primitivas raças africanas não são estigmatizadas pela drepanocitose (Salazar Leite). Encontra-se em percentagens muito variáveis nos negros da África e das Américas e ocasionalmente em indivíduos brancos naturais da Grécia, Itália, Portugal, Argélia, etc.

A hemoglobina *C* é pertença da raça negra, onde a sua incidência varia de 1 a 12 %. Encontra-se nos negros da costa ocidental, mas não nos da costa oriental da África, ou do Sudão, e nos negros da América.

A hemoglobina *D* parece ser bastante rara. Foi descoberta por Itano, numa rapariga, sem caracteres negróides, mas com drepanocitose. Esta era herdada do pai e a hemoglobina *D* da mãe, de origem inglesa, mas com antepassados remotos de origem austríaca e espanhola. Bird, Lohmann e Mourant observaram um outro caso num soldado indiano.

A hemoglobina *E* foi primeiramente encontrada em siameses, 12,5 % dos quais a possuem (Nakorn e col.). Itano, Bergren e Sturgeon descobriram-na num americano com ascendência asiática e Graff e coll. em vedas do Ceilão.

A hemoglobina *G* foi individualizada por Eddington e Lehmann, na Nigéria. Pela sua mobilidade electroforética em tampão de veronal (pH 8,6) pode confundir-se com as hemoglobinas *S*, *F* e *D*. Distingue-se da hemoglobina *S* não só pela impossibilidade da transformação falciforme dos eritrócitos que a contêm, mas porque esta

última é muito menos solúvel sob a forma de hemoglobina reduzida, na prova de Itano. A hemoglobina *F* é mais resistente que a hemoglobina *G* na prova da desnaturação alcalina. Sujeita a electroforese em tampão de cacodilato (pH 6,5) a hemoglobina *G* coloca-se entre as hemoglobinas *S* e *A*, mas em tampão de veronal (pH 8,6) já se separa mal da hemoglobina *A*. Em compensação, a hemoglobina *G* que se destaca mal da *S* no tampão ácido, já se afasta desta última no tampão alcalino. A solubilidade da hemoglobina *G* na prova de Itano, é, como dissemos, muito maior que a da hemoglobina *S* (superior a 5 gr de hemoglobina reduzida por litro de tampão de fosfatos 2,58 M).

A hemoglobina *H* foi descoberta por Rigas e col., em dois membros duma família chinesa, observados em consequência de sofrerem de anemia hipocrômica e microcítica grave, morfológicamente indistinguível da talassémia. Ambos os doentes se cansavam facilmente e tinham esplenomegalia. A mobilidade electroforética desta hemoglobina, em tampão de veronal (pH 8,6) é superior à da hemoglobina adulta normal. O sangue de um dos doentes continha 35 % de hemoglobina *H*, constituindo a hemoglobina adulta os 65 % restantes. É curioso assinalar que nem o pai, nem a mãe dos dois irmãos que se revelaram possuidores da hemoglobina anormal, a continham no seu sangue.

As diferenças entre as várias hemoglobinas não dependem de diversa composição dos grupos *hemes* das respectivas moléculas, mas sim das globinas, supondo-se que consistam no diverso prequeamento e enrolamento das cadeias polipeptídicas que as constituem e nas ligações da globina com o *heme*. Por estas últimas se explica a maior resistência da hemoglobina de tipo fetal à desnaturação alcalina (Penati e col.).

Huisman e col. estudaram a composição em aminoácidos da globina das hemoglobinas *A*, *S*, *C* e de carboxihemoglobina, depois de 48 horas de hidrólise de 150 mgr de carboxihemoglobina, por ebulição com 200 ml de ácido clorídrico 6 N, em condensador de refluxo, seguida da separação dos amino-ácidos libertados, por cromatografia em coluna. Os autores reconhecem que a hidrólise, nas condições experimentais seguidas, destrói certa percentagem de alguns amino-ácidos, como, por exemplo, uns 17 % de serina, 12 % de triptofana, 11 % de treonina e metionina e 7 % de glicina, embora a tabela que

apresentam e que transcrevemos (Quadro I) não tome em conta estas perdas.

QUADRO I

Composição em amino-ácidos das globinas das hemoglobinas A, S, C e F, hidrolisadas sob a forma de carboxihemoglobina (Huisman e col.)

Amino-ácidos	A	S	C	F
Ácido aspártico	10,50	10,51	10,34	10,26
Treonina	5,49	5,86	5,59	6,51
Serina	4,46	4,50	4,35	5,83
Ácido glutâmico	7,25	7,16	7,21	7,65
Prolina	4,96	4,64	5,06	4,22
Glicina	4,54	4,25	4,47	4,60
Alanina	9,96	9,87	9,81	9,68
Cistina	0,99	1,03	1,04	0,97
Valina	10,91	10,85	10,79	9,51
Metionina	1,40	1,23	1,36	1,84
Isoleucina	0,33	0,38	0,33	1,84
Leucina	15,16	15,06	14,81	15,29
Tirosina	3,85	3,85	3,87	3,18
Fenilalanina	7,83	8,11	7,98	7,87
Lisina	9,89	9,70	10,80	9,86
Histidina	8,31	8,32	8,61	7,38
Arginina	3,36	3,33	3,41	3,34
Total (*)	109,19	108,71	109,89	109,83
Azote recuperado % (*).	91,8	90,2	93,1	91,4

(*) Não incluindo o heme, a triptofana e o azote amidico.

Comparando entre si os resultados obtidos, verifica-se que a hemoglobina *F* difere da *A* por conter percentagem mais elevada de treonina, serina, metionina, talvez também de ácido glutâmico, mas principalmente de isoleucina, e por menor riqueza em prolina, valina, tirosina, histidina e talvez alanina.

Conforme Schroeder e col. já tinsam verificado, a composição das globinas das hemoglobinas *A* e *S* é aproximadamente idêntica.

A globina *C* difere da *A* por conter concentração mais elevada de lisina e histidina.

Procurando relacionar as diferenças de estrutura química, com as diferenças de mobilidade electroforética, os autores acentuam que o

mais pronunciado carácter alcalino da hemoglobina C contribui para que ela tenha o seu máximo de migração electroforética a pH 6,75 (tampão de fosfatos).

Quanto às hemoglobinas *S* e *F*, que contêm menor número de grupos básicos, as diferenças da mobilidade electroforética devem explicar-se pela diferente estrutura das respectivas cadeias polipeptídicas.

As hemoglobinas patológicas têm propriedades antigénicas, podendo preparar-se anti-soros que as precipitam. Schneider, inoculando coelhos com os glóbulos rubros de doentes de anemia de células falciformes, obteve um soro que aglutinava os eritrócitos da maioria dos indivíduos com aquela anemia, mas não os dos vectores assintomáticos da drepanocitose. Este soro aglutinava também o sangue do cordão umbilical de recém-nascidos. A mesma autora imunizou coelhos com os glóbulos rubros dum indivíduo homozigoto para a hemoglobina C, verificando que os soros obtidos aglutinavam os eritrócitos de doentes e vectores assintomáticos da drepanocitose, os do sangue do cordão umbilical do recém-nascido e os que continham a hemoglobina C. Parece assim haver propriedades antigénicas comuns das hemoglobinas *F*, *S* e *C*.

A doença, ou hemoglobinose C, que depende da herança homozigótica desta semoglobina anómala, é uma variedade relativamente benigna de anemia hemolítica constitucional, com aumento da resistência eritrocitária aos solutos salinos hipotónicos, presença de elevada percentagem de eritrócitos em disco de alvo, nos esfregaços de sangue, e diminuição do tempo de vida do glóbulo rubro para 1/4 ou 1/5 do normal.

A hemoglobinose *G*, no único caso até hoje encontrado e descrito por Eddington e Lehmann, reveste aspecto extremamente benigno. Não ocasiona anemia, apenas se notando as mesmas anomalias morfológicas dos glóbulos rubros que descrevemos na doença C.

A forma homozigótica da hemoglobinose *S* é a bem conhecida anemia de células falciformes cujo quadro patológico nos dispensamos de descrever ainda que sumariamente.

De nenhuma das outras hemoglobinas patológicas se encontrou até agora a forma homozigótica.

Observaram-se, contudo, misturas de percentagens variáveis delas com a hemoglobina normal do adulto.

Conhecem-se as seguintes combinações de algumas das várias hemoglobinoses entre si:

Anemia de células falciformes + Talassémia (Silvestroni e Bianco, etc.);

Anemia de células falciformes + Hemoglobina C (Itano e col.);

Anemia de células falciformes + Hemoglobina D (Itano);

Anemia de células falciformes + Hemoglobina G (Eddington e Lehmann);

Hemoglobina C + Talassémia (Singer e col., etc.);

Hemoglobina E + Talassémia (Chernoff e col.).

As combinações das várias hemoglobinas patológicas originam quadros de anemia mais ou menos grave, de tipo hemolítico, com aumento de resistência globular, hipocromia, eritrócitos em alvo e diminuição do tempo de vida do glóbulo rubro. São particularmente graves as combinações da hemoglobina E e da drepanocitose com a talassémia.

Damos no Quadro II um apanhado das combinações de hemoglobinas normais com hemoglobinas patológicas e destas entre si, até à data encontradas, relacionando-as com as doenças e estados constitucionais patológicos que determinam.

Em relação com o referido quadro devemos sublinhar dois factos.

O primeiro é que, segundo investigações recentes, nem todos os sangues de doentes de anemia de células falciformes (Huisman, van der Schaaf e van der Sar) ou com a hemoglobinoze C (Eddington, Lehmann e Schneider) contêm a fracção de hemoglobina de tipo fetal que lhes atribuímos.

O segundo é que a hemoglobina de tipo fetal encontrada quer nos doentes de anemia de células falciformes, quer nas outras situações anómalas mencionadas no referido Quadro II, com excepção da talassémia, ainda não devidamente estudada, ignorando-se portanto se difere ou não da hemoglobina fetal normal do sangue do cordão.

O leitor compreenderá por certo que o capítulo da patologia da hemoglobina que esboçamos é de descoberta e conhecimento muito recente, pelo que não é difícil prever que venha a sofrer aditamentos e remodelações no decurso dos próximos anos. Focámos apenas a sua importância em relação à patologia e, particularmente, à das regiões tropicais, mas não queremos terminar sem pôr em relevo o interesse que ele pode ter quanto à genética e à antropologia.

QUADRO II

Variedades de hemoglobina conhecidas, combinações destas já encontradas e suas relações com os diferentes estados clínicos

Situação clínica	Hemoglobina encontrada
Adulto normal	A
Recém-nascido normal	AF
Constituição falciforme	AS
Anemia de células falciformes	S (F)
Constituição C	AC
Doença ou hemoglobinose C	C (F)
Constituição D	AD
Constituição E	AE
<i>Thalassaemia major</i>	AF
<i>Thalassaemia minor</i>	A (F)
Constituição G	AG
Hemoglobinose G	G
Constituição H	AH
Constituição falciforme + Constituição C	SC
Constituição falciforme + Constituição D	SD
Constituição falciforme + Talassémia	SAF
Talassémia + Constituição C	ACF
Talassémia + Constituição E	AEF
Algumas formas de anemia adquirida	A (F)

BIBLIOGRAFIA

- AGNISETTA, S. e MASSENTI, S. — *Minerva Médica*, 44, 2: 661, 1953.
- BEAVEN, G. H. e HOLIDAY, E. R. — *Biochem. J.*, 49: 374, 1951.
- BENHAMOU, E., PUGLIESE, J., GRIGUER, P. e AMOUCH, P. — *Presse Médicale*, 62: 1513, 1954.
- BIRD, G. W. G., LEHMANN, H. e MOURANT, A. E. — *Trans. Royal Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 49: 399, 1955.
- CHERNOFF, A. I. — *Comunicação ao Vº Congrès International de la Transfusion Sanguine*, Paris, 1954.
- CHERNOFF, A. I., MINNICH, V. e CHONGCHAROENSOOK, S. — *Science*, 120: 605, 1954.
- CHERNOFF, A. I., MINNICH, V., CHONGCHAROENSOOK, S., NAKORN, S. e CHERNOFF, R. — *J. Lab. & Clin. Med.*, 44: 780, 1954.
- CHERNOFF, A. I. e SINGER, K. — *Pediatrics*, 9: 469, 1952.
- CHOREMIS, C., ZANNOS, L. e DENDAKI, C. — *Comunicação ao Vº Congrès International de la Transfusion Sanguine*, Paris, 1954.
- EDDINGTON, G. M. e LEHMANN, H. — *Lancet.*, 2: 173, 1954.
- EDDINGTON, G. M., LEHMANN, H. e SCHNEIDER, R. G. — *Nature*, 175: 850, 1955.
- GRAFF, J. A., IKIN, E. W., LEHMANN, H., MOURANT, E. A., PARKIN, D. M. e WICKREMASINGHE, R. L. — *J. Physiol.*, 127: 418, 1955.
- HUISMAN, T. H. J. e PRINS, H. H. — *J. Lab. & Clin. Med.*, 46: 255, 1955.
- HUISMAN, T. H. J., JONXIS, J. H. P. e VAN DER SCHAAF, P. C. — *Nature*, 175: 902, 1955.
- HUISMAN, T. H. J., VAN DER SCHAAF, P. C. e VAN DER SAR, A. — *Docum. Med. Geograph. Trop.*, 7: 285, 1955.
- ITANO, H. A. — *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 37: 775, 1951 e *Arch. Biochem. & Biophysics*, 47: 148, 1953.
- ITANO, H. A., BERGEEN, W. R. e STURGEON, P. — *J. Am. Chem. Soc.*, 76: 2278, 1954.
- ITANO, H. A. e NEEL, J. V. — *Proc. Acad. Sci.*, 36: 613, 1950.
- ITANO, H. A. e PAULING, L. — *Blood*, 4: 66, 1949.
- JONXIS, J. H. P. — *Nature*, 160: 854, 1948.
- LEHMANN, H. — *Eugenics Rev.*, 46: 3, 1954.
- MOTULSKY, A. G., PAUL, M. H. e DURRUM, E. L. — *Blood*, 9: 697, 1954.
- NAKORN, S., MINNICH, V. e CHERNOFF, A. I. — *J. Lab. & Clin. Med.*, 44: 903, 1954.
- NEEL, J. V. — *Science*, 110: 64, 1949 e *Blood*, 6: 389, 1951.
- PAULING, L., ITANO, H. A., SINGER, K. e WELLS, I. C. — *Science*, 110: 543, 1949.
- PENATI, F., TURCO, G. L. e LOVISETTO, P. — *Haematologica*, 38: 1411, 1954.
- PEROSA, L. e BINI, L. — *Experientia*, 10: 469, 1954.
- PEROSA, L. e MARTINO, F. — *Progresso Médico*, 7: 429, 1951.
- PEROSA, PUTIGNANO e FIORE DONATI, L. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Speriment.*, 25: 1204, 1949.
- PRINS, H. K. e HUISMAN, T. H. J. — *Nature*, 175: 903, 1955.
- PUTIGNANO, T. e CGNETTI, S. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Speriment.*, 28: 1157, 1952.

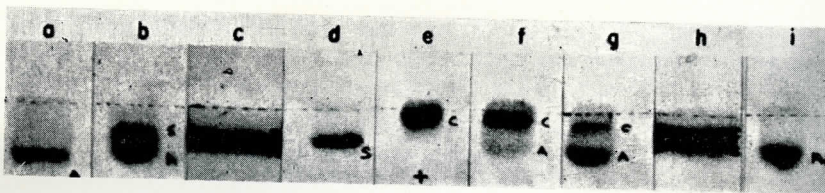


Fig. 1 — Tipos de hemoglobina isolados por electroforese em papel (Motulsky e cl.).

- A — Hemoglobina adulta normal (100 % A).
- B — Constituição falciforme (35 % S, 65 % A).
- C — Microdrepanocitose (82 % S, 18 % A) (não consegue nas condições experimentais adoptadas separar-se a hemoglobina A da F).
- D — Anemia de células falciformes (100 % S).
- E — Hemoglobinose ou doença C (100 % C).
- F — Mesmo caso depois de transfusão de sangue normal (82 % C, 18 % A).
- G — Constituição C (30 % C, 70 % A).
- H — Doença C + anemia de células falciformes (50 % C, 50 % S).
- I — Sangue do cordão (não há separação nítida entre as hemoglobinas A e F).

- PUTIGNANO, T. e FIORE DONATI, L. — *Ibid.*, 24: 277, 1948.
- RIGAS, D. A., KOLER, R. D. e OSGOOD, E. E. — *Science*, 121: 372, 1955.
- ROCHE, J. e DERRIEN, Y. — *Rev. Hémat.*, 8: 470, 1951.
- SALAZAR LEITE, A. — Comunicação pessoal.
- SANSONE, G. e CUSMANO, F. — *Boll. Soc. Ital. Biol. Speriment.*, 27: 1369, 1951.
- SCHNEIDER, R. — Comunicação ao Vº Congrès International de la Transfusion Sanguine, Paris, 1954.
- SCHROEDER, W. A., KAY, L. M. e WELLS, I. C. — *J. Biol. Chem.*, 187: 505, 1950.
- SILVESTRONI, E. e BIANCO, I. — *Haematologica*, 29: 455, 1946.
- SINGER, K., CHERNOFF, A. I. e SINGER, L. — *Blood*, 6: 412, 1951.
- SPAET, T. H. — *J. Lab. & Clin. Med.*, 41: 161, 1953.
- TRINCÃO, C. — *J. Médico*, 27: 234, 1955.
- VECCHIO, F. — *Pediatria*, 54: 529, 1946.
- WALKULENKO — Cit. por K. BETK in «Der menschliche rote Blutfarbstoff bei Fetus und reifem Organismus», ed. Springer, Berlin, 1954.
- ZANNOS, L. — *Acta paediat.*, 42: 305, 1953.

Imprensa Portuguesa ★ Rua Formosa, 108-116 ★ PORTO