

Índice

Resumo	1
Abstract	6
Lista de abreviaturas.....	10
I. Introdução	16
1. Hemoglobina	18
1.1. Hemoglobina adulta.....	20
1.1.1. Contactos $\alpha\beta$	23
1.1.2. AHSP.....	24
1.1.3. Função da Hb A	26
2. Hemoglobinopatias	29
2.1. Talassémias	30
2.1.1. α -talassémias.....	31
2.2. Variantes de Hb.....	32
2.2.1. Variantes que originam células falciformes	33
2.2.2. Variantes instáveis	34
2.2.3. Variantes com afinidade para o O ₂ alterada.....	35
2.2.4. Variantes com capacidade de transporte de O ₂ diminuída.....	35
2.2.5. Variantes talassémicas	36
II. Objetivos.....	38
III. Material e métodos.....	42
1.1. Análise dos parâmetros hematológicos	45
1.2. Preparação das amostras	45
1.2.1. Extração de ADN	45
1.2.2. Extração de ARN	46
1.2.3. Preparação de hemolisados	47

1.3. Estudo das Hbs	47
1.3.1. HPLC de troca catiónica	48
1.3.2. Eletroforese em acetato de celulose	48
1.3.3. IEF	48
1.4. Estudo das cadeias globínicas	49
1.4.1. HPLC de fase reversa	49
1.4.2. AUT-PAGE	49
1.5. Estudos moleculares.....	50
1.5.1. Gap-PCR multiplex	50
1.5.2. MLPA.....	51
1.5.3. Sequenciação	52
1.5.4. Real-time PCR	53
1.6. Estudos funcionais	54
1.6.1. Teste de instabilidade	54
1.6.2. Testes de afinidade de O ₂	54
1.7. Testes <i>in silico</i>	55
1.8. Simulações de dinâmica molecular.....	55
IV. Resultados	58
1. Variantes descritas.....	60
1.1. Caso clínico 1	60
1.1.1. Estudo das Hbs	60
1.1.2. Estudos moleculares	60
1.1.3. Estudos <i>in silico</i>	61
1.2. Caso clínico 2	62
1.2.1. Estudos moleculares.....	62

1.2.2. Estudos <i>in silico</i>	62
1.3. Caso clínico 3	63
1.3.1. Estudo das Hbs	63
1.3.2. Estudos moleculares	63
1.3.3. Estudos <i>in silico</i>	64
1.4. Caso clínico 4	65
1.4.1. Estudo das Hbs	65
1.4.2. Estudos moleculares	66
1.4.3. Estudos <i>in silico</i>	67
1.5. Caso clínico 5	68
1.5.1. Estudo das Hbs	68
1.5.2. Estudos moleculares	68
1.5.3. Estudos <i>in silico</i>	69
1.6. Caso clínico 6	70
1.6.1. Estudo das Hbs	70
1.6.2. Estudos moleculares	70
1.6.3. Estudos <i>in silico</i>	71
1.7. Caso clínico 7	72
1.7.1. Estudo moleculares	72
1.7.2. Estudo das Hbs dos indivíduos com o genótipo $\alpha^T\alpha/\alpha\alpha$...	74
1.7.3. Estudo das cadeias globínicas dos indivíduos com o genótipo $\alpha^T\alpha/\alpha\alpha$	74
1.7.4. Estudos <i>in silico</i>	75
1.8. Caso clínico 8	77
1.8.1. Estudos moleculares	77

1.8.2. Estudos <i>in silico</i>	77
2. Variantes não descritas	78
2.1. Caso clínico 9	78
2.1.1. Estudo das Hbs	78
2.1.2. Estudo das cadeias globínicas	79
2.1.3. Estudos moleculares	80
2.1.4. Estudos <i>in silico</i>	80
2.1.5. Estudos funcionais	81
2.1.5.1. Teste de instabilidade	81
2.1.5.2. Testes de afinidade de O ₂	81
2.1.6. Simulações de dinâmica molecular	83
2.2. Caso clínico 10	85
2.2.1. Estudo das Hbs	85
2.2.2. Estudo das cadeias globínicas	86
2.2.3. Estudos moleculares	87
2.2.4. Estudos <i>in silico</i>	89
2.2.5. Estudos funcionais	89
2.1.5.1. Teste de instabilidade	89
V. Discussão.....	91
1. Variantes descritas.....	93
1.1. Caso clínico 1	93
1.2. Caso clínico 2	95
1.3. Caso clínico 3	97
1.4. Caso clínico 4	99
1.5. Caso clínico 5	101

1.6. Caso clínico 6	104
1.7. Caso clínico 7	107
1.8. Caso clínico 8	109
2. Variantes não descritas	112
2.1. Caso clínico 9	112
2.2. Caso clínico 10	115
VI. Conclusões.....	120
VII. Bibliografia.....	123
VIII. Anexos	134

