



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ



Curso de Pós-graduação em Patologia

Dissertação de Mestrado

INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS A  
POTENCIAIS FATORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM DOENÇA FALCIFORME.

MAGDA OLIVEIRA SEIXAS

Salvador – Bahia – Brasil  
2009

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS A  
POTENCIAIS FATORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM DOENÇA FALCIFORME.

**MAGDA OLIVEIRA SEIXAS**

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Marilda de Souza Gonçalves

Dissertação de Mestrado apresentada para  
obtenção do título de Mestre em  
Patologia, área de concentração em  
Patologia Experimental.

Salvador – Bahia – Brasil  
2009

## **FONTES DE FINANCIAMENTO**

- CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.
- FAPESB – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia.
- DECIT/CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Se eu pudesse deixar algum presente a você, deixaria acesso ao sentimento de amar a vida dos seres humanos. A consciência de aprender tudo o que foi ensinado pelo tempo afora... Lembraria os erros que foram cometidos para que não mais se repetissem. A capacidade de escolher novos rumos. Deixaria para você, se pudesse, o respeito àquilo que é indispensável: Além do pão, o trabalho. Além do trabalho, a ação. E, quando tudo mais faltasse, um segredo: O de buscar no interior de si mesmo a resposta e a força para encontrar a saída."

(Mahatma Gandhi)

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo infinito amor e pela presença constante em minha vida.

A Professora Marilda de Souza Gonçalves, minha orientadora, pela confiança, pela oportunidade de realizar esse sonho, pela participação, a todo o momento, no desenvolvimento desse trabalho e acima de tudo pelo exemplo de amor a tudo o que faz.

A minha mãe por fazer todo o possível para que eu conseguisse chegar até aqui e aos meus irmãos e a Daniela (minha sobrinha) por serem a razão da minha vida.

A Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis, chefe do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, por permitir a utilização das instalações sob sua coordenação e pelo acompanhamento do trabalho.

A Dr<sup>a</sup> Larissa Rocha por sua participação ativa no desenvolvimento do projeto .

A todos os funcionários, professores e colegas do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz em especial a Tauar Sampaio pela disposição e pelo esclarecimento de todas as dúvidas sempre e com boa vontade.

A todos os funcionários do Laboratório de Análises Clínicas e do Laboratório de Pesquisa em Anemias da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia pela colaboração e auxílio na realização das análises laboratoriais, em especial a Selma, Isabela e Gabriel pela dedicação.

Aos colegas do LPBM pelo convívio e pelas palavras de estímulo e apóio nos momentos adequados, em especial a Andréa.

Aos colegas de equipe pelo auxílio e pelos aprendizados proporcionados principalmente a Cynara e a Elisângela pelo auxílio na padronização das técnicas.

A José Neto pelo auxílio nas análises estatísticas e pela alegria constante.

Aos funcionários da HEMOBA pelo auxílio nas coletas e principalmente pelo exemplo de dedicação e amor ao próximo, em especial a Dr<sup>a</sup> Valma Lopes por ser um exemplo de pessoa e de profissional.

As bibliotecárias do CPqGM-Fiocruz-BA Ana Maria Fiscina e Martha Martins pelo auxílio na normatização da dissertação.

Aos amigos Paulo, Olívia, Fernanda, José Athayde, Wanderli, Rosely, Vera Lúcia e Viviane pelas palavras certas nos momentos mais necessários e por sempre acreditarem em mim.

A Maurício pelo amor, pela paciência, pelo apoio, pelo auxílio constante e irrestrito durante todo o período de desenvolvimento do projeto.

A Vânia Jordão por abrir meus olhos para a ciência e por acreditar que eu era capaz....Obrigada!

A todos aqueles que estiveram ao meu lado durante essa jornada.

Aos responsáveis pelas crianças por possibilitarem a realização do presente estudo.

A cada uma das crianças por me fazerem compreender a beleza da vida.

## RESUMO

### INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS AO POTENCIAIS FATORES PROGNÓSTICOS EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇA FALCIFORME. MAGDA OLIVEIRA SEIXAS.

As manifestações clínicas associadas à doença falciforme (DF) são heterogêneas, sendo caracterizadas por hemólise, inflamação crônica e crises vaso-oclusivas e dolorosas. O objetivo desse estudo foi investigar biomarcadores na DF, identificando moléculas associadas a hemólise, inflamação, ao metabolismo hepático, renal e lipídico em pacientes provenientes do estado da Bahia. Desta forma, foi desenvolvido um estudo de corte transversal envolvendo 152 pacientes com DF em estado estável da doença, sendo também incluídos 132 indivíduos saudáveis pareados por idade e sexo. A mutação -463G no gene da *MPO* foi investigada por PCR-RFLP. As análises hematológicas foram realizadas em contador automatizado, o perfil de hemoglobina foi confirmado por cromatografia líquida de alto desempenho e as dosagens bioquímicas como os lipídios (triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL e colesterol VLDL), transaminases (AST e ALT), marcadores renais (uréia e creatinina) e associados à inflamação e infecção (PCRe, A1AT e ASLO) foram investigados por quimioluminescência. No total de pacientes incluídos no estudo 67,5% (103/152) eram SS, 31,5% (48/152) SC e 0,7% (01) SD. A comparação das médias dos marcadores investigados entre pacientes e controles identificou diferenças estatísticas na maioria dos parâmetros, com exceção dos níveis de creatinina e proteínas totais e frações. A investigação de moduladores clássicos, como a Hb F, reticulócitos e leucócitos e sua associação com marcadores de hemólise, hepáticos, lipídicos e renal demonstrou associação principalmente entre reticulócitos e leucócitos e hemólise, metabolismo hepático, contagem de plaquetas, monócitos e neutrófilos, destacando a associação inversa dos leucócitos com colesterol HDL ( $r = -0,198$ ,  $p = 0,015$ ). Destaca-se também a correlação negativa entre o colesterol HDL e a contagem de reticulócitos e marcadores de inflamação (PCRe e A1AT). De maneira inversa, a LDH demonstrou associação direta com os marcadores de hemólise, contagem de leucócitos e plaquetas, concentração de Hb S e F e A1AT e inversa com níveis de colesterol HDL. Ao serem comparados grupos de pacientes com colesterol HDL diminuído e normais e dados clínicos, observou-se que os pacientes com níveis diminuídos de colesterol HDL apresentaram risco maior para o desenvolvimento de pneumonias (OR=2,42,  $p = 0,033$ ), alterações cardíacas (OR=2,88,  $p = 0,025$ ) e fizeram uso de hemoderivados (OR=2,52,  $p = 0,025$ ). A análise da mutação -463G da *MPO* revelou que os indivíduos com o alelo mutante apresentaram valores elevados de LDH, ferro sérico, bilirrubinas total e indireta. Os indivíduos com DF e litíase biliar apresentaram níveis elevados de colesterol total, colesterol VLDL e triglicerídeos ( $p < 0,05$ ). Nesse estudo investigou-se associações entre alguns biomarcadores e sua possível utilização como moduladores clínicos na DF, sendo que o colesterol HDL apresentou correlação inversa a marcadores de gravidade clínica na DF como hemólise, comprometimento hepático, renal e inflamatório. De acordo com os resultados obtidos, as lipoproteínas podem ter papel importante no acompanhamento da evolução clínica de pacientes com DF, onde destacamos o papel do colesterol HDL, que em níveis normais pode ser considerado como marcador de bom prognóstico clínico e que pode ser utilizado, rotineiramente, no acompanhamento periódico do paciente. Estudos adicionais devem ser conduzidos com o objetivo de esclarecer os possíveis mecanismos pelos quais os marcadores bioquímicos sugeridos interferem na modulação das manifestações clínicas presentes na doença falciforme, bem como os efeitos prováveis em indivíduos em idade adulta. Palavras chave: Doença falciforme, biomarcadores, colesterol HDL e prognóstico.

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF BIOMARKERS ASSOCIATED TO THE POTENTIAL PROGNOSTIC FACTORS IN PEDIATRIC PATIENTS WITH SICKLE CELL DISEASE. MAGDA OLIVEIRA SEIXAS.**

The clinical manifestations associated to sickle cell disease (SCD) are heterogeneous being characterized by hemolysis, chronic inflammation and vaso-occlusive and painful crisis. The aim of this study was investigate biomarkers to SCD, identifying molecules related to hemolysis, inflammation and hepatic, renal and lipidic metabolism in patients originating from the state of the Bahia. In this way, was developed a cross sectional study involving 152 SCD patients in the steady state of disease, being also included 132 healthy individuals matched by age and sex. The *MPO* gene -463G mutation was investigated by PCR-RFLP. The hematological analyses were carried out by automated method, the hemoglobin profile was confirmed by high performance liquid chromatography and biochemical analyses of lipids (triglycerides, total cholesterol, cholesterol HDL, cholesterol LDL and cholesterol VLDL), transaminases (AST and ALT), kidney markers (urea and creatinina) and associated to the inflammation and infection markers (PCR<sub>e</sub>, A1AT and ASLO) were investigated by immunochemistry assay method. In the total of SCD patients included in this study 67.5% (103/152) were SS, 31.5% (48/152) SC and 0.7% (01) SD. The comparison of means of the biomarkers investigated in SCD patients and controls identified statistical differences in the majority of the parameters, with the exception of creatinine and total proteins and fractions concentrations. The investigation classical biomarkers, as Hb F, reticulocyte and leucocyte and its correlation with markers of hemolysis, hepatic, lipidic and renal metabolism showed significative inverse correlation between leucocytes and cholesterol HDL ( $r = -0.198$ ,  $p = .015$ ). The cholesterol HDL also had a negative correlation with reticulocytes and markers of inflammation such as A1AT ( $r = -0.327$ ,  $p = .001$ ). Of inverse way, the LDH showed positive correlation with the markers of hemolysis, leucocytes count and Hb S and F and A1AT concentration and inverse correlation with cholesterol HDL levels. Comparing groups of SCD patients with low and normal cholesterol HDL and clinical manifestations, patients with low levels of cholesterol HDL present a higher risk for the development of pneumonia (OR=2.42,  $p = .033$ ), cardiac alterations (OR=2.88,  $p = .025$ ) and did use more blood therapy (OR=2.52,  $p = .025$ ). The analysis of *MPO* gene -463G mutation revealed that the individuals with the mutant allele presented a higher levels of LDH, serum iron, total and indirect bilirubins. The SCD individuals with cholelithiasis presented high levels of total of cholesterol, cholesterol VLDL and triglycerides. In this study was investigated possible associations between some hematological and biochemical biomarkers and its possible use as clinical modulators in SCD, being that the cholesterol HDL presented inverse correlation to markers of clinical severity associated to hemolysis, hepatic, renal and inflammatory mechanisms. According to the results, the lipoproteins can have important role in clinical follow-up of SCD patients, emphasizing the role of cholesterol HDL, that in normal levels can be considered a marker of good clinical prognostic and that can be utilized, routinely, in the SCD patients follow-up. Further studies should be driven with the aim of elucidate the mechanisms by the which these biochemical markers act as a SCD clinical modulators, as well as these effects in adulthood patients.

Key word: sickle cell disease, biomarkers, cholesterol HDL, clinical prognostic.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Molécula de hemoglobina. Estrutura quaternária ( $\alpha_2\beta_2$ ). (Adaptado de NAGEL <i>et al.</i> , 2005).....	19
Figura 02	Regulação gênica da síntese de hemoglobina nas fases embrionária, fetal e adulta. (Adaptado de WATHERALL, <i>et al.</i> , 2005).....	20
Figura 03	Interação das moléculas de hemoglobina durante o processo de falcização. (Adaptado de NAGEL, <i>et al.</i> , 2005).....	23
Figura 04	Representação esquemática do delineamento do desenho do estudo.	40
Figura 05	Representação gráfica da distribuição dos níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicérides com a presença de litíase biliar, no grupo de pacientes com doença falciforme.....	60
Figura 06	Representação gráfica da distribuição dos níveis séricos de LDH por presença do alelo mutante para mieloperoxidase, no grupo de pacientes com doença falciforme.....	71
Figura 07	Representação gráfica da distribuição da bilirrubina total e indireta por presença do alelo mutante para a MPO, no grupo de pacientes com doença falciforme.....	72
Figura 08	Representação gráfica da distribuição de leucócitos total por vaso-occlusão, no grupo de pacientes com doença falciforme.....	72
Figura 09	Análise de regressão linear entre contagem de hemácias e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	73

Figura 10	Análise de regressão linear entre a concentração de hemoglobina e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	73
Figura 11	Análise de regressão linear entre a concentração de hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	74
Figura 12	Análise de regressão linear entre concentração de VCM e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	74
Figura 13	Análise de regressão linear entre a concentração de HCM e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	75
Figura 14	Análise de regressão linear entre a contagem de plaquetas e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	75
Figura 15	Análise de regressão linear entre a contagem de leucócitos e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	76
Figura 16	Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol total e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	76
Figura 17	Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol VLDL e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	77

Figura 18	Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol LDL e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	77
Figura 19	Análise de regressão linear entre níveis séricos de triglicérides e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	78
Figura 20	Análise de regressão linear entre níveis séricos de LDH e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	78
Figura 21	Análise de regressão linear entre a concentração de hemoglobina S e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	79
Figura 22	Análise de regressão linear entre níveis séricos de alfa 1 antitripsina e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme.....	79
Figura 23	Modelo de mecanismo associado a participação do colesterol HDL na doença falciforme.....	96

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DF e controles.....	48
Tabela 02	Dados laboratoriais associados com biomarcadores clássicos na doença falciforme.....	51
Tabela 03	Dados laboratoriais associados ao biomarcador clássico (LDH) e colesterol HDL e triglicérides na doença falciforme.....	54
Tabela 04	Dados laboratoriais associados com colesterol total, colesterol LDL e colesterol VLDL na doença falciforme.....	55
Tabela 05	Categorização dos pacientes com DF por níveis de colesterol HDL.....	57
Tabela 06	Associação entre níveis de colesterol HDL e eventos clínicos na doença falciforme.....	59
Tabela 07	Análise multifariada entre dados bioquímicos e eventos clínicos.....	61
Tabela 08	Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos I.....	66
Tabela 09	Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos II.....	67
Tabela 10	Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos III.....	68
Tabela 11	Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos IV.....	69
Tabela 12	Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos V.....	70

## LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Genótipo homocigoto para a hemoglobina normal do adulto
A1AT	Alfa 1 Antitripsina
AC	Heterocigoto para hemoglobina C
AF	Anemia falciforme
ALT	Alanina aminotransferase
APAE	Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais
AS	Heterocigoto para hemoglobina S
ASLO	Anti-estreptolisina O
AST	Aspartato aminotransferase
AVC	Acidente vascular cerebral
BA	Bahia
Bil D	Bilirrubina Direta
Bil I	Bilirrubina Indireta
Bil Tot	Bilirrubina Total
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
Col HDL	Colesterol - Lipoproteína de alta densidade ( <i>High density lipoprotein</i> )
Col LDL	Colesterol - Lipoproteína de baixa densidade ( <i>Low density lipoprotein</i> )
Col Tot	Colesterol Total
Col VLDL	Colesterol - Lipoproteína de muito baixa densidade ( <i>Very low density lipoprotein</i> )
DF	Doença falciforme (SCD – <i>Sickle cell disease</i> )
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
Hb	Hemoglobina
HbA1	Hemoglobina 1 do adulto

HbA2	Hemoglobina 2 do adulto
HbC	Hemoglobina C
HbD	Hemoglobina D
HbF	Hemoglobina Fetal
HbS	Hemoglobina S
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HIV	Vírus da imunodeficiência humana ( <i>Human Immunodeficiency Virus</i> )
Hm	Hemácias
Ht	Hematócrito
HTLV	Vírus T-linfotrópico humano ( <i>Human T cell Lymphotropic Virus</i> )
HPLC	Cromatografia líquida de alto desempenho ( <i>High performance liquid chromatography</i> )
IC	Intervalo de confiança
ICAM	Molécula de adesão intracelular
K <sup>+</sup>	Íon potássio
Kb	Kilobases
LDH	Desidrogenase láctica
Leuco	Leucócitos
Mono	Monócitos
MPO	Mieloperoxidase
NO	Óxido nítrico
PHHF	Persistência hereditária de hemoglobina fetal
PCR	Reação da polimerase em cadeia ( <i>Polymerase Chain Reaction</i> )
PCRe	Proteína C reativa
Plaq	Plaquetas

PT	Proteínas Totais
Ret	Reticulócitos
RPFL	Restrição de polimorfismo por endonuclease de restrição ( <i>Restriction fragment length polymorphism</i> )
SC	Heterozigoto duplo para hemoglobinas S e C
SD	Heterozigoto duplo para hemoglobinas S e D
SE	Seqüestro Esplênico
Segm	Segmentado Neutrófilo
SS	Homozigoto para a hemoglobina S
STA	Síndrome Torácica Aguda
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
Triglic.	Triglicerídeos
VCAM	Molécula de adesão à célula vascular
VCM	Volume corpuscular médio
VR	Valor de referência

## LISTA DE SIMBOLOS

$\alpha$  Alfa

$\beta$  Beta

$\delta$  Delta

$\varepsilon$  Épsilon

$\gamma$  Gama

$\chi^2$  Quiquadrado (*chi square*)

$\xi$  Zeta

## SUMÁRIO

### RESUMO

### ABSTRACT

### LISTA DE FIGURAS

### LISTA DE TABELAS

### LISTA DE ABREVIATURAS

### LISTA DE SÍMBOLOS

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	19
1.1. A HEMOGLOBINA.....	19
1.2. A HEMOGLOBINA S.....	21
1.3. A HEMOGLOBINA C.....	24
1.4. A DOENÇA FALCIFORME.....	24
<b>1.4.1. Manifestações clínicas na doença falciforme</b> .....	25
<b>1.4.2. Fatores moduladores da doença falciforme</b> .....	29
<b>1.4.2.1. <u>Hemoglobina Fetal</u></b> .....	31
<b>1.4.2.2. <u>Leucócitos</u></b> .....	31
1.5. MIELOPEROXIDASE.....	32
1.6. METABOLISMO DOS LIPÍDIOS.....	33
1.7. URÉIA E CREATININA.....	34
1.8. ENZIMAS HEPÁTICAS.....	34
1.9. BILIRRUBINA TOTAL E FRAÇÕES E PROTEÍNAS TOTAIS E FRAÇÕES.....	35
1.10. DESIDROGENASE LÁTICA.....	36
<b>2. JUSTIFICATIVA</b> .....	37
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	39
3.1. OBJETIVO GERAL.....	39
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	40
4.1. CASUÍSTICA.....	41
4.2. COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE.....	42
4.3. ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E DE HEMOGLOBINAS.....	42
4.4. ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	43

4.5 ANÁLISE MOLECULAR.....	43
<b>4.5.1. Determinação da mutação -463G no gene da Mieloperoxidase.....</b>	<b>44</b>
4.6. DADOS CLÍNICOS.....	44
4.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	45
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>46</b>
5.1. CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES E CONTROLES.....	47
5.2. DADOS CLÍNICOS.....	49
5.3. HEMOGLOBINA FETAL, RETICULÓCITOS E LEUCÓCITOS.....	49
5.4. DADOS BIOQUÍMICOS E NÍVEIS DE COLESTEROL HDL, TRIGLICERÍDEOS E LDH.....	52
<b>5.4.1. Pacientes com doença falciforme e diferentes níveis de colesterol HDL</b>	<b>56</b>
5.5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA DOENÇA FALCIFORME E NÍVEIS DE COLESTEROL HDL.....	58
5.6. CORRELAÇÕES ENTRE DADOS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E PERCENTAGEM DE HEMOGLOBINAS.....	62
5.7. POLIMORFISMO G463A NO GENE DA MIELOPEROXIDASE.....	71
5.8. ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR.....	73
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>80</b>
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>92</b>
<b>8. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>94</b>
<b>9. MODELO DE MECANISMO DE AÇÃO DO COLESTEROL HDL.....</b>	<b>95</b>
<b>10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>97</b>
<b>APÊNDICE</b>	
<b>ANEXO</b>	

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 – A HEMOGLOBINA

A hemoglobina (Hb) é uma proteína globular encontrada nos eritrócitos, tendo como principal função o transporte de oxigênio para todos os tecidos e a retirada de dióxido de carbono dos mesmos (Figura 01). A Hb é composta por quatro cadeias polipeptídicas agrupadas duas a duas, sendo um par denominado de cadeias do tipo alfa ( $\alpha$  – alfa e  $\xi$  - zeta) e outro de cadeias tipo não alfa ( $\beta$  - beta,  $\delta$  - delta,  $\gamma$  - gama e  $\epsilon$  - épsilon), formando dessa maneira os diferentes tipos de hemoglobina que são correspondentes a cada estágio de desenvolvimento ontogênico do indivíduo (BUNN & FORGET, 1986; WEATHERALL & PROVAN, 2000; PERUTZ, 2001).

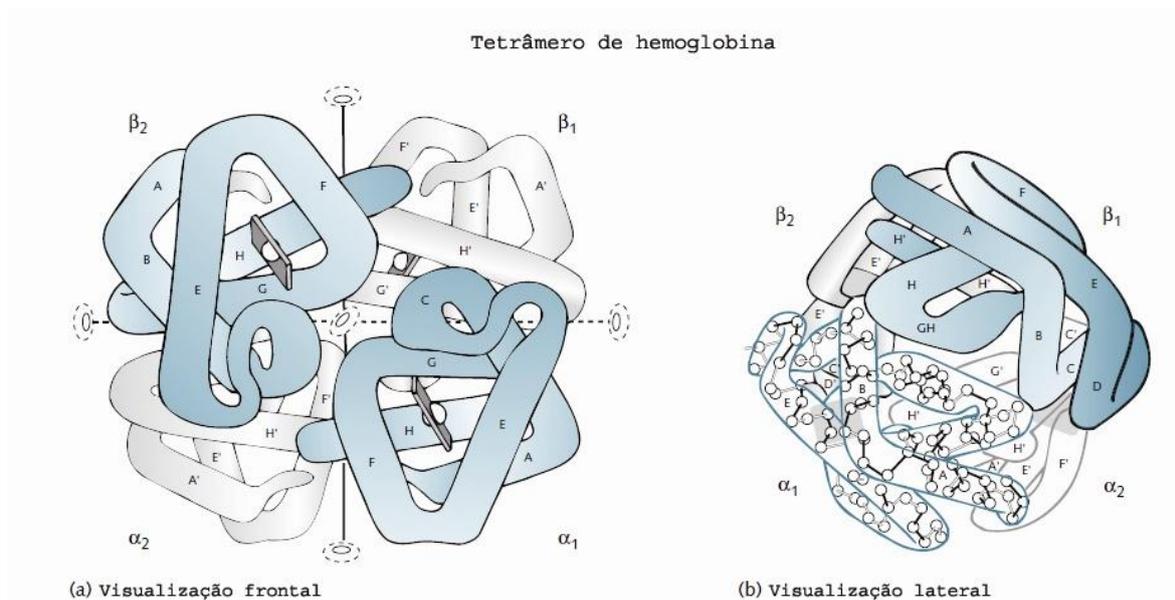


Figura 01 – Molécula de hemoglobina. Estrutura quaternária ( $\alpha_2\beta_2$ ). Adaptado de NAGEL *et al.*, 2005.

Os grupamentos de genes que codificam as globinas  $\alpha$  e  $\beta$  estão localizados nos cromossomos 16 e 11, respectivamente (MODELL & DARLISON, 2008) e aparecem na ordem em que são expressos nos períodos embrionário, fetal e adulto, quando

diferentes grupos de genes são ativados ou suprimidos e as cadeias globínicas são produzidas independentemente (Figura 02). As cadeias polipeptídicas da globina são compostas por números diferentes de aminoácidos, sendo que as cadeias  $\alpha$  possuem 141 aminoácidos e as cadeias não- $\alpha$  146.

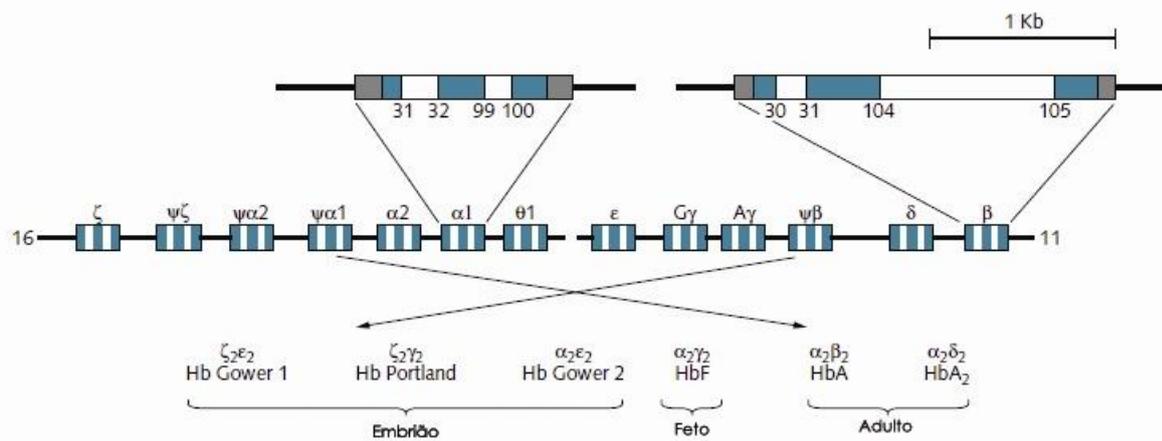


Figura 02 – Regulação gênica da síntese de hemoglobina nas fases embrionária, fetal e adulta. Adaptado de WATHERALL *et al.*, 2005.

As Hb Gower 1 ( $\xi_2 \epsilon_2$ ), Portland ( $\xi_2 \gamma_2$ ) e a Gower 2 ( $\alpha_2 \epsilon_2$ ) estão presentes no período embrionário. A hemoglobina fetal ( $\alpha_2 \gamma_2$ ) tem sua produção iniciada no período fetal com sua síntese diminuída na vida adulta, quando predominam as hemoglobinas HbA ou  $A_1$  ( $\alpha_2 \beta_2$ ) e HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2 \delta_2$ ). A hemoglobina  $A_1$  possui concentração maior na vida adulta variando entre 95 a 98%; a HbA<sub>2</sub> varia de 1,5 a 3,5% e a HbF apresenta até 2%. A HbF representa 70-80% do total das hemoglobinas ao final do período gestacional, sendo que seis meses após o nascimento a criança já apresenta as concentrações da vida adulta (BUNN & FORGET, 1986).

Alterações genéticas na molécula da Hb são denominadas hemoglobinopatias e apresentam prevalência mundial elevada (NAGEL & STEINBERG, 2001) podendo ser classificadas como estruturais e de síntese. As hemoglobinopatias estruturais são

decorrentes de mutações nos genes da globina, resultando em alterações na estrutura das cadeias polipeptídicas, com a formação de hemoglobinas variantes, sendo exemplos freqüentes as hemoglobinas S, C, D e E. As hemoglobinopatias de síntese ou as talassemias resultam de mutações nos genes da globina que levam a diminuição ou ausência na produção de uma ou mais cadeias polipeptídicas (MODELL & DARLISON, 2008). Nesse segundo grupo estão incluídos os indivíduos com persistência hereditária de hemoglobina fetal (PHHF) (LEE *et al.*, 1992; BUNN, 1994; BUNN, 1997; WEATHERALL & PROVAN, 2000).

## 1.2 – A HEMOGLOBINA S

A hemoglobina S (HbS) é uma hemoglobina variante resultante da mutação pontual no sexto códon do gene da globina beta ( $GAG \rightarrow GTG$ ), que leva a substituição da adenina(A) por timina (T) e, conseqüentemente, do ácido glutâmico pela valina na cadeia polipeptídica beta. A HbS forma polímeros em condições de hipóxia, modificando a forma das hemácias, tornando-as alongadas ou em forma de foice. A falcização das hemácias é um fenômeno reversível, sendo que a hemácia retorna à sua forma original após nova oxigenação. Contudo, após repetidos episódios de falcização, a hemácia torna-se irreversivelmente falcizada. A presença de um alelo normal e outro mutante para a HbS caracteriza os indivíduos denominados heterozigotos ou AS, que são saudáveis, mas que em condições de oxigenação baixa, como em altitudes elevadas, podem apresentar efeitos decorrente da falcização das hemácias (BUNN & FORGET, 1986; STEINBERG, 2001).

A hemoglobina S possui freqüência elevada na África, principalmente na região Centro-Occidental, Atlântico-Occidental e Sul. O gene  $\beta^S$  apresenta freqüência entre 0,12

a 0,14 no Congo e Zaire e de 0,08 a 0,10 no Senegal. A hemoglobina S também é encontrada em países do Mediterrâneo, incluindo a Itália e Grécia, bem como na Arábia Saudita, Kuwait e Índia (STEINBERG, 2001). Nos Estados Unidos da América e América Latina, aproximadamente 8% da população afro-descendente é portadora da HbS, estimando-se o nascimento de 1 / 625 crianças com anemia falciforme nos Estados Unidos (WANG & LUKENS, 1998).

O gene  $\beta^S$  apresenta distribuição heterogênea entre os diferentes estados brasileiros, variando de acordo com a região estudada. Na região Nordeste, BANDEIRA e col. (1999) descreveram a frequência de 5,1% para os heterozigotos AS e a prevalência de 0,2% para a doença falciforme no estado de Pernambuco; em Natal, Rio Grande do Norte, ARAÚJO e col. (2004) descreveram 1,5% de heterozigotos AS e 0,05% de portadores da anemia falciforme entre recém-nascidos do estado. O estado da Bahia apresenta a maior frequência brasileira para a HbS, tendo sido encontrado 7,4% do genótipo AS em 1.200 crianças em idade escolar (AZEVEDO et al., 1980), variando de acordo com o grupo populacional estudado. ADORNO e col. (2005) descreveram a frequência de 9,8% para heterozigotos AS, 0,9% para heterozigotos duplos SC e 0,2% para indivíduos com anemia falciforme (SS) em recém-nascidos de uma maternidade pública da cidade de Salvador-BA. Em estudo proveniente da triagem neonatal realizada pela APAE (Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais) na região do Recôncavo baiano foram descritas as frequências de 9,5 e 11,4% para portadores de hemoglobina S (SILVA *et al.*, 2006).

A região sudeste do Brasil apresenta frequência de 2% para os heterozigotos HbAS na população geral e de 6 a 10% em indivíduos afro-descendentes (BRASIL, 2002). A frequência de 6,6% foi descrita para indivíduos heterozigotos Hb AS afro-descendentes do Estado de São Paulo, com prevalência de 0,1% para a anemia

falciforme (HbSS) (RAMALHO 1986). BRANDELISE e col. (2004) descreveram em estudo realizado em 281.884 recém-nascidos do programa de triagem neonatal de Campinas a prevalência de 0,02% para a doença falciforme (SS e SC).

A HbS tem propriedades físico-químicas diferentes da hemoglobina A, uma vez que a substituição do ácido glutâmico por valina leva à perda de duas cargas elétricas por molécula de hemoglobina. Além disso, apresenta diferença na estabilidade e solubilidade, o que leva a formação de polímeros quando no estado de desoxihemoglobina (BUNN & FORGET, 1986).

Vários fatores têm sido associados ao aumento na extensão e velocidade de formação dos polímeros de HbS, dentre eles destacam-se a concentração intracelular de HbS, o grau de desoxigenação e a concentração de HbF (BUNN, 1997).

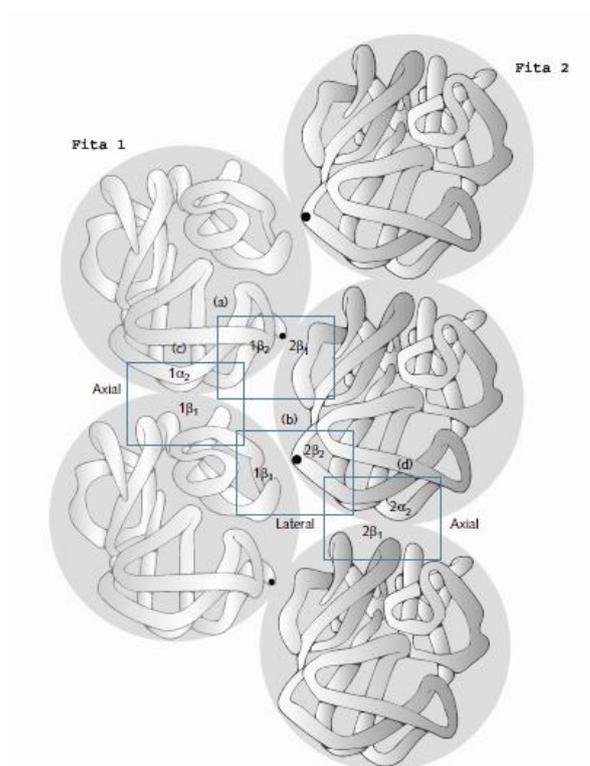


Figura 03 – Interação das moléculas de hemoglobina durante o processo de falcização. Adaptado de NAGEL *et al.*, 2005.

As deformações que ocorrem no processo de falcização alteram as trocas iônicas, afetam a permeabilidade celular e como consequência, surgem lesões de

membrana, contribuindo para a diminuição do tempo de vida dessas células. As alterações nas trocas iônicas, tais como a perda de íon potássio ( $k^+$ ), contribuem para a desidratação celular (BALLAS & MOHANDAS, 1996). A perda de elasticidade da célula esta associada ao aumento da concentração de HbS intracelular, resultando no aumento da viscosidade no citosol, à polimerização da HbS e rigidez da membrana (FABRY & KAUL, 1991).

### 1.3 – HEMOGLOBINA C

A hemoglobina C é resultante da mutação pontual no sexto códon do gene da globina beta onde ocorre a substituição da guanina (G) por adenina (A), levando a substituição do ácido glutâmico por lisina na cadeia polipeptídica beta. A hemoglobinopatia SC cursa com anemia, retinopatia e alterações renais, apesar dos seus portadores possuírem uma clínica mais favorável que aqueles com anemia falciforme (BOEHM *et al.*, 1985; STEINBERG, 2001).

### 1.4 - A DOENÇA FALCIFORME

O termo doença falciforme (DF) é utilizado para aquelas hemoglobinopatias que apresentam a hemoglobina S em homozigose ou em heterozigose dupla com outros tipos de hemoglobinas variantes ou de síntese como nas hemoglobinopatias SC e S $\beta$  talassemia. A doença falciforme está associada a um número elevado de manifestações clínicas, como crises dolorosas, acidente vascular cerebral (AVC), síndrome torácica aguda, anemia e infecções (KATO *et al.*, 2007). As complicações clínicas mais comuns na DF incluem anemia hemolítica que pode ter intensidade de moderada a grave,

episódios de vaso-oclusão, risco permanente de infecções devido à auto-esplenectomia, acidente vascular cerebral (AVC), priapismo, retinopatia e uma série de alterações em múltiplos órgãos (KATO *et al.*, 2007; SONATI & COSTA, 2008).

A anemia falciforme (AF) se caracteriza pela presença em homozigose da hemoglobina S e está associada a um quadro clínico heterogêneo, variando desde a presença de anemia hemolítica grave à ocorrência de crises dolorosas, resultando em fenômenos vaso-oclusivos. A anemia falciforme possui morbimortalidade elevada, principalmente decorrente de infecções associadas, sendo necessário o desenvolvimento de estudos que possam vir a estabelecer marcadores de prognóstico para os quadros clínicos mais graves da doença (STEINBERG, 2001).

#### **1.4.1 - Manifestações clínicas na doença falciforme**

As manifestações clínicas apresentadas por indivíduo com doença falciforme possuem variabilidade interpessoal, sendo influenciadas por fatores ambientais e sócio-econômicos. Os pacientes com doença falciforme apresentam manifestações clínicas caracterizadas como agudas e crônicas que estão presentes nos diversos períodos de vida, conferindo morbidade variável (BRASIL, 2008). Os principais eventos agudos presentes em crianças com doença falciforme nos primeiros dez anos de vida são anemia hemolítica, crises vaso-oclusivas e dolorosas, infecções, seqüestro esplênico (SE), síndrome torácica aguda (STA) e acidente vascular cerebral (AVC), que são os maiores responsáveis por internações hospitalares entre os pacientes (POWARS *et al.*, 2005).

A síndrome torácica aguda (STA) é caracterizada pela presença de infiltrado recente ou sinais de consolidação pulmonar associados usualmente à febre, dor torácica

e ou tosse (GASTON *et al.*, 1986). Trata-se de complicação freqüente na doença falciforme, acometendo principalmente pacientes com formas mais graves da doença (GASTON *et al.*, 1986; STEINBERG *et al.*, 2001), sendo uma das causas principais de hospitalização. O termo STA é aplicado na clínica pela impossibilidade de distinguir etiologia relacionada à oclusão vascular e infecção, embora outras etiologias estejam envolvidas, possuindo apresentação clínica diversa. Em crianças predomina a infecção e em adultos o infarto embora possam ocorrer de forma simultânea e concorrente (VICHISKY *et al.*, 2000).

O SE é a segunda causa de óbito em crianças com doença falciforme, principalmente nos primeiros cinco anos de vida, devendo ser reconhecido e tratado de forma precoce. Entretanto, crianças mais velhas e adultos portadores de hemoglobinopatias SC e S $\beta$  talassemia, podem ser acometidos devido à persistência da esplenomegalia (STEINBERG *et al.*, 2001; NIH, 2002; TAYLOR *et al.*, 2004; CEHMOB-MG, 2005). A etiologia do SE é desconhecida, embora exista forte associação com infecção. Caracteriza-se clinicamente pelo aumento súbito do baço, diminuição da hemoglobina, reticulocitose, piora da palidez e plaquetopenia (variável), podendo ocorrer insuficiência cardíaca e choque hipovolêmico. É um quadro que deve ser reconhecido e tratado de imediato, sendo responsável por 13% dos óbitos em pacientes com a doença falciforme menores que 20 anos (POWARS *et al.*, 2005).

As alterações cardíacas em portadores de doença falciforme estão associadas a concentração diminuída de hemoglobina e são comumente alterações das funções sistólica e diastólica (COVITZ *et al.*, 1995). Embora em menor ocorrência, o seqüestro hepático agudo pode ocorrer em pacientes com doença falciforme, sendo caracterizado pela presença de hepatomegalia, hiperbilirrubinemia, piora da anemia e reticulocitose.

Normalmente não costuma ocorrer colapso cardiovascular devido à distensibilidade hepática limitada (DOVER *et al.*, 1988; TAYLOR *et al.*, 2004).

O AVC é a complicação que apresenta conseqüências devastadoras em pacientes com anemia falciforme, deixando seqüelas debilitantes. Atualmente sabe-se que há comprometimento dos grandes vasos, notadamente da artéria carótida interna, cerebral média e cerebral anterior. Esta complicação ocorre em 11% dos pacientes com anemia falciforme até a idade dos 20 anos (ADAMS, 2005), sendo raro em pacientes com a doença falciforme. Os episódios isquêmicos são mais freqüentes em crianças e as hemorragias dos 20-29 anos de idade (OHENE-FREMPONG, 1998).

Os fenômenos vaso-oclusivos e dolorosos constituem os principais eventos clínicos da doença falciforme, sendo decorrentes da oclusão microvascular resultante de fatores múltiplos associados a participação de diferentes tipos celulares diferentes. A taxa de polimerização da HbS tem sido destacada como fator principal associado a adesão e desidratação dos eritrócitos e conseqüentemente, ao desenvolvimento de eventos vaso-oclusivos (KAUL *et al.*, 1989; KAUL & HEBBEL, 2000; TURHAN *et al.*, 2002 – referência tese Fábio). A oclusão microvascular pode levar a necrose tecidual e a ação de mediadores infamatórios desencadeando a resposta dolorosa (BALLAS, 2002). As crises vaso-oclusivas, com freqüência são associadas a episódios febris e podem estar ou não relacionadas aos processos infecciosos (PLATT *et al.*, 1994).

As infecções são as principais causas de óbito em pacientes com AF, sendo que vários estudos sugerem que a susceptibilidade elevada às infecções apresentadas por indivíduos com doença falciforme deve-se a alterações no sistema imunológico e a asplenia funcional. Dentre as infecções mais comuns estão aquelas causadas por microorganismos encapsulados como o *Streptococcus pneumoniae*. A avaliação neonatal adequada possibilita o diagnóstico dessa patologia precocemente e permite a

utilização de medidas profiláticas como a antibioticoterapia e esquemas de vacinação, visando prevenir os tipos mais comuns de infecção (STEINBERG, 2001; COSTA *et al.*, 2005; METHA *et al.*, 2006).

A diminuição acentuada do fluxo sanguíneo e o empilhamento de hemácias falcizadas no corpo cavernoso levam a ocorrência de priapismo, uma manifestação clínica que pode ocorrer de forma rápida ou prolongada. Nos casos de eventos prolongados, além da hidratação e da analgesia, pode ser necessária a intervenção cirúrgica (STUART & NAGEL, 2004). Alguns estudos sugerem que a origem desse fenômeno pode estar relacionada a mecanismo moleculares que envolvem a participação da guanilato ciclase e de uma fosfodiesterase do tipo 5A (BURNETT, 2003; CHAMPION *et al.*, 2005).

Os indivíduos com doença falciforme que apresentam o genótipo SS freqüentemente desenvolvem úlceras de pernas que são de cicatrização longa, e que geralmente são decorrentes de lesões traumáticas (SERJEANT *et al.*, 2005). Condições clínicas como úlcera de perna e retinopatia foram associadas a um risco maior para a ocorrência de lesões à órgãos e óbito precoce (POWARS *et al.*, 2005).

A colelitíase é uma conseqüência do metabolismo acelerado de bilirrubina tipicamente observado nas anemias hemolítica, como é o caso da doença falciforme. A litíase biliar pode ser observada na primeira década de vida, sendo que a maioria dos adultos são afetados e o método diagnóstico preferencial é a ultrasonografia (STEINBERG, 2001).

A redução da capacidade física em indivíduos adultos e pediátricos com anemia falciforme está associada a gravidade da anemia. Os exames cardíacos geralmente estão alterados, sendo que o coração pode apresentar dilatação, hiperatividade, sopro sistólico, com o encontro freqüente de contração prematura. O eletrocardiograma de indivíduos

com anemia falciforme, geralmente não apresentam anormalidades específicas e mostram sinais de hipertrofia ventricular (STEINBERG, 2001).

A terapia transfusional na doença falciforme tem a função de restaurar os níveis de hemoglobina quando estes estão muito baixos, como acontece durante um seqüestro esplênico; reduzir os níveis de Hb S e conseqüentemente, prevenir complicações vasculares graves como o AVC (STEINBERG, 2001).

Outras condições parecem contribuir para a ocorrência de manifestações clínicas na anemia falciforme, tais como a adesão de hemácias falcizadas e leucócitos ao endotélio vascular; a expressão de moléculas de adesão (VCAM, ICAM); alterações na concentração de hemoglobina total e HbF; o aumento do número de leucócitos; ativação de monócitos e expressão de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas (WANG & LUKENS, 1999; OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001; CANALLI *et al.*, 2004; CONRAN *et al.*, 2004; STUART & NAGEL, 2004), concluindo-se que o portador de anemia falciforme apresenta estado pró-inflamatório constante (HEBBEL & VERCELLOTTI, 1997; KUTLAR, 2005; REDDING-LALLINGER & KNOLL, 2006).

#### **1.4.2 – Fatores moduladores da doença falciforme**

As manifestações clínicas observadas na doença falciforme podem ser influenciadas por diversos fatores, sendo que níveis elevados de HbF têm sido considerados importantes para a evolução clínica menos grave, fato que tem levado a aplicação de terapias que visam o aumento da Hb F. Costa (2004) demonstraram que existe associação entre níveis aumentados de Hb F e diminuição nas crises álgicas, necessidades de transfusões sanguíneas e internações. Algumas terapias utilizam agentes citotóxicos (hidroxiuréia e 5-azacitidina); fatores de crescimento hematopoético

(eritropoetina) e ácidos graxos de cadeia curta (butirato e derivados), uma vez que podem estimular a síntese de HbF (CHARACHE *et al.*, 1995; STEINBERG & RODGERS, 2001; STUART & NAGEL, 2004).

Os haplótipos ligados grupo de genes da globina  $\beta^S$  também têm sido descrito por exercerem influência no curso clínico dos pacientes com anemia falciforme. O haplótipo Ben está associado a níveis intermediários de HbF e gravidade moderada da doença; o CAR a níveis diminuídos de HbF e quadro clínico mais grave, o Sen e Saudi a níveis elevados de HbF e curso clínico menos grave da doença (NAGEL, 1984; POWARS, 1991; RAHGOZAR *et al.*, 2000). No Brasil, os haplótipos ligados a gene da globina  $\beta^S$  possuem distribuição heterogênea, havendo vários estudos relacionados ao tema (ANTONARAKIS *et al.*, 1984; ZAGO *et al.*, 1992; COSTA *et al.*, 1994; GONÇALVES, 1994; ADORNO *et al.*, 2005; LYRA *et al.*, 2005).

Estudos recentes têm sugerindo possíveis candidatos a fatores moduladores da clínica na doença falciforme. Esses novos candidatos são os mediadores inflamatórios, o stress oxidativo, o óxido nítrico (NO), a vaso-regulação, a interação célula-célula, a coagulação sanguínea, fatores de crescimento, citocinas, receptores e elementos transcricionais (STEINBERG, 2005).

Novos marcadores têm sido associados à modulação da gravidade clínica na DF e entre eles destacam-se os níveis séricos de desidrogenase láctica (LDH), comumente associada à hemólise (TAYLOR VI *et al.*, 2008) e mutações em genes como o da *mieloperoxidase* (MPO) que têm sido correlacionadas ao aumento da predisposição à infecções (COSTA *et al.*, 2005).

#### **1.4.2.1 - Hemoglobina fetal**

A Hb F é um dos moduladores mais conhecidos do quadro clínico na doença falciforme, sendo que níveis elevados da Hb F são associados a uma clínica menos grave com redução de transfusões, crises dolorosas, hospitalização e mortalidade em crianças e adultos. A formação de um híbrido ( $\alpha_2\beta_2\gamma$ ) com as cadeias polipeptídicas da Hb S é a maneira pela qual a Hb F atua inibindo a polimerização da Hb S (STUART & NAGEL, 2004). Diversas estratégias vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de elevar os níveis da Hb F, melhorando dessa maneira a qualidade de vida dos portadores de DF.

#### **1.4.2.2 - Leucócitos**

A importância da participação dos leucócitos na fisiopatologia da doença falciforme está cada vez mais clara, sendo a contagem elevada de leucócitos associada a uma gravidade maior da doença, STA e infartos cerebrais silenciosos (ASLAN & FREEMAN, 2007). Dados experimentais revelam o papel importante dos leucócitos nos eventos vaso-oclusivos da doença falciforme evidenciando a interação dos mesmos com os eritrócitos e endotélio vascular (TURHAN *et al.*, 2002).

As crises vaso-oclusivas recorrentes nos indivíduos com doença falciforme, assim como a isquemia tecidual, levam a resposta inflamatória constante, sendo que uma característica importante da inflamação é a migração dos leucócitos da circulação através do endotélio para as áreas onde houve o dano tecidual (HEBBEL *et al.*, 2004). O processo que envolve a migração dos leucócitos circulantes para o endotélio vascular é mediado por citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-8 e fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), secretadas por macrófagos presentes nos tecidos e que

estão elevadas em indivíduos com DF (FRANCIS & HAYWOOD, 1992; MICHAELS *et al.*, 1998; MAKIS *et al.*, 2000; AKOHOUE *et al.*, 2007).

As alterações no sistema imune que envolvem deficiências na via alternativa do complemento, bem como alterações na função de leucócitos podem contribuir para a ocorrência de infecções freqüentemente descritas nesses pacientes (WANG & LUKENS, 1999; COSTA, 2001; OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001).

### 1.5 – MIELOPEROXIDASE

A mieloperoxidase (MPO) é uma enzima lisossomal presente em neutrófilos e monócitos e tem papel importante no sistema de defesa do organismo, atribuído principalmente a presença de atividade microbicida elevada (COSTA *et al.*, 2005). A deficiência da MPO está associada à ocorrência elevada de processos inflamatórios crônicos e graves (LONDON, 1997). O polimorfismo G -463A é caracterizado pela substituição de guanina por adenina na posição - 463 na região promotora do gene da *MPO* e foi demonstrada a redução significativa na transcrição gênica da *MPO* quando associada a esse polimorfismo.

As infecções estão entre as causas mais comuns de internação entre pacientes com anemia falciforme, com destaque para as pneumonias, infecções urinárias, infecções do trato respiratório superior, osteomielite e septicemia (PLATT *et al.*, 1994). COSTA e col. (2005) relataram associação entre o polimorfismo G-463A no gene da *MPO* e a história de uma ou mais infecções bacterianas graves, sugerindo que o alelo G-463A pode estar associado à susceptibilidade elevada a infecções em indivíduos com anemia falciforme.

## 1.6 – METABOLISMO DOS LIPÍDIOS

Alterações no metabolismo dos lipídios, como hiperlipidemia, hipertensão e obesidade têm sido associadas ao aumento do estresse oxidativo e da produção de radicais livres de oxigênio (KUMAR *et al.*, 2008). Uma vez que indivíduos com doença falciforme têm um aumento no estresse oxidativo e uma maior produção de radicais livres, espera-se que nesses indivíduos ocorra um aumento do dano à membrana eritrocitária (KUYPERS, 2007).

A lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a lipoproteína de alta densidade (HDL) exercem funções importantes no metabolismo do colesterol. A HDL é uma lipoproteína aceptora no processo de transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos ao fígado, sendo eliminada pela via biliar (DUONG *et al.*, 2006). Outra função importante do colesterol HDL é a atividade anti-aterogênica marcante, além de atuar inibindo a quimiotaxia de monócitos, a adesão leucocitária ao endotélio, a ativação do complemento, apresentando por essas e outras funções características antiinflamatórias, antioxidante, anticoagulante e pró-fibrinolítica. O colesterol HDL exerce papel importante também no endotélio vascular, interferindo na interação entre monócitos e moléculas de adesão expressas pelo endotélio, como a VCAM-1, ICAM-1 e Selectina-E (NOFER *et al.*, 2002).

TAYLOR & BAMGBOYE (1979) relacionaram a presença da doença falciforme com níveis diminuídos de colesterol tanto em homens, quanto em mulheres. RAHIMI e col. (2006) investigaram os níveis de colesterol total, colesterol HDL, triglicerídeos e colesterol LDL em indivíduos com doença falciforme associando o estresse hemolítico a redução dos níveis plasmáticos de lipídios em portadores de AF quando comparados a indivíduos de um grupo controle.

## 1.7 - URÉIA E CREATININA

A uréia é produzida no fígado ou é resultante da quebra de bases nitrogenadas pirimidínicas e a sua concentração na urina reflete o metabolismo protéico do organismo, sendo que possibilita a avaliação de alterações precoces na função renal. A creatinina, por sua vez, é resultante do metabolismo muscular e a quantidade de creatinina que um indivíduo excreta por dia é constante e diretamente proporcional a massa muscular, razão pela qual a sua avaliação possibilita medir o índice de filtração glomerular. A concentração sérica da creatinina aumenta na medida em que se reduz a taxa de filtração glomerular (KOOLMAN & ROEHM, 2005).

O processo de falcização dos eritrócitos em várias partes do organismo dos indivíduos com DF pode levar a processos isquêmicos agudos ou crônicos e conseqüentemente a uma lesão progressiva do órgão. A hematúria, proteinúria, necrose papilar renal e perda da função renal são observados em pacientes com DF (ALEEM, 2008).

## 1.8 - ENZIMAS HEPÁTICAS

As enzimas hepáticas, embora não sejam órgão específicas, estão freqüentemente aumentadas na presença de dano hepático. Alterações hepáticas são observadas na DF, principalmente em indivíduos com AF e podem ser agudas ou crônicas. Alterações vasculares secundárias à falcização podem levar a alterações hepáticas secundárias (TRAINA & SAAD, 2007).

KOLITA e colaboradores (2005), em estudo realizado em indivíduos com DF em estado estável observaram a elevação mínima das transaminases, independente de gênero ou idade.

### 1.9 - BILIRRUBINA TOTAL E FRAÇÕES E PROTEÍNAS TOTAIS E FRAÇÕES

Milhares de eritrócitos senis são destruídos, por hora, no organismo humano e este processo se inicia no sistema monocítico fagocitário do fígado, baço e medula óssea. A degradação da hemoglobina leva a liberação da parte protéica (globina) e do grupo prostético heme. O processo de degradação do heme leva, através de uma série de reações de oxi-redução, a produção de bilirrubina. O aumento do nível de bilirrubina pode ser decorrente do aumento da degradação dos eritrócitos (hemólise) e dano hepatocelular (KOOLMAN & ROEHM, 2005).

As proteínas plasmáticas constituem a parte mais importante dos constituintes solúveis do sangue, sendo a albumina a mais freqüente destas proteínas, com papel na manutenção da osmolalidade e transporte de uma série de substâncias como bilirrubinas, vitaminas, hormônios esteróides e algumas drogas. As globulinas por sua vez são divididas em  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  e participam do transporte de lipídios, hormônios, vitaminas e íons metálicos. As proteínas plasmáticas, em sua grande maioria, apresentam produção hepática. Doenças que levam a um dano nos órgãos envolvidos na síntese de proteínas podem levar a alterações nas concentrações séricas das mesmas (KOOLMAN & ROEHM, 2005).

### 1.10 - DESIDROGENASE LÁTICA (LDH)

A forma ativa da LDH é tetramérica, sendo cada cadeia formada por 334 aminoácidos. Existem dois tipos diferentes de subunidades – M e H - da LDH e essas subunidades se associam formando cinco tipos de isoenzimas que são encontradas no organismo. Quando órgãos são lesados, enzimas intracelulares são liberadas no sangue e a avaliação das isoenzimas e das dosagens das mesmas possibilitam identificar a origem da lesão, sendo que o fígado e os músculos esqueléticos produzem subunidades M da LDH, enquanto que o cérebro e o músculo cardíaco produzem subunidade H (KOOLMAN & ROEHM, 2005).

Níveis elevados de LDH têm sido associados á hipertensão pulmonar que é uma das complicações grave da doença falciforme e de outras anemias hemolíticas adquiridas ou hereditárias, sendo também considerado marcador de hemólise intravascular (KATO *et al.*, 2006).

## 2. JUSTIFICATIVA

A Organização Mundial de Saúde (OMS, 2008) estima que aproximadamente 5,2 % da população mundial é composta por portadores de hemoglobinas variantes, sendo a Hb S a mais comum entre elas. No Brasil, aproximadamente 2 milhões de indivíduos são portadores de hemoglobina S, sendo 8.000 portadores de anemia falciforme, estimando-se 700 a 1000 casos novos por ano (BRASIL, 2002). A doença falciforme apresenta prevalência elevada na Bahia onde nasce um portador de doença falciforme a cada 645 partos (SILVA *et al.*, 2006).

A variabilidade fenotípica da doença falciforme vem sendo associada à presença de fatores moduladores da clínica como os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina  $\beta^S$  e os níveis de HbF (NAGEL & STEINBERG, 2001). Novas moléculas vêm sendo investigadas como possíveis moduladores clínicos da DF, entre elas destaca-se a LDH que é associada a um quadro de hiper-hemólise, complicações vasculares e mortalidade em indivíduos com AF (TAYLOR VI *et al.*, 2008).

O colesterol HDL desempenha diversas funções, estando envolvido com o transporte reverso do colesterol e apresentando características antiaterogênicas, antiagregantes, antiinflamatória e atua inibindo a quimiotaxia e a adesão de leucócitos ao endotélio vascular (NOFER *et al.*, 2002).

Desta maneira, a investigação de biomarcadores em indivíduos com DF visa o encontro de moléculas que possam estar associadas à modulação do quadro clínico desses indivíduos e que forneçam bases novas para o acompanhamento e o entendimento da diversidade clínica da doença.

Assim, o presente estudo poderá trazer dados relevantes sobre a caracterização bioquímica da população estudada, adicionando informações úteis ao acompanhamento

de indivíduos com doença falciforme. Ressaltamos também que a investigação desses biomarcadores pode direcionar o entendimento da fisiopatologia de certas manifestações clínicas importantes na DF, como as crises vaso-oclusivas, o processo inflamatório crônico e as alterações cardíacas.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

- Investigar biomarcadores que possam estar relacionados com a modulação do quadro clínico em pacientes pediátricos com doença falciforme.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Investigar moduladores clássicos da doença falciforme como hemoglobina fetal, leucócitos e reticulócitos e verificar possíveis associações com achados laboratoriais;
- Avaliar marcadores de função hepática e associá-los a possíveis alterações no processo de vaso-oclusão e inflamação;
- Avaliar marcadores de função renal em indivíduos com doença falciforme;
- Avaliar marcadores relacionados com hemólise (bilirrubina total e frações e LDH) e verificar possíveis associações com o curso clínico da doença;
- Avaliar o perfil lipídico de portadores de doença falciforme em idade pediátrica buscando encontrar biomarcadores que auxiliem no prognóstico da doença;
- Avaliar marcadores inflamatórios e infecciosos (PCRe, A1AT e ASLO) e investigar associações aos achados clínicos e laboratoriais;
- Investigar a frequência da mutação -463G da *MPO* nos indivíduos com doença falciforme, correlacionando a sua presença aos dados hematológicos, bioquímicos e clínicos.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

A figura abaixo se refere à representação esquemática do delineamento do desenho do estudo.

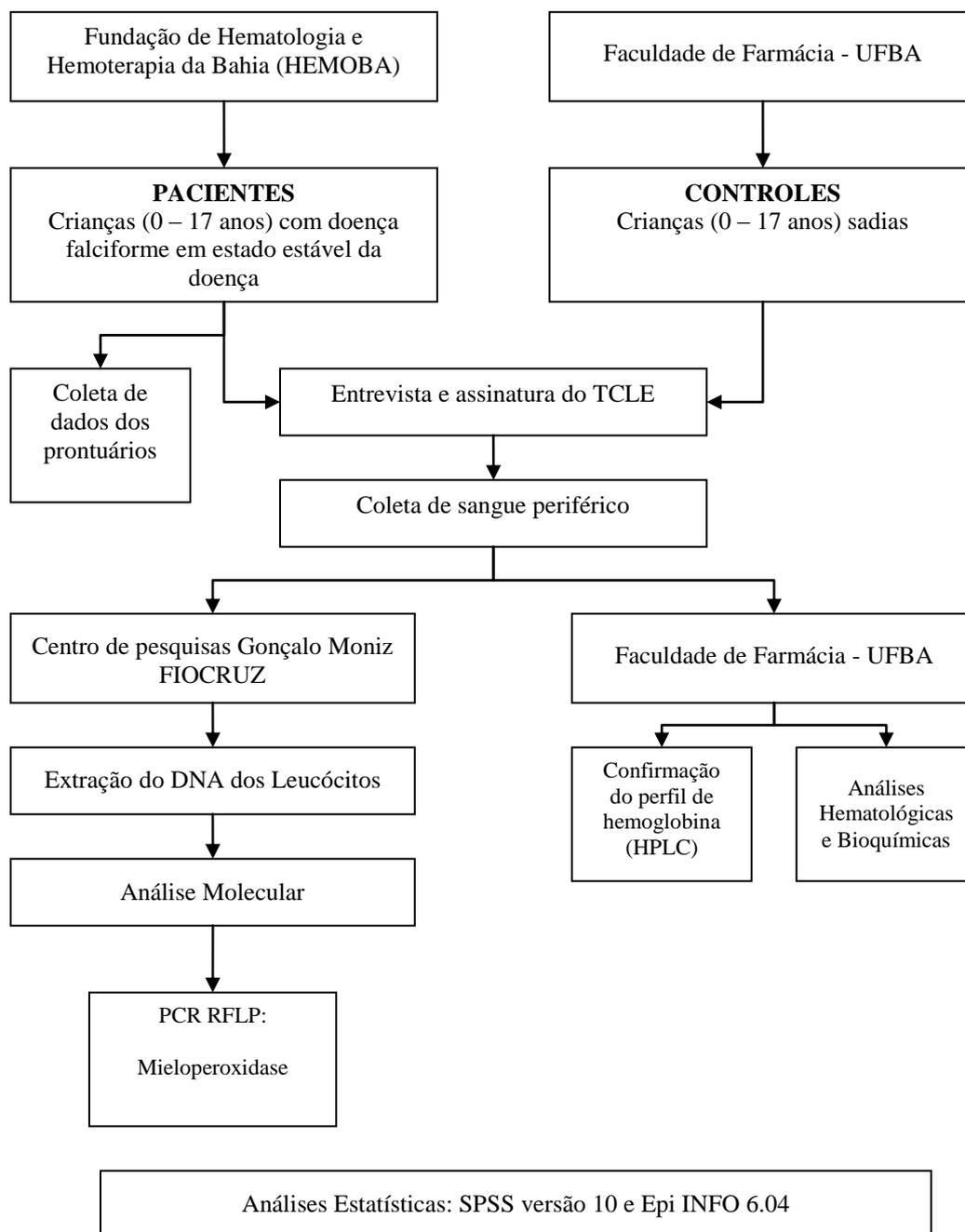


Figura 04 – Representação esquemática do delineamento do desenho do estudo.

#### 4.1 - CASUÍSTICA

O presente trabalho consistiu em um estudo de corte transversal, composto por uma casuística de 152 indivíduos com doença falciforme. Foi também realizado um estudo caso-controle, visando avaliar características bioquímicas e hematológicas dos pacientes frente a indivíduos normais. O grupo controle foi formado por 132 indivíduos saudáveis pareados por idade, mantendo-se um desvio padrão de  $\pm 4$  anos.

Os pacientes encontravam-se em estado estável da doença, e sendo acompanhados regularmente no ambulatório de Hematologia da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA/SESAB. O estudo foi desenvolvido durante o período de março a dezembro de 2007, sendo que responsáveis legais concordaram com a participação dos menores através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – apêndice I). Foram excluídos do estudo indivíduos cujo perfil de hemoglobinas não foi confirmado, nos casos de recusa por parte do responsável em assinar o TCLE e, quando havia infecção pelos vírus HTLV 1 e 2, hepatite B e C e HIV.

Os indivíduos saudáveis que constituíram o grupo controle foram selecionados no Laboratório de Análises Clínicas (LAC) /Faculdade de Farmácia (FAR) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) no período de abril a setembro de 2008, cuja ida ao laboratório tinha como objetivo a avaliação de rotina. Neste grupo foram incluídos 132 indivíduos saudáveis com perfil de hemoglobina AA, com autorização do responsável legal através da assinatura do TCLE.

As amostras de sangue coletadas foram encaminhadas para o LAC-FAR onde foram realizadas as determinações hematológicas e bioquímicas e para o Laboratório de Pesquisa em anemias (LPA) para a confirmação do perfil de hemoglobinas. O sangue

foi processado e encaminhado ao laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM) /Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) – FIOCRUZ – Bahia onde foram realizadas as análises moleculares.

Foi utilizada a calculadora estatística (ESTATCAL) do EPI INFO versão 6.04 para obter o número mínimo de indivíduos necessários para a investigação do polimorfismo G453A da MPO, com intervalo de confiança (IC) de 95% e poder de associação de 90%. O cálculo revelou que o estudo seria consistente se a investigação fosse realizada em 86 portadores de anemia falciforme, sendo este número calculado com base na frequência dos polimorfismos já descritos em literatura.

#### 4.2 - COLETA DAS AMOSTRAS DE SANGUE.

Foram coletados 5 mL de sangue venoso em anticoagulante (EDTA – ácido etileno de aminotetrácetico di-sódico), na concentração de 1,5 mg/mL (DACIE & LEWIS, 1984) para as determinações hematológicas e de perfil de hemoglobinas. Também foram coletados 5 mL de sangue venoso sem aditivos para a obtenção do soro destinado as análises bioquímicas. No momento da coleta do sangue foram confeccionadas três lâminas de esfregaço sanguíneo para a análise morfológica das células sanguíneas.

#### 4.3- ANÁLISES HEMATOLÓGICAS E DE HEMOGLOBINAS

As determinações hematológicas foram realizadas pelo método automatizado utilizando o ABX Pentra 80 (HORIBA DIAGNOSTICS, Montpellier, FR), além da avaliação morfológica do esfregaço sanguíneo corados com Wright. A contagem de

reticulócitos foi realizada pelo método indireto, utilizando o corante supravital azul de cresil brilhante (DACIE & LEWIS, 1984).

O perfil de hemoglobinas foi confirmado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) no equipamento automatizado Bio-Rad VARIANT I (BIO-RAD, CA, USA).

#### 4.4 - ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As análises bioquímicas incluíram a determinação do perfil lipídico (colesterol total e frações e triglicerídeos), dosagem de proteínas totais e frações, bilirrubinas totais e frações, desidrogenase láctica (LDH), transaminases (ALT e AST), perfil renal (uréia e creatinina) e ferro, sendo estas realizadas pelo método automatizado utilizando o A25 (BIOSYSTEMS SA, Barcelona, Spain). A dosagem de ferritina foi realizada no Access 2 (BECKMAN COULTER Inc, CA, USA) e as determinações de proteína C reativa, alfa 1 antitripsina, e Antiestreptolisina O (ASLO) foram realizadas no Image (BECKMAN COULTER Inc, CA, USA).

#### 4.5 - ANÁLISE MOLECULAR

O DNA genômico foi extraído em 200 µl de sangue periférico, utilizando-se o Kit *GFX<sup>TM</sup> Genomic Blood DNA Purification KIT* (Amersham Pharmacia Biotech), seguindo-se as recomendações do fabricante. A concentração do DNA foi avaliada utilizando o NanoDrop ND-1000 (ISOGEN LIFE SCIENCE, De Meem, The Netherlands).

A análise molecular foi realizada pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR), através do estudo do DNA extraído de leucócitos utilizando-se seqüência de oligonucleotídeos sintéticos (*primers*) específicos para os genes a serem estudados.

#### **4.5.1 - Determinação da mutação – 463 G no gene da Mieloperoxidase (MPO)**

A pesquisa do polimorfismo -463G no gene da *MPO* foi realizada pela técnica de PCR RFLP e corte com a enzima de restrição *Aci I*. A análise dos fragmentos foi realizada através de corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, com as amostras coradas pelo azul de bromofenol/xilenocianol/sacarose (0,25%/0,25%/40%) em tampão TAE 1X (Tris–Acetato 0,04M, EDTA 0,001M). O gel foi corado pelo brometo de etídio (0,002%) e visualizado sob luz ultra-violeta.

#### **4.6 - DADOS CLÍNICOS**

Os dados clínicos foram coletados através de questionário (apêndice II) aplicados ao responsável pelo menor, sendo estes referentes a características demográficas do indivíduo (idade e gênero), informações sociais (número de irmãos, escolaridade, parentes e amigos que mantêm contato) e informações referentes à saúde (diagnóstico de doença falciforme, internações, calendário vacinal, cirurgias, etc). Informações adicionais referentes a história clínica dos pacientes foram obtidas dos prontuários de acompanhamento no ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOBA.

#### 4.7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise de normalidade da distribuição das variáveis foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir desta informação foram utilizados os testes paramétrico ANOVA ou não-paramétrico de Kruskal-Wallis, sendo os resultados confirmados pelo pós-teste de Bonferroni.

A análise de variáveis qualitativas ou categóricas de três ou mais grupos foi realizada pelo teste não paramétrico do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), devidamente corrigido pelos testes de Mantel-Haenszel e Yates. Na análise de valores inferiores a 4, as análises foram realizadas pelo teste exato de Fisher. Os intervalos de confiança em 95% e a razão de prevalência foram calculados para essas variáveis. As análises de correlação serão realizadas utilizando os coeficientes de Pearson's para os dados de distribuição contínua e os coeficientes de Kendall's tau-b e Spearman para os dados categorizados.

Os testes de Mann-Whitney teste T independente foram utilizados para a análise de duas variáveis numéricas, na comparação de dois grupos de valores dentro de uma mesma variável, levando-se em consideração a distribuição de cada variável. As análises multivariadas foram realizadas tendo como base os valores do teste F avaliando os níveis de confiança para os testes de Pillai's Trace, Wilkis' Lambda, Hotelling's Trce e Roy's Largest Root, após a criação de modelos apresentando variáveis dependentes associadas a clínica dos pacientes e variáveis independentes caracterizadas como fatores de risco, estabelecidas por um processo de criação de variáveis categóricas múltiplas. A análise de regressão linear foi realizada tendo como base o valor de F e os níveis de significância para o teste de hipóteses nulas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas EPI INFO versão 6.04, SPSS versão 10.0 e o GraphPad. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos para as análises realizadas.

## 5. RESULTADOS

Foram investigados 152 indivíduos com doença falciforme com idade de 0-17 anos e média 9,2 ( $\pm$  4,0) anos, sendo 82 (53,9%) do sexo masculino e 70 (46,1%) do feminino. A investigação do perfil de hemoglobinas para esse grupo revelou que 103/152 (67,80%) pacientes apresentavam o perfil SS, 48/152 (31,50%) o SC e 01 (0,70%) o SD. Perguntados sobre a idade do diagnóstico da doença falciforme, 70/122 (58,2%) responsáveis afirmaram que o diagnóstico da criança foi realizado entre 06 meses e 4 anos, em 30/122 (24,2%) o diagnóstico foi realizado antes dos 06 meses de vida; em 19 (15,6%) entre cinco e nove anos e 02 (1,6%) entre 10 e 14 anos.

O grupo controle foi composto por 132 indivíduos pareados por idade com os pacientes, idade média de 8,7 ( $\pm$ 3,2) anos, sendo 68 (51,5%) do sexo masculino e 64 (48,5%) do feminino. Todos os indivíduos do grupo controle tiveram o perfil de hemoglobinas AA confirmados por HPLC.

Os dados hematológicos, bioquímicos e o perfil de hemoglobinas dos pacientes e controles são mostrados na tabela 01. Quando comparados aos controles, os pacientes apresentaram valores hematológicos (Hm, Hb, Ht) diminuídos, sendo a diferença estatisticamente significativa. A média de leucócitos e plaquetas e os níveis de ferritina e ferro sérico foram maiores nos pacientes.

A avaliação do perfil lipídico dos indivíduos com doença falciforme demonstrou níveis de colesterol total, HDL-c e LDL-c menores que no grupo controle; o VLDL-c por sua vez encontrava-se mais elevados nos pacientes. O nível médio de triglicérides nos pacientes foi de 102,07 ( $\pm$  46,86), enquanto que nos controles a média foi de 88,31 ( $\pm$  51,73) ( $p=0,002$ ).

A avaliação das transaminases hepáticas revelou que os pacientes apresentaram níveis mais elevados de ALT quando comparados aos controles ( $p=0,000$ ). Os pacientes com doença falciforme apresentaram níveis mais elevados de bilirrubina total e frações, sendo essa diferença estatisticamente significativa ( $p<0,05$ ). Os níveis de LDH e A1AT foram significativamente maiores nos pacientes ( $p=0,000$  e  $p=0,013$ , respectivamente).

Não foram observadas diferenças entre os níveis séricos de proteínas totais e frações e contagem de segmentados, entre os grupos.

### 5.1 – CARACTERÍSTICAS DOS PACIENTES E CONTROLES.

A tabela 01 apresenta a caracterização do pacientes e controles quanto à idade, gênero, perfil de hemoglobinas, determinações hematológicas e bioquímicas comparando-os entre si.

**Tabela 01** – Características clínicas e laboratoriais dos pacientes com DF e controles.

Características	Pacientes		Controles		p**
	N	Média ± Desvio-padrão	N	Média ± Desvio-padrão	
<b>Idade</b> (anos)	152	9,2 ± 4,0	132	8,7 ± 3,2	---
<b>Sexo</b>					
Masculino	82	53,9*	68	51,5*	---
Feminino	70	46,1*	64	48,5*	---
<b>Hemoglobinas</b>					
AA	--	---	132	100,0*	---
SS	103	67,8*	--	---	---
SC	48	31,5*	--	---	---
SD	01	0,7*	--	---	---
<b>Hemoglobina, %</b>					
Fetal	152	7,51 ± 6,20	132	0,47 ± 0,46	<b>0,000</b>
<b>Hemólise</b>					
Hemácias, milhões/mL	152	3,24 ± 0,97	131	4,74 ± 0,39	<b>0,000</b>
Hemoglobina, g/dL	152	8,93 ± 2,01	131	12,83 ± 1,03	<b>0,000</b>
Hematócrito, %	152	27,65 ± 6,20	131	38,47 ± 2,78	<b>0,000</b>
VCM, fL	152	87,44 ± 10,85	131	81,37 ± 5,16	<b>0,000</b>
HCM, pg	152	28,29 ± 3,73	131	27,14 ± 1,95	<b>0,007</b>
Reticulócitos, %	140	7,61 ± 4,88	122	0,846 ± 0,256	<b>0,000</b>
LDH, U/L	151	858,22 ± 503,81	119	406,27 ± 132,03	<b>0,000</b>
<b>Leucócitos</b>					
Leucócitos, /mL	152	13068,42 ± 5776,49	131	7027,48 ± 2179,49	<b>0,000</b>
Segmentados, %	152	46,22 ± 12,43	131	44,90 ± 11,98	0,143
Monócitos, %	152	6,10 ± 1,87	131	7,04 ± 1,74	<b>0,000</b>
<b>Plaquetas</b>					
Plaquetas/mm <sup>3</sup>	152	403,93 ± 158,66	131	308,21 ± 67,35	<b>0,000</b>
<b>Metabolismo lipídico</b>					
Colesterol Total, mg/dL	151	121,12 ± 26,16	124	164,08 ± 34,55	<b>0,000</b>
Colesterol HDL, mg/dL	151	35,65 ± 12,34	123	48,90 ± 13,67	<b>0,000</b>
Colesterol LDL, mg/dL	151	64,95 ± 22,19	123	97,41 ± 33,54	<b>0,000</b>
Colesterol VLDL, mg/dL	151	20,44 ± 9,38	123	17,75 ± 10,37	<b>0,000</b>
Triglicérides, mg/dL	150	102,07 ± 46,86	123	88,31 ± 51,73	<b>0,002</b>
<b>Hemólise e comprometimento hepático</b>					
AST, U/L	152	48,05 ± 24,92	122	30,28 ± 11,13	<b>0,000</b>
Bilirrubina total, mg/dL	151	2,73 ± 1,76	118	0,49 ± 0,21	<b>0,000</b>
Bilirrubina direta, mg/dL	151	0,66 ± 0,46	118	0,250 ± 0,082	<b>0,000</b>
Bilirrubina indireta, mg/dL	151	2,08 ± 1,59	118	0,244 ± 0,182	<b>0,000</b>
<b>Hepático</b>					
ALT, U/L	152	28,25 ± 21,34	121	17,36 ± 7,10	<b>0,000</b>
Proteínas totais, g/dL	151	7,33 ± 0,848	119	7,31 ± 0,62	0,695
Albumina, g/dL	151	4,07 ± 0,675	119	4,24 ± 0,49	0,249
Globulina, g/dL	151	3,26 ± 0,781	119	3,06 ± 0,63	0,109
<b>Renal</b>					
Uréia, mg/dL	150	17,73 ± 6,41	120	21,65 ± 5,92	<b>0,000</b>
Creatinina, mg/dL	151	0,51 ± 0,50	120	0,523 ± 0,185	0,708
<b>Inflamação</b>					
Ferro sérico, mcg/dL	126	123,40 ± 119,94	119	73,73 ± 42,41	<b>0,000</b>
Ferritina, ng/mL	152	313,32 ± 361,44	117	37,29 ± 28,28	<b>0,000</b>
Proteína C reativa, mg/L	151	7,08 ± 11,97	130	4,37 ± 20,22	<b>0,000</b>
A1AT, mg/dL	151	152,50 ± 46,18	129	137,48 ± 43,36	<b>0,013</b>

\* porcentagem \*\*teste de Mann-Whitney

## 5.2 – DADOS CLÍNICOS

A internação foi observada em 117/144 (81,3%) pacientes, sendo a média de internamento de 1,3 ( $\pm 0,8$ ). As infecções respiratórias estavam presentes em 66/119 (55,5%), a pneumonia foi relatada em 77/144 (53,5%) pacientes, sendo que mais de 50% deles referiram ao menos duas pneumonias; dos pacientes que relataram pneumonia 68/144 (47,2%) faziam uso profilático de penicilinas.

A esplenomegalia foi relatada em 21/144 (14,7%); a esplenectomia total foi uma alteração relatada em 8/144 (5,6%). As crises vaso-oclusivas dolorosas foram historiadas em 119/144 (82,1%) pacientes e o AVC em 8/144 (5,6%), sendo que destes, cinco apresentavam seqüelas. Outros achados foram a retinopatia em 2/144 (1,4%), priaprismo em 5/75 (6,7%), úlcera maleolar em 4/144 (2,8%), STA em 12/144 (8,3%) e alterações ósseas em 9/143 (6,3%). As alterações cardíacas foram referidas em 50/144 (34,7%) pacientes e litíase biliar em 8/144 (5,6%).

Entre os eventos clínicos observados no grupo de pacientes, os mais comuns foram as crises vaso-oclusivas em 119/145 (82,1%), crises dolorosas em 116/145 (80%) e pneumonia em 77/144 (53,5%) pacientes.

## 5.3 – HEMOGLOBINA FETAL, RETICULÓCITOS E LEUCÓCITOS

A tabela 02 correlaciona moduladores clássicos, tais como níveis de HbF e contagem de reticulócitos e leucócitos e dados hematológicos, bioquímicos e percentagens de hemoglobinas S e fetal nos pacientes com DF.

A concentração de HbF apresentou uma correlação negativa quando associada a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito e contagem de segmentados neutrófilos ( $p < 0,05$ ). A associação foi direta quando associada a

concentração de Hb F com VCM, HCM, contagem de reticulócitos e níveis séricos de LDH. Não houve associação com diferença estatística com as demais determinações bioquímicas, conforme a tabela 2.

A contagem de reticulócitos apresentou associação inversa com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL. Observou-se uma correlação positiva entre a contagem de reticulócitos e os índices hematimétricos (VCM e HCM), LDH, concentração de Hb S e Hb F, contagem de leucócitos, monócitos e de plaquetas, bilirrubinas totais e frações, PCRe e A1AT. Não foram observadas correlações estatisticamente significativas entre contagem de reticulócitos e transaminases (ALT e AST), contagem de segmentados neutrófilos, marcadores de alteração renal (uréia e creatinina) e metabolismo de lipídios, exceto para o colesterol HDL ( $p=0,046$ ).

O valor absoluto de leucócitos apresentou correlação inversa com contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobinas, hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL, sendo essa diferença estatisticamente significativa. Os leucócitos correlacionaram-se de maneira direta com VCM, contagem de reticulócitos, LDH, concentração de Hb S e Hb F, contagem de segmentados neutrófilos, monócitos e de plaquetas, níveis séricos de AST, bilirrubinas totais e frações, PCRe e A1AT. Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre a contagem de leucócitos e a concentração de HCM, níveis séricos de ALT, uréia, creatinina, colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicerídeos.

**Tabela 2** - Dados laboratoriais associados com biomarcadores clássicos na doença falciforme.

	Hemoglobina Fetal, %		Reticulócitos, %		Leucócitos, /mL	
	<i>r</i> *	<i>p</i> **	<i>r</i> *	<i>p</i> **	<i>r</i> *	<i>p</i> **
<b>Hemólise</b>						
Hemácias, milhões/mL	-0,451	<b>0,000</b>	-0,499	<b>0,000</b>	-0,510	<b>0,000</b>
Hemoglobina, g/dL	-0,436	<b>0,000</b>	-0,484♣	<b>0,000</b>	-0,454♣	<b>0,000</b>
Hematócrito, %	-0,405	<b>0,000</b>	-0,479	<b>0,000</b>	-0,504	<b>0,000</b>
VCM, fL	0,248	<b>0,015</b>	0,322♣	<b>0,000</b>	0,194♣	<b>0,017</b>
HCM, pg	0,223	<b>0,029</b>	0,297♣	<b>0,000</b>	0,155♣	0,056
Reticulócitos, %	0,228	<b>0,030</b>	----	----	0,386♣	<b>0,000</b>
<b>Hemoglobinas</b>						
Hemoglobina S, %	0,132	0,202	0,526	<b>0,000</b>	0,467	<b>0,000</b>
Hemoglobina Fetal, %	----	-----	0,228	<b>0,030</b>	0,346	<b>0,001</b>
<b>Leucócitos</b>						
Leucócitos, /mL	0,346	<b>0,001</b>	0,386♣	<b>0,000</b>	----	----
Segmentados, %	-0,212	<b>0,038</b>	-0,069♣	0,418	0,171♣	<b>0,035</b>
Monócitos, %	0,087	0,397	0,168	<b>0,047</b>	0,202	<b>0,013</b>
<b>Plaquetas</b>						
Plaquetas, mil/mm <sup>3</sup>	0,434	<b>0,000</b>	0,226♣	<b>0,007</b>	0,291♣	<b>0,000</b>
<b>Hemólise e comprometimento hepático</b>						
LDH, U/L	0,313	<b>0,002</b>	0,446	<b>0,000</b>	0,314	<b>0,000</b>
AST, U/L	0,155	0,131	0,067♣	0,432	0,209♣	<b>0,010</b>
Bilirrubina total, mg/dL	0,144	0,163	0,338♣	<b>0,000</b>	0,190♣	<b>0,020</b>
Bilirrubina direta, mg/dL	0,126	0,220	0,187	<b>0,028</b>	0,196	<b>0,016</b>
Bilirrubina indireta, mg/dL	0,155	0,132	0,419	<b>0,000</b>	0,377	<b>0,000</b>
<b>Hepático</b>						
ALT, U/L	-0,023	0,822	0,068	0,422	0,106	0,194
Proteínas totais, g/dL	-0,045	0,663	0,049♣	0,564	0,065♣	0,430
Albumina, g/dL	-0,032	0,754	-0,053	0,532	0,124	0,128
Globulina, g/dL	-0,018	0,862	0,095♣	0,265	0,039♣	0,633
Relação Albumina/Globulina	0,018	0,862	-0,083	0,332	0,024	0,774
<b>Renal</b>						
Uréia, mg/dL	-0,033	0,753	-0,036	0,674	-0,064	0,438
Creatinina, mg/dL	-0,081	0,431	-0,199	0,162	-0,132	0,107
<b>Metabolismo lipídico</b>						
Colesterol Total, mg/dL	0,098	0,340	-0,059♣	0,492	-0,016♣	0,849
Colesterol HDL, mg/dL	-0,048	0,644	-0,170♣	0,046	-0,198♣	<b>0,015</b>
Colesterol LDL, mg/dL	0,194	0,058	0,096♣	0,259	0,076♣	0,351
Colesterol VLDL, mg/dL	-0,020	0,844	0,083	0,331	0,084	0,305
Triglicérides, mg/dL	-0,042	0,685	0,082	0,339	0,081	0,225
<b>Inflamação</b>						
Ferritina, ng/mL	0,163	0,112	0,257	<b>0,002</b>	0,332	<b>0,000</b>
Ferro sérico, mcg/dL	0,213	0,059	0,300	<b>0,001</b>	0,238	<b>0,007</b>
Anti-estreptolisina O, UI/mL	-0,117	0,256	-0,041	0,632	0,021	0,798
Proteína C reativa, mg/L	0,068	0,510	0,260	<b>0,002</b>	0,436	<b>0,000</b>
A1AT, mg/dL	0,021	0,840	0,192	<b>0,024</b>	0,293♣	<b>0,000</b>

Coeficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*) e valor de *p* (*p*)♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson

#### 5.4 – DADOS BIOQUÍMICOS E NÍVEIS DE COLESTEROL HDL, TRIGLICERÍDEOS E LDH

A análise dos dados revela correlação positiva com diferença estatística entre níveis de LDH e concentração de HCM, VCM, contagem de leucócitos, segmentados neutrófilos, plaquetas e reticulócitos, concentração de Hb S e Hb F, níveis séricos de AST, bilirrubina total e frações, globulina, colesterol VLDL e triglicerídeos, ferro sérico e A1AT. A LDH correlacionou-se inversamente com o número de eritrócitos, concentração de hemoglobina, o hematócrito, contagem de segmentados neutrófilos, níveis séricos de uréia, colesterol HDL ( $p < 0,001$ ) e a ASLO. Não houve associação significativa entre níveis séricos de LDH e contagem de monócitos, níveis séricos de ALT, proteínas totais e frações, creatinina, colesterol total e LDL, ferritina e PCRe.

Os triglicerídeos correlacionaram-se negativamente com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina, hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL. Um associação positiva foi observada entre os níveis séricos de triglicerídeos e concentração de Hb S, contagem de plaquetas, níveis séricos de AST, bilirrubinas total e direta, proteínas totais, colesterol total e VLDL. As demais determinações bioquímicas não apresentaram correlação significativa com os triglicerídeos.

O colesterol HDL foi positivamente correlacionado a contagem de eritrócitos, a concentração de hemoglobina e hematócrito, níveis séricos de uréia e colesterol total, com significância estatística ( $p < 0,05$ ). A correlação inversa foi observada entre o nível sérico de colesterol HDL e concentração de VCM e HCM, contagem de reticulócitos, leucócitos, monócitos e plaquetas, concentração de Hb S, níveis séricos de LDH, AST, bilirrubina total e frações, ALT, colesterol VLDL, triglicerídeos, ferro sérico e A1AT, sendo essas associações estatisticamente significativas, conforme mostra a tabela 03. O colesterol HDL, não apresentou associação significativa com a concentração de HbF,

contagem de segmentados neutrófilos, níveis séricos de proteínas totais e frações, creatinina, colesterol LDL, ferritina, ASLO e PCRe.

A tabela 04 correlaciona níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL e colesterol VLDL com bio-marcadores associados à gravidade clínica de pacientes com doença falciforme.

O colesterol total demonstrou correlação positiva com níveis séricos de AST, proteínas totais, relação albumina/globulina e com colesterol HDL, LDL, VLDL e triglicérides. Uma associação inversa foi observada entre o nível sérico de colesterol total e a concentração de VCM ( $r=-0,165$  e  $p=0,043$ ). Não foram observadas diferenças significativas na correlação entre os níveis séricos de colesterol total e as demais determinações hematológicas e bioquímicas.

O colesterol LDL foi correlacionado positivamente com a concentração de HbS, contagem de plaquetas, níveis séricos de AST e colesterol total, não havendo qualquer outra correlação entre este e os demais biomarcadores.

A correlação negativa foi apresentada entre os níveis séricos de colesterol VLDL e contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito, contagem de segmentados neutrófilos, e níveis séricos de colesterol HDL. Uma associação positiva com significância estatística foi observada entre os níveis séricos de colesterol VLDL e concentração de Hb S, contagem de plaquetas, níveis séricos de LDH, AST, bilirrubina total, proteínas totais e ASLO. As demais determinações hematológicas e bioquímicas não apresentaram correlação significativa com os níveis séricos do colesterol VLDL.

**Tabela 3** - Dados laboratoriais associados ao biomarcador clássico (LDH) e colesterol HDL e Triglicerídeos na doença falciforme.

	Colesterol HDL, mg/dL		Desidrogenase lática, U/L		Triglicerídeos, mg/dL	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Hemólise</b>						
Hemácias, milhões/mL	0,328	<0,001	-0,501	<0,001	-0,190	<b>0,019</b>
Hemoglobina, g/dL	0,292♣	<0,001	-0,488	<0,001	-0,202	<b>0,013</b>
Hematócrito, %	0,309	<0,001	-0,487	<0,001	-0,189	<b>0,020</b>
VCM, fL	-0,273♣	<b>0,006</b>	0,273	<b>0,001</b>	0,126	0,125
HCM, pg	-0,284♣	<b>0,002</b>	0,300	<0,001	0,111	0,175
Reticulócitos, %	-0,170♣	<b>0,046</b>	0,446	<0,001	0,082	0,339
<b>Hemoglobinas</b>						
Hemoglobina S, %	-0,311	<b>0,002</b>	0,371	<0,001	0,286	<b>0,005</b>
Hemoglobina Fetal, %	-0,048	0,644	0,313	<b>0,002</b>	-0,685	0,685
<b>Leucócitos</b>						
Leucócitos, /mL	-0,198♣	<b>0,015</b>	0,314	<0,001	0,081	0,325
Segmentados, %	0,017♣	0,838	-0,162	<b>0,047</b>	-0,154	0,061
Monócitos, %	-0,234	<b>0,004</b>	0,126	0,123	0,139	0,089
<b>Plaquetas</b>						
Plaquetas, mil/mm <sup>3</sup>	-0,228♣	<b>0,005</b>	0,300	<0,001	0,233	<b>0,004</b>
<b>Hemólise e Comprometimento Hepático</b>						
LDH, U/L	-0,375	<0,001	----	----	0,167	<b>0,041</b>
AST, U/L	-0,235♣	<b>0,004</b>	0,297	<0,001	0,207	<b>0,011</b>
Bilirrubina total, mg/dL	-0,298♣	<0,001	0,475	<0,001	0,165	<b>0,044</b>
Bilirrubina direta, mg/dL	-0,471	<0,001	0,281	<0,001	0,035	0,669
Bilirrubina indireta, mg/dL	-0,287	<0,001	0,423	<0,001	0,140	0,088
<b>Hepático</b>						
ALT, U/L	-0,172	<b>0,035</b>	-0,014	0,867	0,075	0,364
Proteínas totais, g/dL	-0,021♣	0,793	0,081	0,321	0,274	<b>0,001</b>
Albumina, g/dL	0,102	0,213	-0,061	0,456	0,142	0,083
Globulina, g/dL	-0,124♣	0,129	0,177	<b>0,029</b>	0,133	0,104
Relação Albumina/Globulina	0,033	0,689	-0,104	0,204	-0,033	0,684
<b>Renal</b>						
Uréia, mg/dL	0,178	<b>0,030</b>	-0,259	<b>0,001</b>	0,020	0,806
Creatinina, mg/dL	0,118	0,152	-0,090	0,273	0,105	0,201
<b>Metabolismo lipídico</b>						
Colesterol Total, mg/dL	0,299♣	<0,001	-0,018	0,829	0,268	<b>0,001</b>
Colesterol HDL, mg/dL	----	----	-0,375	<0,001	-0,228	<b>0,005</b>
Colesterol LDL, mg/dL	-0,083♣	0,312	0,082	0,317	0,068	0,409
Colesterol VLDL, mg/dL	-0,242	<b>0,003</b>	0,174	<b>0,032</b>	0,998	<0,001
Triglicérides, mg/dL	-0,228	<b>0,005</b>	0,167	<b>0,041</b>	----	----
<b>Inflamação</b>						
Ferritina, ng/mL	-0,032	0,699	-0,081	0,325	0,102	0,220
Ferro sérico, mcg/dL	-0,186	<b>0,038</b>	0,207	<b>0,020</b>	0,159	0,076
Anti-estreptolisina O, UI/mL	-0,079	0,339	-0,174	<b>0,035</b>	0,157	0,058
Proteína C reativa, mg/L	0,048	0,563	-0,053	0,520	-0,031	0,714
Alfa 1 antitripsina, mg/dL	-0,327♣	<0,001	0,198	<b>0,016</b>	-0,074	0,378

Coeficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*) e valor de *p* (*p*)

♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson

**Tabela 4** - Dados laboratoriais associados com colesterol total, colesterol LDL e colesterol VLDL na doença falciforme.

	Colesterol Total, mg/dL		Colesterol LDL, mg/dL		Colesterol VLDL, mg/dL	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<b>Hemólise</b>						
Hemácias, milhões/mL	-0,010	0,904	-0,094	0,253	-0,190	<b>0,020</b>
Hemoglobina, g/dL	0,012♣	0,883	-0,093♣	0,255	-0,206	<b>0,011</b>
Hematócrito, %	-0,030	0,716	-0,103	0,210	-0,194	<b>0,017</b>
VCM, fL	-0,165♣	<b>0,043</b>	-0,036♣	0,657	0,125	0,159
HCM, pg	-0,147♣	0,072	-0,004♣	0,961	0,100	0,220
Reticulócitos, %	-0,059♣	0,492	0,096♣	0,259	0,083	0,331
<b>Hemoglobinas</b>						
Hemoglobina S, %	0,156	0,129	0,241	<b>0,018</b>	0,287	<b>0,005</b>
Hemoglobina Fetal, %	0,098	0,340	0,194	0,058	-0,020	0,844
<b>Leucócitos</b>						
Leucócitos, /mL	-0,016♣	0,849	0,076♣	0,351	0,084	0,305
Segmentados, %	-0,029♣	0,723	-0,028♣	0,735	-0,169	<b>0,038</b>
Monócitos, %	-0,004	0,966	0,136	0,151	0,147	0,072
<b>Plaquetas</b>						
Plaquetas, mil/mm <sup>3</sup>	0,083♣	0,311	0,205♣	<b>0,011</b>	0,244	<b>0,003</b>
<b>Hemólise e Comprometimento Hepático</b>						
LDH, U/L	-0,018	0,829	0,082	0,082	0,174	<b>0,032</b>
AST, U/L	0,177♣	<b>0,030</b>	0,240♣	<b>0,003</b>	0,207	<b>0,011</b>
Bilirrubina total, mg/dL	-0,142♣	0,081	0,073♣	0,371	0,170	<b>0,037</b>
Bilirrubina direta, mg/dL	-0,107	0,191	0,062	0,448	0,039	0,637
Bilirrubina indireta, mg/dL	-0,034	0,678	0,090	0,274	0,141	0,084
<b>Hepático</b>						
ALT, U/L	0,005	0,954	0,061	0,454	0,087	0,286
Proteínas totais, g/dL	0,171♣	<b>0,036</b>	0,114♣	0,164	0,276	<b>0,001</b>
Albumina, g/dL	0,196	<b>0,016</b>	0,085	0,299	0,139	0,089
Globulina, g/dL	0,095♣	0,265	-0,044♣	0,590	0,141	0,083
Relação Albumina / Globulina	0,174	<b>0,033</b>	0,100	0,223	-0,043	0,604
<b>Renal</b>						
Uréia, mg/dL	0,097	0,240	0,050	0,546	0,006	0,941
Creatinina, mg/dL	0,046	0,577	-0,129	0,116	0,091	0,271
<b>Metabolismo lipídico</b>						
Colesterol Total, mg/dL	----	----	0,745	<b>&lt;0,001</b>	0,252	<b>0,002</b>
Colesterol HDL, mg/dL	0,299♣	<b>&lt;0,001</b>	-0,083♣	0,312	-0,242	<b>0,003</b>
Colesterol LDL, mg/dL	0,759♣	<b>&lt;0,001</b>	----	----	0,055	0,505
Colesterol VLDL, mg/dL	0,252	<b>0,002</b>	0,055	0,505	----	----
Triglicérides, mg/dL	0,268	<b>0,001</b>	0,068	0,409	0,998	<b>&lt;0,001</b>
<b>Inflamação</b>						
Ferritina, ng/mL	0,132	0,108	0,119	0,149	0,109	0,186
Ferro sérico, mcg/dL	0,059	0,514	0,141	0,117	0,149	0,096
Anti-estreptolisina O, UI/mL	-0,037	0,652	-0,049	0,558	0,164	<b>0,047</b>
Proteína C reativa, mg/L	0,043	0,606	0,037	0,658	-0,038	0,648
Alfa 1 antitripsina, mg/dL	-0,094♣	0,255	0,041♣	0,622	-0,077	0,355

Coefficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*) e valor de *p* (*p*)

♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson

#### 5.4.1 – Pacientes com doença falciforme e diferentes níveis de colesterol HDL.

Os pacientes foram categorizados de acordo com a determinação dos níveis de colesterol HDL, em portadores de níveis diminuídos (menor que 40 mg/dL) de colesterol HDL, sendo observados em 103/151 (68,21%) pacientes enquanto que 48/151 (31,79%) indivíduos com DF apresentaram valores normais (maior ou igual a 40 mg/dL) de colesterol HDL.

Analisando os dados hematológicos dos grupos verificou-se que o grupo com níveis diminuídos de colesterol HDL apresentou média de eritrócitos de 3,01 ( $\pm 0,85$ ), enquanto que o grupo com níveis normais apresentou um média de 3,75 ( $\pm 1,0$ ) ( $p=0,000$ ). Os valores de HCM e CHCM também foram menores no grupo com HDL-c diminuído quando comparados ao com níveis normais. A contagem de leucócitos também apresentou diferença estatisticamente significativa quando comparados os dois grupos, sendo que os indivíduos com níveis diminuídos de colesterol HDL apresentaram a maior média de leucócitos ( $14.105,83 \pm 6.085,37$ ) quando comparados àqueles com níveis normais ( $10.868,75 \pm 4.416,13$ ).

O grupo de indivíduos com doença falciforme que apresentou níveis diminuídos de colesterol HDL também apresentou médias maiores de AST, bilirrubina total, bilirrubina direta, bilirrubina indireta, LDH e alfa 1-antitripsina quando comparado àquele com níveis normais de colesterol HDL, sendo essa diferença estatisticamente significativa.

A tabela 05 mostra os dois subgrupos de indivíduos com doença falciforme, aqueles que têm valores normais e aqueles que apresentam valores diminuídos de colesterol HDL, possibilitando a comparação entre valores hematológicos e bioquímicos nos dois grupos.

**Tabela 05** - Categorização dos pacientes com DF por níveis de colesterol HDL.

	HDL < 40 mg/dL		HDL ≥ 40 mg/dL		p*
	N	Média ± Desvio-padrão	N	Média ± Desvio-padrão	
<b>Hemólise</b>					
Hemácias, milhões/mL	103	3,01 ± 0,85	48	3,75 ± 1,0	<b>0,000</b>
Hemoglobina, (g/dL)	103	8,57 ± 2,02	48	9,76 ± 1,75	<b>0,001</b>
Hematócrito, %	103	26,42 ± 6,17	48	30,43 ± 5,37	<b>0,000</b>
VCM, fL	103	89,17 ± 10,34	48	83,52 ± 11,01	<b>0,003</b>
HCM, pg	103	28,94 ± 3,52	48	26,82 ± 3,79	<b>0,001</b>
CHCM, %	103	32,44 ± 0,96	48	32,07 ± 0,86	<b>0,025</b>
Eritroblasto, /100 leucócitos	103	1,90 ± 2,31	48	1,02 ± 2,48	<b>0,034</b>
Reticulócitos, %	97	8,34 ± 4,55	42	5,90 ± 5,25	<b>0,006</b>
<b>Hemoglobinas</b>					
Hemoglobina S, %	103	79,22 ± 16,16	48	60,75 ± 18,22	<b>0,000</b>
Hemoglobina Fetal, %	103	7,55 ± 5,99	48	7,41 ± 6,78	0,899
<b>Leucócitos</b>					
Leucócitos, /mL	103	14105,83 ± 6085,37	48	10868,75 ± 4416,13	<b>0,001</b>
Basófilos, %	103	0,19 ± 0,40	48	0,42 ± 0,54	<b>0,005</b>
Monócitos, %	103	6,34 ± 1,82	48	5,44 ± 1,65	<b>0,004</b>
<b>Plaquetas</b>					
Plaquetas, mil/mm <sup>3</sup>	103	424,90 ± 160,26	48	357,69 ± 148,02	<b>0,015</b>
<b>Hemólise e comprometimento hepático</b>					
Desidrogenase láctica, U/L	103	977,19 ± 524,50	49	602,92 ± 339,78	<b>0,000</b>
AST, U/L	103	51,45 ± 26,29	48	40,65 ± 20,32	<b>0,013</b>
Bilirrubina total, mg/dL	103	3,13 ± 1,82	48	1,88 ± 1,25	<b>0,000</b>
Bilirrubina direta, mg/dL	103	0,79 ± 0,47	48	0,38 ± 0,25	<b>0,000</b>
Bilirrubina Indireta, mg/dL	103	2,34 ± 1,68	48	1,50 ± 1,20	<b>0,002</b>
<b>Metabolismo lipídico</b>					
Colesterol Total, mg/dL	103	116,49 ± 25,17	48	131,06 ± 25,73	<b>0,001</b>
Colesterol LDL, mg/dL	103	65,78 ± 21,47	48	63,19 ± 23,81	0,506
Coolesterol VLDL, mg/dL	103	21,62 ± 10,31	48	17,90 ± 6,38	<b>0,023</b>
Triglicerídeos, mg/dL	102	107,74 ± 51,64	48	90,02 ± 31,86	<b>0,030</b>
<b>Hepático</b>					
ALT, U/L	103	29,90 ± 22,10	48	24,58 ± 19,56	0,156
<b>Renal</b>					
Uréia, mg/dL	102	17,25 ± 6,70	47	18,77 ± 5,73	0,181
Creatinina, mg/dL	103	0,49 ± 0,50	47	0,57 ± 0,50	0,315
<b>Inflamação</b>					
Ferro sérico, mcg/ dL	95	136,65 ± 133,77	31	82,77 ± 40,17	<b>0,029</b>
Alfa 1 antitripsina, mg/dL	102	163,13 ± 44,06	48	128,92 ± 42,13	<b>0,000</b>

\* p = valor de p t-test não pareado

## 5.5 - MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA DOENÇA FALCIFORME E NÍVEIS DE COLESTEROL HDL

Foram analisados os eventos clínicos apresentados pelos pacientes com doença falciforme correlacionando-os com os grupos previamente citados em relação aos níveis de colesterol HDL.

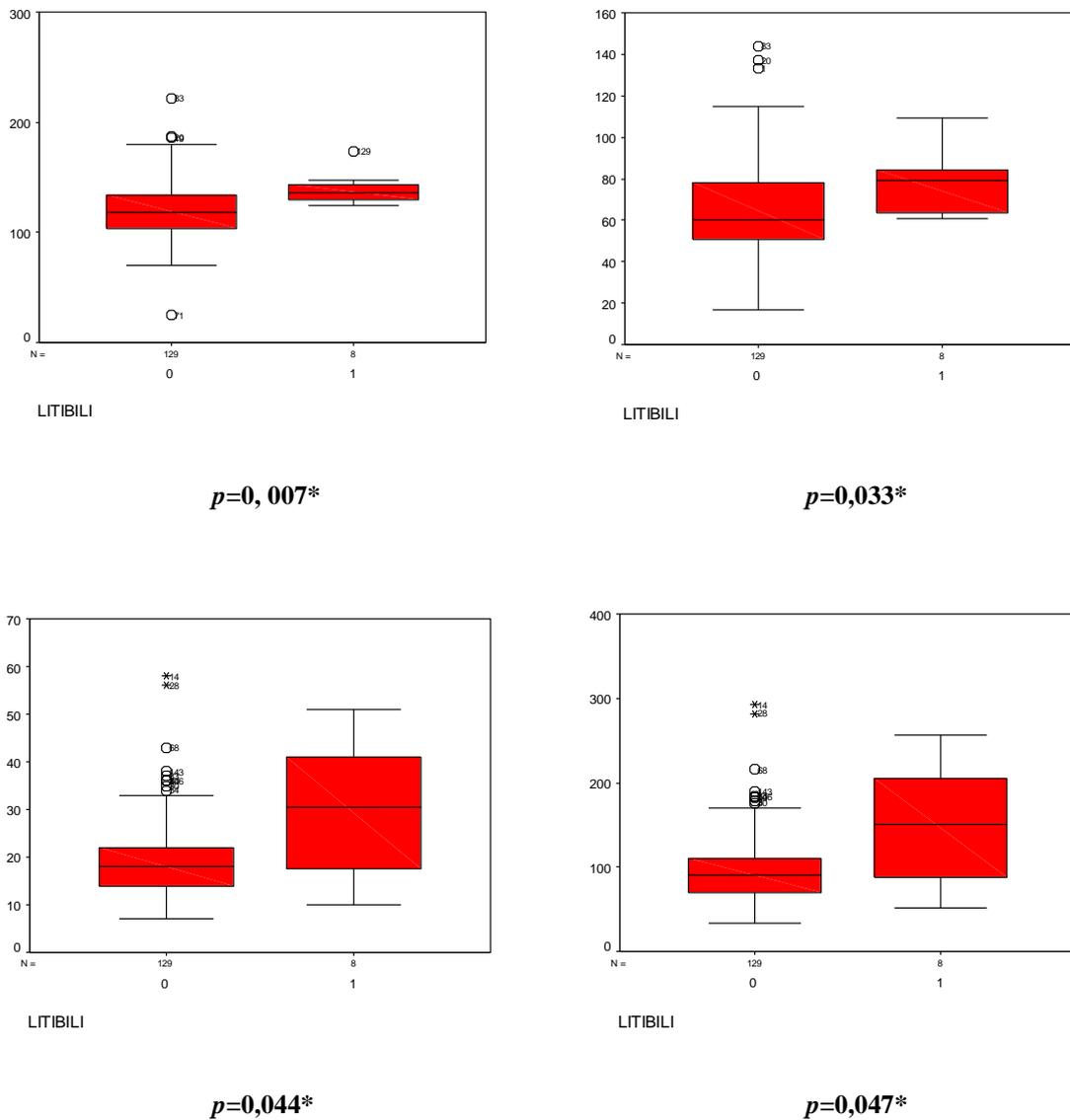
Entre os indivíduos com doença falciforme e valores diminuídos de colesterol HDL observou-se um risco maior para ocorrência de pneumonia (OR = 2,42, IC a 95% = 1,06 – 5,53;  $p=0,033$ ), alterações cardíacas (OR = 2,88, IC a 95% = 1,12 – 7,59;  $p=0,025$ ) e uso de hemoderivados (OR = 2,52, IC a 95% = 1,11 – 5,77 e  $p=0,025$ ) (tabela 06).

**Tabela 06** – Associação entre níveis de colesterol HDL e eventos clínicos na doença falciforme.

	HDL < 40		HDL ≥ 40		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	05 (5,0)	96 (95,0)	03 (7,5)	37 (92,5)	0,687**	0,64 (0,12 – 3,60)
Internação	83 (85,0)	15 (15,0)	29 (72,5)	11 (27,5)	0,155*	2,10 (0,79 – 5,55)
Crise de Dor	82 (83,7)	16 (16,3)	29 (72,5)	11 (27,5)	0,206*	1,94 (0,74 – 5,08)
Crise vaso-oclusiva	85 (86,7)	13 (13,3)	29 (72,5)	11 (27,5)	0,079*	2,48 (0,91 – 6,73)
Uso de Hidroxiuréia	06 (5,8)	97 (94,2)	03 (7,0)	40 (93,0)	0,723**	0,82 (0,17 – 4,41)
Infecções	44 (55,0)	36 (45,0)	18 (54,5)	15 (45,5)	0,870*	1,02 (0,42 – 2,48)
Pneumonia	58 (59,2)	40 (40,8)	15 (37,5)	25 (62,5)	<b>0,033*</b>	<b>2,42 (1,06 – 5,53)</b>
Priaprismo	03 (5,6)	51 (94,4)	02 (11,1)	16 (88,9)	0,593**	0,47 (0,06 – 4,48)
Esplenomegalia	16 (16,5)	81 (83,5)	04 (10,0)	36 (90,0)	0,476*	1,78 (0,51 – 6,81)
Seqüestro esplênico	13 (13,4)	84 (86,6)	03 (7,5)	37 (92,5)	0,396**	1,91 (0,47 – 9,01)
Úlcera maleolar	03 (3,1)	95 (96,9)	00 (0,0)	40 (100,0)	0,556**	---
Alterações cardíacas	41 (41,8)	57 (58,2)	08 (20,0)	32 (80,0)	<b>0,025*</b>	<b>2,88 (1,12 – 7,59)</b>
Insuficiência respiratória	02 (2,0)	96 (98,0)	01 (2,5)	39 (97,5)	1,0**	0,81 (0,06 – 23,34)
Litíase biliar	08 (8,2)	90 (91,8)	00 (0,0)	40 (100,0)	0,104**	---
Uso de Hemoderivados	59 (60,2)	39 (39,8)	15 (37,5)	25 (62,5)	<b>0,025*</b>	<b>2,52 (1,11 – 5,77)</b>

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher

Níveis séricos elevados de colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicéridos foram associados a presença de litíase biliar (Figura 5).



COL\_TOT: Colesterol total  
 COL\_LDL: Colesterol LDL  
 COL\_VLDL: Colesterol VLDL  
 TRIG: Triglicéridos  
 LITIBILI: Litíase biliar  
 0: Sem litíase  
 1: Com litíase  
 \* Kruskal Wallis

FIGURA 05 – Representação gráfica da distribuição dos níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicéridos com a presença de litíase biliar, no grupo de pacientes com doença falciforme.

A análise multivariada foi realizada estabelecendo-se fatores de risco e analisando a associação com marcadores dependentes associados a clínica de indivíduos com doença falciforme (tabela 7).

Tabela 7 – Análise multivariada em modelos de estudo específico, envolvendo marcadores bioquímicos e eventos clínicos.

Variável dependente	Modelos Fatores de risco	F	p
Alterações cardíacas	<b>Modelo 1</b>		
	Col HDL*PCR	5,02	0,027
	LDH*PCR	4,06	0,046
	PCR*A1ATs	5,19	0,024
	Col HDL*PCR*LDH	7,01	0,009
	LDH*PCR*A1ATs	4,57	0,034
Litíase biliar	<b>Modelo 2</b>		
	LDH*A1ATs	6,71	0,011
	Col HDL*LDH	11,03	0,001
	Col HDL*PCR	9,33	0,003
	A1AT*LDH	27,25	0,000
	A1AT*PCR*	6,87	0,010
	A1AT*LEUCO	10,76	0,001
	LDH*LEUCO	5,36	0,023
	PCR*TRIG	46,22	0,000
	Col HDL*PCR*LDH	11,41	0,001
	LDH*PCR*LEUCO	9,25	0,003
	PCR*A1AT*LEUCO	10,76	0,001
Uso de Hemoderivados	<b>Modelo 3</b>		
	LDH*LEUCO	6,68	0,011
	Col HDL*LEUCO*RET	7,77	0,006
Pneumonia	<b>Modelo 4</b>		
	Col HDL*LEUCO*RET	5,12	0,026

F = teste F usado para avaliação dos níveis de confiança dos testes de Pillai's Trace, Wilkis' Lambda, Hotelling's Trace e Roy's largest root. p= valor de p.

## 5.6 - CORRELAÇÕES ENTRE DADOS HEMATOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E PERCENTAGEM DE HEMOGLOBINAS.

As tabelas de 08 a 13 (tabela 13 – apêndice III) mostram as correlações entre valores hematológicos, bioquímicos e percentagem de hemoglobinas S e F entre os pacientes com doença falciforme.

A tabela 08 correlaciona dados hematológicos e concentração de hemoglobinas F e S com marcadores de metabolismo do ferro, transaminases e bilirrubina total e frações.

O metabolismo do ferro foi avaliado e observou-se uma correlação positiva entre contagem de leucócitos e ferro sérico ( $r=0,209$  e  $p=0,019$ ) e ferritina sérica ( $r=0,198$  e  $p=0,014$ ); além disso, a ferritina apresentou uma correlação positiva com a contagem de plaquetas e reticulócitos e com a concentração de Hb S. O ferro sérico apresentou correlação negativa com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito e positiva com as concentrações de VCM e HCM.

Os marcadores de função hepática foram avaliados através da determinação das transaminases. Desta maneira, observou-se correlação negativa entre as transaminases (AST e ALT) e concentração de hemoglobina e hematócrito. A AST foi associada positivamente a contagem de eritrócitos ( $r=0,422$  e  $p=0,000$ ), leucócitos ( $r=0,209$  e  $p=0,01$ ), e plaquetas ( $r=0,174$  e  $p=0,032$ ), e a concentração de HbS ( $r=0,396$  e  $p=0,000$ ).

As bilirrubina total e frações correlacionaram-se negativamente com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito e positivamente com VCM, HCM, CHCM, contagem plaquetas, reticulócitos, leucócitos e concentração de Hb S. Uma correlação positiva também foi observada entre a contagem de monócitos e as bilirrubina total e indireta.

A tabela 09 apresenta a correlação entre dados hematológicos e concentração de hemoglobinas F e S com níveis séricos de uréia, creatinina, proteínas totais e frações e marcadores de processo infeccioso e inflamatório.

A uréia não apresentou nenhuma correlação com significância estatística com nenhuma das determinações referidas anteriormente, conforme a tabela 8.

A creatinina correlacionou-se positivamente com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito. Uma associação inversa foi apresentada entre a níveis séricos de creatinina e a contagem de plaquetas e concentração de Hb S.

As proteínas totais e globulinas não foram associadas, de maneira significativa, aos dados hematológicos e concentração de Hb S e F. A albumina apresentou uma correlação negativa com HCM ( $r=-0,191$ ,  $p=0,019$ ) e com CHCM ( $r=-0,183$ ,  $p=0,025$ ).

O ASLO não foi correlacionado de maneira estatística com as determinações analisadas.

Os marcadores de processo inflamatório investigados foram a PCR<sub>e</sub> e a A1AT. A PCR<sub>e</sub> foi associada de maneira inversa a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobinas, hematócrito e CHCM e apresentou uma correlação positiva com contagem de leucócitos, segmentados, monócitos, plaquetas e reticulócitos. A A1AT correlacionou-se positivamente as contagens de monócitos e plaquetas e a concentração de Hb S. A associação entre A1AT e contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobinas e hematócrito foi inversa.

A tabela 10 apresenta as correlações entre perfil lipídico, transaminases, metabolismo do ferro e bilirrubinas entre si.

O ferro sérico apresentou uma correlação positiva com ferritina e bilirrubina total e frações. A ferritina por sua vez, só apresentou correlação, com significância estatística com o ferro sérico.

A AST correlacionou-se positivamente com a ALT e as bilirrubinas totais e frações ( $p < 0,005$ ) e a ALT associou-se de maneira significativa com a ALT ( $r = 0,461$ ,  $p = 0,000$ ) e a bilirrubina direta ( $r = 0,169$ ,  $p = 0,024$ ).

A bilirrubina total apresentou correlação positiva com ferro sérico, AST e com as bilirrubinas direta e indireta. A bilirrubina foi associada positivamente com AST, ALT e bilirrubinas total e indireta. A bilirrubina indireta, por sua vez, também apresentou correlação positiva com AST e com as bilirrubinas total e direta.

A tabela 11 mostra a correlação entre o metabolismo do ferro, as transaminases e as bilirrubinas e os níveis de proteínas totais e frações, LDH, marcadores de processos inflamatório (PCRe e A1AT) e infeccioso (ASLO), uréia e creatinina.

A creatinina sérica apresentou correlação negativa com ferritina, AST e ALT, sendo este achado estatisticamente significativo. A uréia não correlacionou-se de maneira significativa com nenhum dos dados mostrados na tabela 11.

As proteínas totais correlacionaram-se positivamente com a AST ( $p = 0,007$ ). A albumina e a globulina não apresentaram correlação significativa com as determinações bioquímica referidas anteriormente, bem como a ASLO.

A correlação dos marcadores associados a processo inflamatório foi positiva entre a PCRe e a ferritina ( $p = 0,001$ ) e entre a A1AT e AST, ALT e bilirrubina direta ( $p < 0,05$ ).

A tabela 12 apresenta a correlação entre marcadores de função renal (uréia e creatinina), proteínas totais e frações e marcadores de processo infeccioso (ASLO) e inflamatório (PCRe e A1AT) entre si.

A uréia apresentou correlação, entre os marcadores referidos na tabela 11, apenas com a creatinina ( $r = 0,232$ ,  $p = 0,004$ ). A creatinina por sua vez, foi associada negativamente a níveis séricos de A1AT ( $p = 0,007$ ).

As proteínas totais apresentaram correlação positiva com os níveis séricos de albumina, globulinas e a ASLO ( $p < 0,001$ ). A albumina foi associada de maneira direta aos níveis séricos de proteínas totais como referido e inversamente aos níveis séricos de globulinas ( $p = 0,000$ ). As globulinas por sua vez apresentaram correlação positiva com a ASLO ( $p = 0,002$ ).

A PCRe correlacionou-se positivamente a A1AT ( $p = 0,000$ ).

**Tabela 08** – Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos I.

		Hm	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuco	Segm	Mono	Plaq	Ret	HbS	HbF
Ferro	r	-0,262	-0,186	-0,205	0,230	0,231	0,122	0,238	-0,159	0,142	0,192	0,300	0,221	0,213
	p	<b>0,003</b>	<b>0,037</b>	<b>0,021</b>	<b>0,009</b>	<b>0,009</b>	0,172	<b>0,007</b>	0,075	0,113	<b>0,032</b>	<b>0,001</b>	0,051	0,059
	N	126	126	126	126	126	126	126	126	126	126	117	117	117
Ferritina	r	-0,203	-0,171	-0,171	0,084	0,055	-0,092	0,332	-0,046	0,075	0,254	0,257	0,295	0,163
	p	<b>0,013</b>	0,036	0,036	0,306	0,508	0,262	<b>0,000</b>	0,573	0,359	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	<b>0,004</b>	0,112
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
AST	r	-0,422	-0,398♣	-0,491	0,037♣	0,058♣	0,087♣	0,209♣	-0,105♣	0,136	0,174♣	0,067♣	0,396	0,155
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,654	0,478	0,289	<b>0,010</b>	0,198	0,094	<b>0,032</b>	0,432	<b>0,000</b>	0,131
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
ALT	r	-0,162	-0,174	-0,193	-0,038	0,067	0,152	0,106	-0,020	0,142	0,096	0,068	0,182	-0,023
	p	0,046	<b>0,032</b>	<b>0,017</b>	0,641	0,414	0,061	0,194	0,805	0,082	0,240	0,422	0,077	0,822
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Bil Tot	r	-0,554	-0,409♣	-0,535	0,320♣	0,351♣	0,229♣	0,190♣	-0,059♣	0,213	0,204♣	0,338♣	0,532	0,144
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,005</b>	<b>0,020</b>	0,469	<b>0,009</b>	<b>0,012</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,163
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
BD	r	-0,186	-0,172	-0,175	0,174	0,185	0,071	0,196	0,045	0,148	0,208	0,187	0,259	0,126
	p	<b>0,022</b>	<b>0,034</b>	<b>0,031</b>	<b>0,032</b>	<b>0,023</b>	0,389	<b>0,016</b>	0,582	0,069	<b>0,011</b>	<b>0,028</b>	<b>0,011</b>	0,220
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
BI	r	-0,535	-0,502	-0,528	0,390	0,415	0,243	0,377	-0,085	0,169	0,290	0,419	0,521	0,155
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,003</b>	<b>0,000</b>	0,298	<b>0,038</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,132
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141

Coefficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson ; Valor de p (*p*); Número de indivíduos (*N*).  
As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

**Tabela 09** – Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos II.

		Hm	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuco	Segm	Mono	Plaq	Ret	HbS	HbF
Uréia	r	0,119	0,109	0,127	-0,010	-0,008	0,047	-0,064	0,042	0,074	-0,110	-0,036	-0,148	-0,033
	p	0,148	0,186	0,122	0,907	0,926	0,571	0,438	0,611	0,370	0,179	0,674	0,151	0,753
	N	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	150	139	140
Creatinina	r	0,289	0,263	0,285	-0,180	-0,194	-0,151	-0,132	-0,014	-0,118	-0,208	-0,119	-0,333	-0,081
	p	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	<b>0,027</b>	<b>0,017</b>	0,065	0,107	0,869	0,149	<b>0,011</b>	0,162	<b>0,001</b>	0,431
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	140	141	141
PT	r	-0,064	-0,091 ♣	-0,067	-0,032 ♣	-0,041 ♣	-0,071 ♣	0,065 ♣	0,130 ♣	-0,025	-0,040 ♣	0,049 ♣	0,182	-0,045
	p	0,433	0,264	0,411	0,697	0,621	0,385	0,430	0,111	0,765	0,623	0,564	0,076	0,663
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
Albumina	r	0,032	-0,065	-0,032	-0,154	-0,191	-0,183	0,124	0,072	-0,046	0,008	-0,053	-0,028	-0,032
	p	0,696	0,425	0,698	0,059	<b>0,019</b>	<b>0,025</b>	0,128	0,378	0,574	0,922	0,532	0,784	0,754
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
Globulinas	r	-0,047	-0,020 ♣	-0,047	0,077 ♣	0,079 ♣	0,009 ♣	0,039 ♣	0,062 ♣	-0,012	0,027 ♣	0,095 ♣	0,104	-0,018
	p	0,568	0,808	0,568	0,346	0,335	0,910	0,633	0,448	0,886	0,741	0,265	0,314	0,862
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
ASLO	r	-0,045	-0,064	-0,061	0,049	-0,005	-0,110	0,021	-0,053	0,044	0,074	-0,041	0,109	-0,117
	p	0,586	0,438	0,463	0,551	0,951	0,183	0,798	0,520	0,600	0,374	0,632	0,291	0,256
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
PCRe	r	-0,214	-0,213	-0,198	0,129	0,080	-0,175	0,436	0,197	0,168	0,248	0,260	0,139	0,068
	p	<b>0,009</b>	<b>0,009</b>	<b>0,016</b>	0,118	0,333	<b>0,033</b>	<b>0,000</b>	<b>0,017</b>	<b>0,041</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	0,178	0,510
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141
A1AT	r	-0,230	-0,188 ♣	-0,215	0,101 ♣	0,093 ♣	-0,013 ♣	0,260 ♣	-0,009 ♣	0,288	0,065 ♣	0,192 ♣	0,291	0,021
	p	<b>0,005</b>	<b>0,021</b>	<b>0,009</b>	0,218	0,257	0,872	<b>0,001</b>	0,909	<b>0,006</b>	0,431	<b>0,024</b>	<b>0,004</b>	0,840
	N	151	151	151	151	151	151	151	151	151	151	139	141	141

Coeficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson ; Valor de p (*p*); Número de indivíduos (N). As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

**Tabela 10** – Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos III.

		Col Tot	Col HDL	Col LDL	Col VLDL	Triglic	Ferro	Ferritina	AST	ALT	Bil Tot	Bil D	Bil I
Ferro	r	0,059	-0,186	0,141	0,149	0,159	1,000	0,283	0,072	0,025	0,273	0,288	0,246
	p	0,514	<b>0,038</b>	0,117	0,096	0,076	--	<b>0,000</b>	0,421	0,784	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>
	N	126	126	126	126	125	126	126	126	126	126	126	126
Ferritina	r	0,132	-0,032	0,119	0,109	0,102	0,283	1,000	0,104	0,078	0,055	-0,003	0,100
	p	0,108	0,699	0,149	0,186	0,220	<b>0,001</b>	--	0,204	0,345	0,507	0,974	0,223
	N	151	151	151	151	150	126	152	152	152	151	151	151
AST	r	0,177♣	-0,235♣	0,240♣	0,207	0,207	0,072	0,104	1,000♣	0,461	0,246♣	0,169	0,318
	p	<b>0,030</b>	<b>0,004</b>	<b>0,003</b>	<b>0,011</b>	<b>0,011</b>	0,421	0,204	--	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>	<b>0,038</b>	<b>0,000</b>
	N	151	151	151	151	150	126	152	152	152	151	151	151
ALT	r	0,005	-0,172	0,061	0,087	0,075	0,025	0,078	0,461	1,000	0,045	0,183	0,092
	p	0,954	<b>0,035</b>	0,454	0,286	0,364	0,784	0,345	<b>0,000</b>	--	0,587	<b>0,024</b>	0,262
	N	151	151	151	151	150	126	152	152	152	151	151	151
Bil Tot	r	-0,142♣	-0,298♣	0,073♣	0,170	0,165	0,273	0,055	0,246♣	0,045	1,000♣	0,326	0,928
	p	0,081	<b>0,000</b>	0,371	<b>0,037</b>	<b>0,044</b>	<b>0,002</b>	0,507	<b>0,002</b>	0,587	--	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
	N	151	151	151	151	150	126	151	151	151	151	151	151
Bil D	r	-0,107	-0,471	0,062	0,039	0,035	0,288	-0,003	0,169	0,183	0,326	1,000	0,191
	p	0,191	<b>0,000</b>	0,448	0,637	0,669	<b>0,001</b>	0,974	<b>0,038</b>	<b>0,024</b>	<b>0,000</b>	--	<b>0,019</b>
	N	151	151	151	151	150	126	151	151	151	151	151	151
Bil I	r	-0,034	-0,287	0,090	0,145	0,143	0,246	0,100	0,318	0,092	0,928	0,191	1,000
	p	0,678	<b>0,000</b>	0,274	0,076	0,080	<b>0,005</b>	0,223	<b>0,000</b>	0,262	<b>0,000</b>	<b>0,019</b>	--
	N	151	151	151	151	150	126	151	151	151	151	151	151

Coefficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson; Valor de p (*p*); Número de indivíduos (N).

As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

**Tabela 11** – Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos IV.

		Ferro	Ferritina	AST	ALT	Bil Tot	Bil D	Bil I
Uréia	r	-0,043	-0,053	0,022	0,100	-0,003	-0,004	-0,018
	p	0,630	0,522	0,791	0,224	0,972	0,963	0,829
	N	125	150	150	150	149	149	149
Creatinina	r	-0,049	-0,165	-0,234	-0,266	-0,132	-0,098	-0,081
	p	0,588	<b>0,044</b>	<b>0,004</b>	<b>0,001</b>	0,107	0,234	0,327
	N	126	151	151	151	150	150	150
PT	r	-0,013	0,119	0,220♣	0,076	-0,107♣	-0,029	0,069
	p	0,885	0,149	<b>0,007</b>	0,352	0,191	0,720	0,398
	N	126	151	151	151	151	151	151
Albumina	r	-0,141	0,111	0,078	0,064	-0,098	-0,112	-0,061
	p	0,114	0,176	0,341	0,436	0,232	0,170	0,459
	N	126	151	151	151	151	151	151
Globulinas	r	0,087	0,056	0,112♣	0,024	-0,030♣	-0,091	0,054
	p	0,332	0,498	0,169	0,771	0,715	0,266	0,511
	N	126	151	151	151	151	151	151
LDH	r	0,207	-0,081	0,297	0,014	0,475	0,281	0,423
	p	<b>0,020</b>	0,325	<b>0,000</b>	0,867	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
	N	126	151	151	151	151	151	151
ASLO	r	-0,019	0,102	0,140	0,029	-0,004	-0,048	0,030
	p	0,831	0,215	0,090	0,724	0,961	0,563	0,715
	N	125	151	151	151	150	150	150
PCRe	r	0,074	0,266	0,118	0,024	0,015	-0,022	0,018
	p	0,418	<b>0,001</b>	0,154	0,774	0,854	0,789	0,830
	N	125	151	151	151	150	150	150
A1AT	r	0,173	0,132	0,256♣	0,210	0,140♣	0,525	0,064
	p	0,056	0,109	<b>0,002</b>	<b>0,011</b>	0,088	<b>0,000</b>	0,439
	N	125	151	151	151	150	150	150

Coeficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson; Valor de *p* (*p*); Número de indivíduos (*N*). As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

**Tabela 12** – Correlação entre dados hematológicos e bioquímicos V.

		Uréia	Creatinina	PT	Albumina	Globulina	ASLO	PCRe	A1AT
Uréia	r	1,000	0,232	0,073	0,084	-0,034	-0,081	-0,063	-0,048
	p	--	<b>0,004</b>	0,379	0,311	0,681	0,332	0,448	0,563
	N	150	150	149	149	149	149	149	149
Creatinina	r	0,232	1,000	-0,096	-0,054	-0,058	0,059	-0,094	-0,221
	p	<b>0,004</b>	--	0,242	0,513	0,481	0,477	0,255	<b>0,007</b>
	N	150	151	150	150	150	150	150	150
PT	r	0,073	-0,096	1,000♣	0,344	0,659♣	0,269	0,049	-0,007♣
	p	0,379	0,242	--	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>	0,555	0,932
	N	149	150	151	151	151	150	150	150
Albumina	r	0,084	-0,054	0,344	1,000	-0,336	0,071	0,113	-0,045
	p	0,311	0,513	<b>0,000</b>	--	<b>0,000</b>	0,390	0,175	0,585
	N	149	150	151	151	151	150	150	150
Globulinas	r	-0,034	-0,058	0,659♣	-0,336	1,000♣	0,257	-0,017	0,123♣
	p	0,681	0,481	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	--	<b>0,002</b>	0,838	0,133
	N	149	150	151	151	151	150	150	150
ASLO	r	-0,081	0,059	0,269	0,071	0,257	1,000	0,010	0,161
	p	0,332	0,477	<b>0,001</b>	0,390	<b>0,002</b>	--	0,903	0,051
	N	149	150	150	150	150	151	151	151
PCRe	r	-0,063	-0,094	0,049	0,113	-0,017	0,010	1,000	0,300
	p	0,448	0,255	0,555	0,175	0,838	0,903	--	<b>0,000</b>
	N	149	150	150	150	150	151	151	151
A1AT	r	-0,048	-0,221	-0,007♣	-0,045	0,123♣	0,161	0,300	1,000♣
	p	0,563	<b>0,007</b>	0,932	0,585	0,133	0,051	<b>0,000</b>	--
	N	149	150	150	150	150	151	151	151

Coefficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson; Valor de p (*p*); Número de indivíduos (*N*). As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

## 5.8 - POLIMORFISMO G463A NO GENE DA MIELOPEROXIDASE

A investigação da frequência do polimorfismo G462A no gene da *MPO* revelou que 78/136 (57,4%) dos pacientes com doença falciforme apresentaram ao menos um gene mutante para a *MPO*. Entre os genótipos 58/136 (42,5%) pacientes com doença falciforme apresentaram o tipo selvagem normais, 61/136 (44,9%) foram heterozigotos e 17/136 (12,5%) homozigotos para a referida mutação.

Não foram observadas associações estatisticamente significativas entre a presença do alelo mutante e os dados clínicos em pacientes com doença falciforme.

A presença do alelo mutante foi associada a níveis elevados de LDH ( $p=0,002$ ) (Figura 06), bilirrubina total ( $p=0,047$ ) e bilirrubina indireta ( $p=0,041$ ) (Figura 07). A contagem de leucócitos foi associada a presença de eventos de vaso-oclusão (Figura 08).

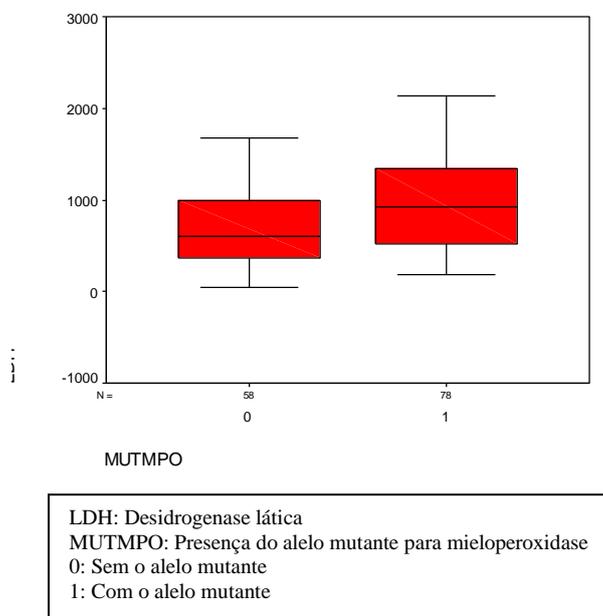
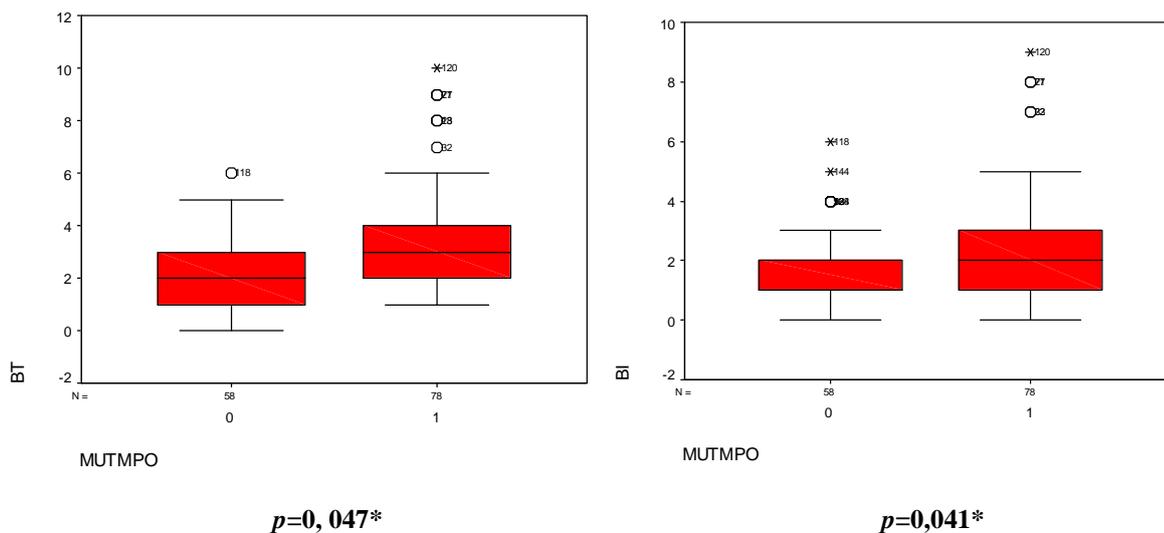
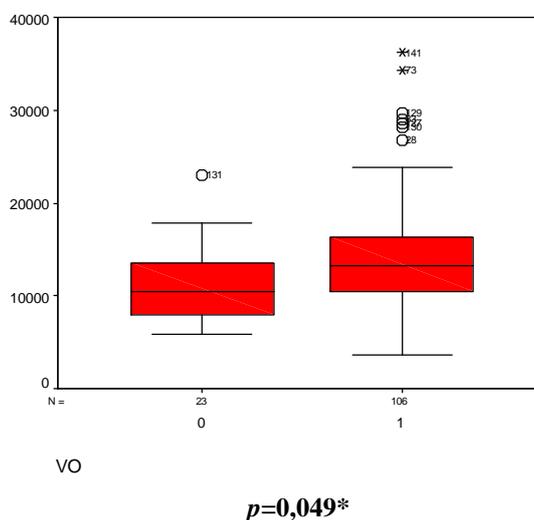


FIGURA 06 – Representação gráfica da distribuição dos níveis séricos de LDH por presença do alelo mutante para mieloperoxidase, no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p=0,002$  (ANOVA).



BT: Bilirrubina total  
 BI: Bilirrubina indireta  
 MUTMPO: Presença do alelo mutante para mieloperoxidase  
 0: Sem o alelo mutante  
 1: com o alelo mutante  
 \* Kruskal Wallis

FIGURA 07 – Representação gráfica da distribuição da bilirrubina total e indireta por presença do alelo mutante para a MPO, no grupo de pacientes com de doença falciforme.



LEUCO\_T: Leucócitos totais  
 VO: Vaso-oclusão  
 0: Não  
 1: Sim  
 \* Kruskal Wallis

FIGURA 08 – Representação gráfica da distribuição de leucócitos totais por vaso-oclusão, no grupo de pacientes com de doença falciforme.

## 5.9 - ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR

A análise de regressão linear entre a contagem de hemácias e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme mostrou correlação positiva,  $p < 0,001$  (Figura 09). A regressão linear foi estatisticamente significativa quando comparados os valores de concentração de hemoglobina e níveis séricos de colesterol HDL,  $p < 0,001$  (Figura 10).

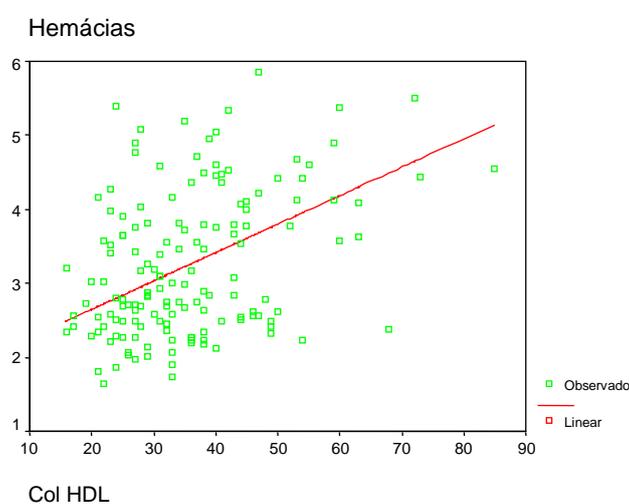


FIGURA 09 – Análise de regressão linear entre contagem de hemácias e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p < 0,001$ ).

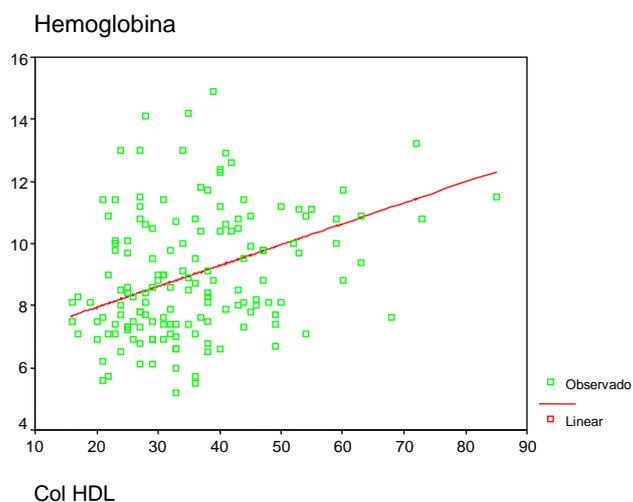


FIGURA 10 – Análise de regressão linear entre a concentração de hemoglobina e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p < 0,001$ ).

A regressão linear foi estatisticamente significativa quando comparados a concentração de hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p < 0,001$  (Figura 11).

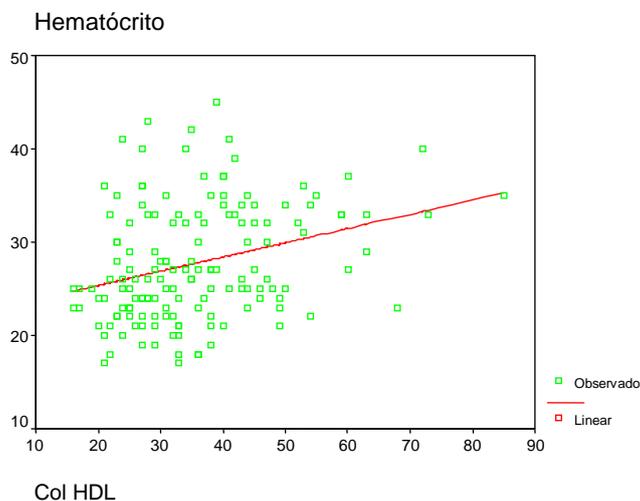


FIGURA 11 – Análise de regressão linear entre a concentração de hematócrito e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p < 0,001$ ).

A análise de regressão linear entre a concentração de VCM e níveis séricos de colesterol HDL, no grupo de pacientes com doença falciforme, demonstrou correlação negativa,  $p = 0,001$  (Figura 12).

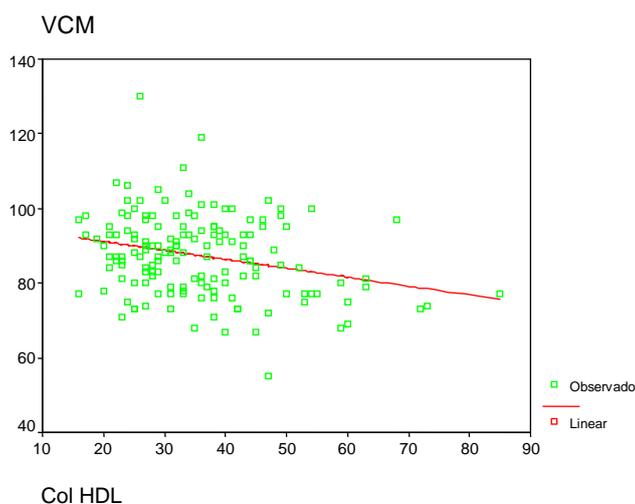


FIGURA 12 – Análise de regressão linear entre concentração de VCM e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p < 0,001$ ).

A regressão linear entre a concentração de HCM e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme demonstrou correlação negativa com significância estatística,  $p < 0,001$  (Figura 13). A regressão linear entre plaquetas e colesterol HDL demonstrou correlação negativa, no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p = 0,005$  (Figura 14).

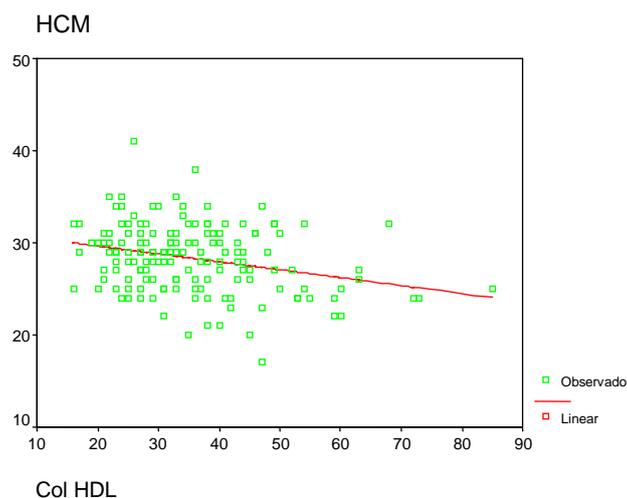


FIGURA 13 - Análise de regressão linear entre concentração de HCM e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p < 0,001$ ).

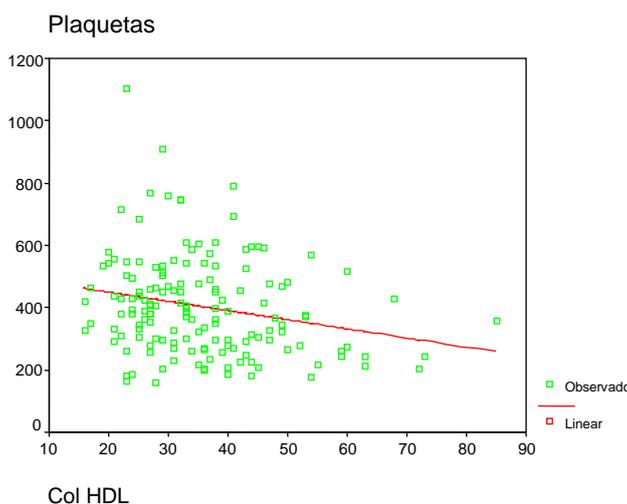


FIGURA 14 - Análise de regressão linear entre contagem de plaquetas e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p = 0,005$ ).

A regressão linear entre a contagem de leucócitos e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme demonstrou correlação negativa com significância estatística,  $p=0,015$  (Figura 15). A regressão linear entre níveis séricos de colesterol total e colesterol HDL demonstrou correlação positiva, no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p<0,001$  (Figura 16).

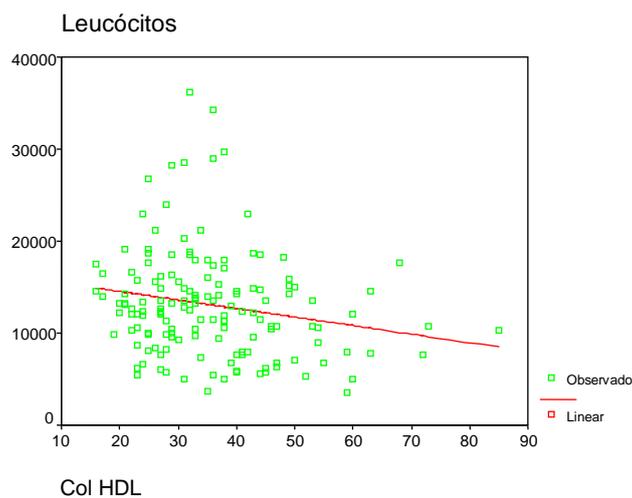


FIGURA 15 - Análise de regressão linear entre contagem de leucócitos e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p=0,015$ ).

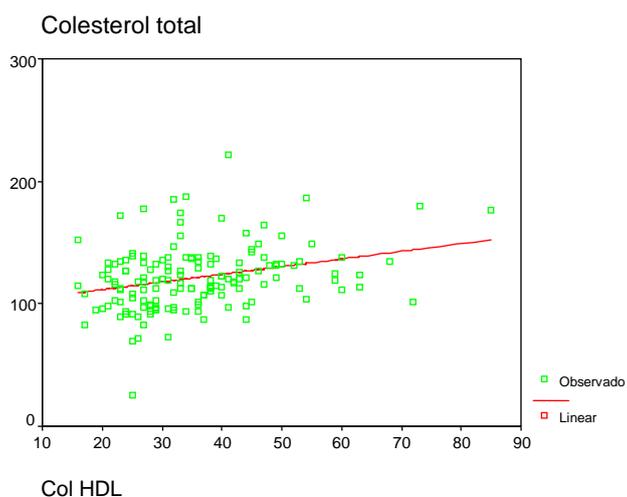


FIGURA 16 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol total e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p<0,001$ ).

A regressão linear foi estatisticamente significativa quando comparados os níveis séricos de colesterol VLDL e colesterol HDL,  $p=0,003$  (Figura 17).

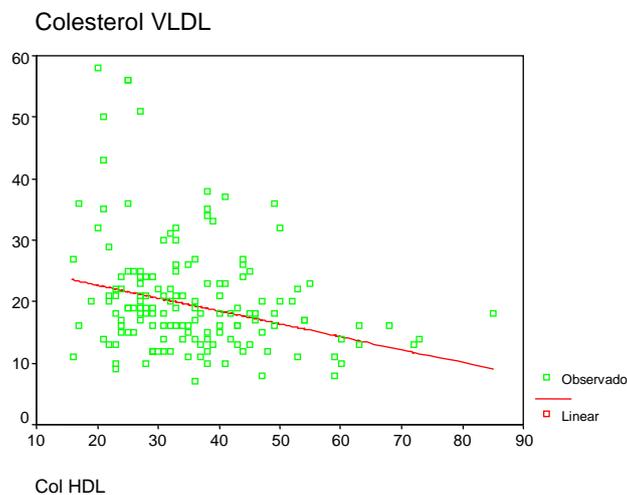


FIGURA 17 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol VLDL e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p=0,003$ ).

A regressão linear não foi estatisticamente significativa quando comparados os níveis séricos de colesterol LDL e colesterol HDL-c,  $p=0,312$  (Figura 18)

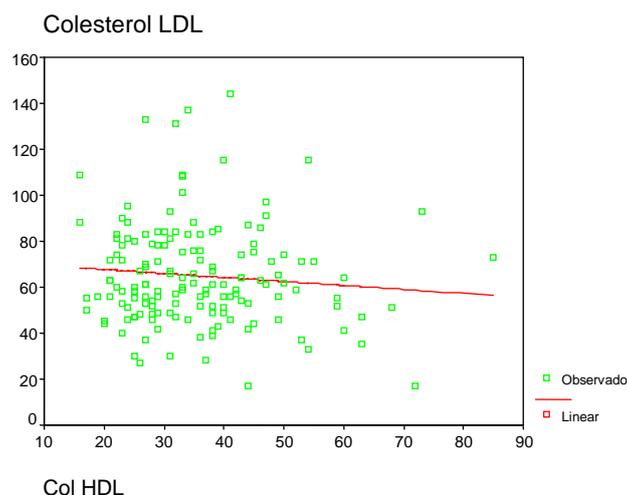


FIGURA 18 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de colesterol LDL e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p=0,312$ ).

A regressão linear entre níveis séricos de triglicerídeos e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme demonstrou uma correlação negativa com significância estatística,  $p=0,005$  (Figura 19). A regressão linear entre níveis séricos LDH e colesterol HDL demonstrou correlação negativa, no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p<0,001$  (Figura 20).

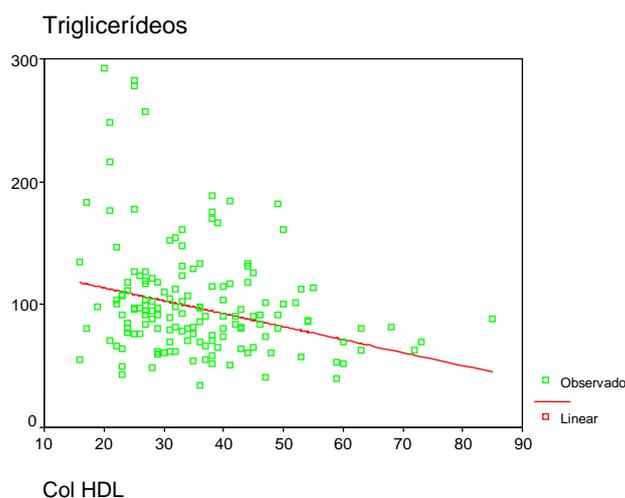


FIGURA 19 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de triglicerídeos e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p=0,005$ ).

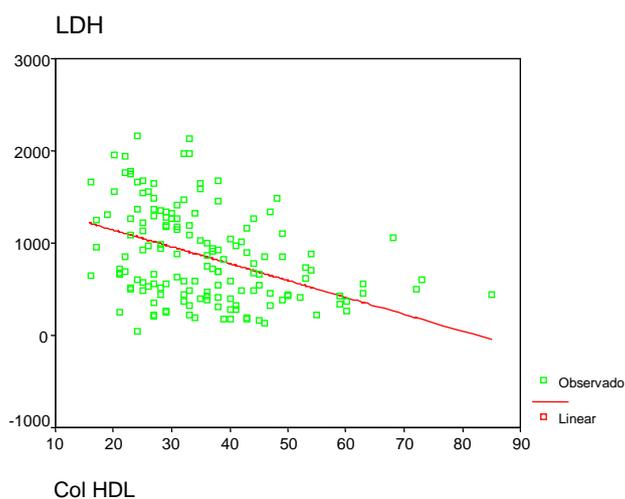


FIGURA 20 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de LDH e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p<0,001$ ).

A regressão linear entre a concentração de hemoglobina S e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme demonstrou correlação negativa com significância estatística,  $p=0,002$  (Figura 21).

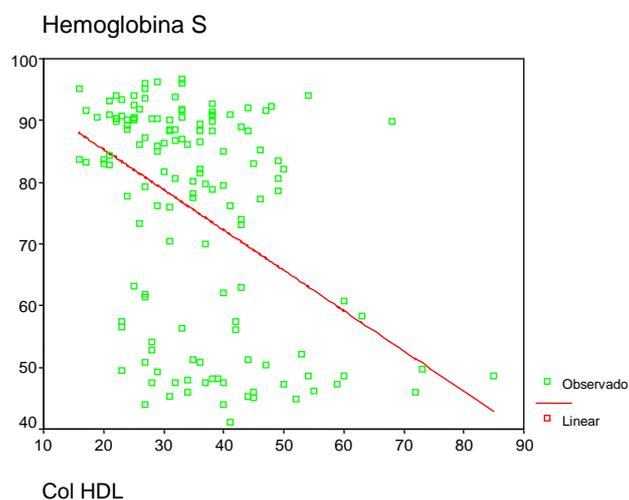


FIGURA 21 - Análise de regressão linear entre a concentração de hemoglobina S e níveis séricos de colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p=0,002$ ).

A regressão linear entre níveis séricos de alfa 1 antitripsina e colesterol HDL demonstrou correlação negativa, no grupo de pacientes com doença falciforme,  $p<0,001$  (Figura 22).

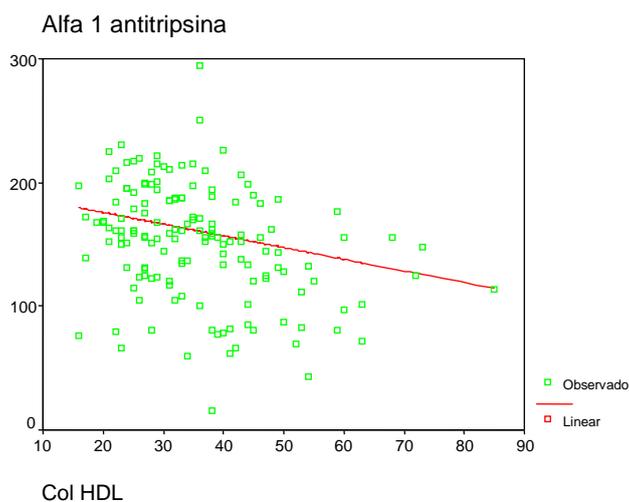


FIGURA 22 - Análise de regressão linear entre níveis séricos de alfa 1 antitripsina e colesterol HDL no grupo de pacientes com doença falciforme ( $p<0,001$ ).

## 6. DISCUSSÃO

A doença falciforme tem um quadro clínico heterogêneo, apresentando manifestações clínicas caracterizada por crises dolorosas e vaso-oclusivas, infecções recorrentes e lesão a múltiplos órgãos (GASTON *et al.*, 1986; STEINBERG *et al.*, 2001). No presente estudo as manifestações clínicas mais comumente encontradas no grupo de pacientes com doença falciforme em estado estável foram as crises vaso-oclusivas dolorosas, seguidas por infecções, alterações cardíacas, esplenomegalia, síndrome torácica aguda, priapismo, alterações ósseas e AVC.

Os processos infecciosos são freqüentes na doença falciforme, sendo que em indivíduos com anemia falciforme em idade menor que 5 anos, o risco de infecção é trinta vezes maior que em crianças da população geral (LOGGETO *et al.*, 1999). No presente estudo observou-se que 55,5% dos indivíduos com doença falciforme apresentaram pelo menos um evento de pneumonia, sendo que destes 47,2% faziam, no momento da entrevista, uso profilático de penicilinas. Esses resultados corroboram com Gaston e col. (1986) e Redding-Lallinger & Knoll (2006) que descreveram uma prevalência elevada de infecções bacterianas na infância, sendo que entre estas se destacava a pneumonia, osteomielite e meningite. Alguns estudos defendem que o uso profilático de penicilina oral tem sido associado à diminuição da incidência de infecções a partir dos 4 meses até os 5 anos de idade, diminuindo a morbidade e a mortalidade em crianças com doença falciforme (HORD *et al.*, 2002; QUINN *et al.*, 2004). Entretanto, De Montalemert (2003) descreve a ocorrência de infecções graves em crianças com anemia falciforme maiores de cinco anos em uso de profilaxia o que corrobora com os achados do nosso trabalho.

As determinações bioquímicas são importantes para o acompanhamento do desenvolvimento de doenças. No presente estudo foram realizadas as determinações

bioquímicas relacionadas ao perfil lipídico (colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicerídeos), hepáticas e de hemólise, determinação de uréia, creatinina, ferro sérico, ferritina, bilirrubinas totais e frações, proteínas totais e frações, LDH, PCRe, ASLO e alfa 1 antitripsina. As crianças com doença falciforme apresentaram diferenças significativas em praticamente todas as determinações bioquímicas quando comparados ao grupo controle. O fato de não terem sido encontradas diferenças quanto aos valores de creatinina e proteínas totais e frações pode ser associado ao fato das crianças que compuseram o grupo estarem com as suas funções renal e hepáticas ainda preservadas, ressaltando a importância do acompanhamento destas através da análise periódica desses marcadores.

A Hb F é um modulador clínico da doença falciforme, sendo amplamente estudada uma vez que níveis elevados dessa hemoglobina têm sido associados, constantemente a manifestações clínicas menos graves (PLATT *et al.*, 1991; POWARS *et al.*, 1994). No presente estudo os indivíduos que apresentaram níveis elevados de Hb F também apresentaram contagem maior de reticulócitos, leucócitos e plaquetas demonstrando que a Hb F, pode não estar participando ativamente da modulação dos fenômenos vaso-oclusivos. Estes resultados reforçam a existência de controvérsias quanto ao papel da Hb F como marcador irrestrito da gravidade clínica presente na doença falciforme, apoiando a idéia de que sua associação a outros marcadores é importante nessa complexa rede de eventos clínicos ocorridos na doença.

As crises vaso-oclusivas dolorosas foram relatadas nesse estudo como as manifestações mais frequentes. A vaso-oclusão é um fenômeno que leva a obstrução dos vasos sanguíneos no qual participam eritrócitos, leucócitos, plaquetas, células endoteliais e moléculas de adesão; para a ocorrência desse fenômeno há a participação de uma série de mediadores químicos produzidos por leucócitos e células endoteliais

que levam a um estado de estimulação do endotélio vascular (STEINBERG & RODGERS, 2001; OKPALA, 2004).

O papel importante dos leucócitos nas manifestações clínicas relacionadas a doença falciforme tem sido bastante relatado, sendo de importância fundamental a participação dos mesmos no processo vaso-oclusivo através da promoção do aumento da adesão ao endotélio vascular que juntamente com os eritrócitos levam a obstrução vascular (CANALLI *et al.*, 2004; OKPALA, 2004). A contagem total de leucócitos no grupo de crianças com doença falciforme participantes do estudo foi elevada, apresentando correlação negativa com dados hematológicos e positiva com a contagem de plaquetas, neutrófilos e monócitos. Além disso, a avaliação da correlação entre leucócitos totais e marcadores de hemólise e comprometimento hepático revelou ser positiva quando comparados a AST, e bilirrubina total e frações associando-os a hemólise e alterações do metabolismo hepático, uma vez que, a AST ocorre em outros tecidos além do fígado, como coração, rins, músculos e que quantidades adicionais da enzima são liberadas diretamente na corrente sanguínea após lesões tissulares. Kolita e col. (2005) descrevem um aumento das transaminases em indivíduos com doença falciforme, pediátricos e adultos, em estado estável, na Nigéria.

A infecção e a vaso-oclusão são duas manifestações clínicas importantes na doença falciforme, sendo que um processo infeccioso pode levar ao desenvolvimento de um fenômeno vaso-oclusivo (MAKIS *et al.*, 2000). Fatores individuais associados ao processo inflamatório crônico presente em pacientes com doença falciforme podem estar diretamente relacionados às infecções recorrentes. No presente estudo foi descrita uma correlação positiva entre a contagem de leucócitos e os níveis de PCRe e A1AT. Akinola e col. (1992) em estudo realizado em indivíduos com doença falciforme no Reino Unido relatam o aumento nos níveis séricos de PCRe e da LDH em indivíduos

em estado estável da doença. A análise dos dados revelou que indivíduos com níveis elevados de colesterol HDL apresentaram contagens menores de leucócitos, fato que pode estar relacionado a participação das partículas de HDL na adesão de leucócitos, na inibição da quimiotaxia de monócitos e adesão dos mesmos às moléculas ligadas ao endotélio vascular (NOFER *et al.*, 2002).

A HDL é uma lipoproteína acceptora no processo de transporte reverso do colesterol dos tecidos periféricos ao fígado, sendo eliminado pela via biliar (DUONG *et al.*, 2006). As propriedades anti-aterogênicas das moléculas de HDL são objeto de vários estudos (BODZIOCH *et al.*, 1999; BROOKS-WILSON *et al.*, 1999; ECKARDSTEIN & ASSMANN, 2000; ECKARDSTEIN *et al.*, 2001), sendo ainda possuidora de diversas outras funções. Nofer e col. (2002) propõem um modelo que busca ressaltar a participação de partículas de HDL na proliferação celular, na inibição da quimiotaxia de monócitos na adesão de leucócitos ao endotélio vascular através de moléculas de adesão como a VCAM-1, ICAM-1 e Selectina-E. A HDL exerce papel importante também no estímulo da resposta anti-inflamatória e anti-oxidante, além de exercer funções como anti-coagulante e pró-fibrinolítica. No presente estudo o encontro da associação inversa entre níveis de colesterol HDL e A1AT e contagem de leucócitos, monócitos e plaquetas sugere que na doença falciforme esse biomarcador pode ter um papel importante na regulação do processo inflamatório e vaso-oclusivo via a participação de leucócitos, em especial monócitos e plaquetas.

A diminuição na contagem de reticulócitos e o aumento na concentração de Hb F têm sido associados a danos crônicos menores a órgãos em crianças nos Estados Unidos (THORNBURG *et al.*, 2008). No grupo de indivíduos com doença falciforme observou-se que a contagem elevada de reticulócitos foi associada a anemia hemolítica mais grave, cursando com níveis elevados de bilirrubina total e frações e aumento nos

valores da LDH e níveis de Hb S. O aumento na contagem de plaquetas e leucócitos foi observado nos indivíduos com contagem elevada de reticulócitos. A correlação negativa entre o colesterol HDL e a contagem de reticulócitos ( $p=0,046$ ) foi ainda mais significativa quando o grupo dos pacientes foi categorizado entre aqueles que apresentavam concentração de colesterol HDL normal ou diminuída, sendo observadas contagens menores de reticulócitos entre os pacientes com níveis séricos de colesterol HDL normais. Esses achados reforçam os dados descritos no presente estudo, indicando que o colesterol HDL pode estar desempenhando papel importante nos fenômenos envolvidos na fisiopatogenia da doença falciforme.

A doença falciforme é reconhecida como uma doença inflamatória crônica (BELCHER et al., 2000; 2003; KLINGS & FARBER, 2001; JILSON et al., 2004), sendo descrito que os indivíduos com doença falciforme em crise apresentam níveis elevados de TNF- $\alpha$  e IL-6 quando comparados àqueles em estado estável. A correlação entre a porcentagem de reticulócitos e marcadores bioquímicos de inflamação não é bem descrita na literatura. No presente estudo observou-se correlação positiva significativa entre a PCR e A1AT e contagem de reticulócitos, sugerindo que estes podem ter um papel importante na manutenção do processo inflamatório crônico presente na doença falciforme, uma vez que estão diretamente relacionadas a presença de hemólise e conseqüentemente ao aumento do estresse oxidativo.

Marcadores novos vêm sendo descritos como moduladores da clínica da doença falciforme, entre eles destacam-se a LDH que está sendo associada ao quadro clínico de hiper-hemólise e hipertensão pulmonar (STEINBERG, 2005; KATO et al., 2007 TAYLOR VI et al., 2008). A média da LDH sérica nos indivíduos com doença falciforme do nosso estudo foi de  $858,22 \pm 503,81$  (VR = 207 a 414 U/L), sendo que está associada de maneira significativa ao aumento de biomarcadores relacionados à

hemólise, fato que corrobora com Taylor VI e col. (2008) que propõem a hiper-hemólise crônica intravascular como uma novo sub-fenótipo clínico associado aos níveis de LDH, ao estudar 700 pacientes nos Estados Unidos. Os dados aqui apresentados também revelaram correlação positiva entre a LDH e marcadores de função hepática, renal e metabolismo de lipídios, como o colesterol VLDL e triglicerídeos, sugerindo que esta enzima pode ser um marcador utilizado para avaliar o efeito da hemólise no comprometimento múltiplo de órgãos na doença falciforme.

A diminuição nos níveis de colesterol HDL é uma das alterações mais comumente observadas em indivíduos com relato de doença arterial coronariana prematura (BROOKS-WILSON *et al.*, 1999). Além de sua relação com problemas cardíacos, o metabolismo de lipídios vem sendo associado a outras patologias. Fiorenza e col. (2000) relatam, em estudo com 530 pacientes italianos com diversos tipos de câncer, que o perfil lipídico desses indivíduos é caracterizado por níveis baixos de colesterol LDL, colesterol HDL e níveis aumentados de triglicerídeos. O HDL tem propriedade anti-oxidativa atuando na inibição tanto da oxidação da LDL quanto nos efeitos aterogênicos da LDL oxidada (ECKARDSTEIN & ASSMANN, 2000). Os indivíduos com doença falciforme apresentaram correlação inversa com os níveis séricos de colesterol HDL e triglicerídeos e colesterol VLDL, mas não houve associação entre níveis de colesterol HDL e colesterol LDL nesse grupo.

O endotélio vascular regula a adesão e a passagem de leucócitos, contribuindo para a manutenção da superfície anti-trombogênica e regulação do tônus vasomotor (NOFER *et al.*, 2004). Os resultados apresentados no presente estudo demonstraram correlação negativa entre os níveis de colesterol HDL e a contagem de leucócitos o que pode evidenciar o papel protetor do colesterol HDL para o desenvolvimento de eventos vaso-oclusivos. Esse fato é reforçado pela associação inversa entre o colesterol HDL e

as plaquetas e níveis séricos de A1AT. Hassal e col. (1983) demonstram a relação entre a agregação plaquetária e as lipoproteínas afirmando que a LDL atuam como estimuladora da agregação plaquetária.

As alterações da função hepática na doença falciforme são difíceis de serem identificadas devido a sua origem multifatorial e de critérios diagnósticos pouco definitivos para esse grupo de indivíduos (HASSEL et al., 1994; BANERJEE *et al.*, 2001; AHN *et al.*, 2005). Isichei (1980) em estudo realizado com 84 crianças com anemia falciforme, na Nigéria, estudaram parâmetros bioquímicos relacionados a função hepática e observa que os valores das bilirrubinas totais e frações nesses indivíduos foram maiores quando comparados a crianças normais da mesma faixa etária. Os resultados do presente estudo demonstram que indivíduos em idade pediátrica com doença falciforme apresentam valores elevados de bilirrubina total e frações, ALT e AST quando comparados com crianças saudáveis da mesma idade, confirmando a presença de estados subclínicos de hemólise, mesmo no estado estável da doença.

O fígado desempenha um papel importante na produção e degradação de lipoproteínas sendo, que a diminuição da colesterol HDL em pacientes com cirrose não coleostática foi associada ao aumento do risco de desenvolvimento da doença (HABIB *et al.*, 2005). O colesterol HDL é formado por uma mistura heterogênea de lipoproteínas que diferem em estrutura e função e que são, assim como a HDL nascente, produzidas pelos hepatócitos e mucosa intestinal, ou dissociadas dos quilomícrons e VLDL durante a hidrólise mediada pela lipase hepática (ECKARDSTEIN & ASSMANN, 2000). Nas crianças com doença falciforme foi encontrada correlação negativa entre o colesterol HDL e a AST, bilirrubinas totais e frações, sugerindo que os indivíduos com níveis maiores de colesterol HDL têm um menor comprometimento hepático quando comparados àqueles com níveis diminuídos. Desta maneira, os indivíduos com doença

falciforme devem ser também acompanhados por um profissional de nutrição buscando a implementação de programas de orientação dietética.

A colelitíase e a coledocolitíase são alterações hepáticas secundárias a hemólise crônica e transfusões múltiplas, sendo que a excreção elevada e constante de bilirrubinas leva a formação de cálculos biliares. A colelitíase é mais freqüente em indivíduos homocigotos HbSS que nos demais portadores de hemoglobinopatias e sua prevalência aumenta com a idade (TRAINA & SAAD, 2007). No presente estudos observamos que níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL, colesterol VLDL e triglicérides estiveram associados a presença de litíase biliar. Desta maneira, sugere-se que indivíduos com DF sejam acompanhados quanto aos níveis séricos de colesterol total e frações e triglicérides, uma vez que estes podem estar juntamente com as bilirrubinas participando da gênese da litíase biliar na doença falciforme.

A proteína transferidora do éster colesteril (*cholesterol ester transfer protein* – CETP) desempenha papel importante no catabolismo do HDL, sendo que níveis elevados da CETP foram associados a níveis diminuídos de HDL (STEIN & STEIN, 1999). Os indivíduos com doença falciforme apresentaram níveis diminuídos de colesterol total, colesterol HDL e colesterol LDL quando comparados com os indivíduos controles, corroborando com os achados de Ramini e col. (2005) ao estudarem indivíduos com doença falciforme no Irã. Entretanto, o presente estudo revelou que as crianças com doença falciforme apresentaram níveis elevados de colesterol VLDL e triglicérides quando comparados ao grupo de controles da mesma faixa etária. Ressaltamos que os níveis séricos de triglicérides constituem um fator independente associado a alterações cardíacas, podendo constituir em marcador preditivo destas alterações, principalmente quando são encontrados constantemente elevados em crianças.

O aumento de agentes oxidantes decorrentes, entre outros fatores do metabolismo do ferro, do aumento da hemólise intravascular (REITER *et al.*, 2002) foi correlacionado ao aumento do consumo de óxido nítrico (NO) (ASLAN *et al.*, 2001), fato que pode reduzir ainda mais, nos indivíduos com DF, a capacidade anti-oxidante (GLADWIN *et al.*, 2003). Os mecanismos anti-oxidantes do organismo são mantidos através da obtenção de antioxidantes pela dieta como é o caso da vitamina E (SESS *et al.*, 1992; CHRISTEN *et al.*, 1997; JIANG & AMES, 2003; KASSAB-CHEKIR *et al.*, 2003). Os pacientes com doença falciforme apresentaram uma média dos níveis séricos de ferro maior que os controles; além disso, os níveis de ferro sérico apresentaram correlação positiva com os níveis de LDH e negativa com níveis séricos de colesterol HDL o que sugere que o esse biomarcador pode ser usado como um marcador de hemólise e pode ter função importante na alteração do metabolismo de lipoproteínas observada no presente estudo.

Ao serem analisados pacientes com níveis de colesterol HDL diminuídos (<40mg/dl) e aqueles com níveis normais ( $\geq$ 40mg/dl) observou-se que os pacientes com níveis diminuídos de colesterol HDL apresentaram diminuição das contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito quando comparados aos indivíduos com níveis normais; além disso, os pacientes com colesterol HDL diminuído apresentaram níveis elevados de bilirrubina total e frações e de LDH quando comparados ao grupo com valores normais; não foram observadas diferenças significativas entre os valores de colesterol LDL, ALT, uréia, creatinina ou hemoglobina fetal quando os dois grupos foram comparados. Nível diminuído de colesterol HDL é um fator importante de risco cardiovascular (WILSON *et al.*, 1999; ECKARDSTEIN & ASSMANN, 2000; ECKARDSTEIN *et al.*, 2000). A avaliação das manifestações clínicas revelou que os pacientes do grupo com níveis diminuídos de

colesterol HDL apresentaram aumento em eventos graves, como alterações cardíacas e pneumonia, além do aumento do uso de hemoderivados. Os mecanismos envolvidos na susceptibilidade a infecções recorrentes nos portadores de doença falciforme não estão totalmente esclarecidos (BONDS, 2005). O comprometimento funcional do baço é um dos fatores relacionado a predisposição a infecções nas crianças com doença falciforme. Já foi sugerida a associação entre produtos decorrentes da oxidação da LDL com a predisposição a infecções pneumocócica virulenta (NAVAB *et al.*, 2001) sendo que estes dois fatores podem estar atuando de forma sinérgica em indivíduos com doença falciforme.

Na doença falciforme, o empilhamento de eritrócitos dentro de micro capilares leva a episódios vaso-oclusivos, a isquemia de reperfusão e a danos a múltiplos sistemas de órgão, sendo que o controle ineficiente da anemia hemolítica e os ciclos repetitivos de infarto de órgão levam os indivíduos com doença falciforme a um quadro progressivo de vasculopatia e a falência de órgãos (PLATT *et al.*, 1994). Estudos vêm sendo desenvolvidos em indivíduos em idade adulta com doença falciforme visando avaliar a presença de alterações cardíacas e o estabelecimento dos melhores métodos para seu diagnóstico (COVITZ *et al.*, 1995; SACHDEV *et al.*, 2007; ALMEIDA *et al.*, 2008). No presente estudo os indivíduos com doença falciforme e níveis diminuídos de colesterol HDL apresentaram mais alterações cardíacas associadas a distúrbios eletrocardiográficos e ausculta quando comparados aqueles com níveis normais de colesterol HDL o que sugere que este biomarcador pode ter um papel importante nas alterações cardíacas na doença falciforme associado a falcização dos eritrócitos e dos eventos vaso-oclusivos.

O receptor scavenger classe B, tipo I é um receptor multifuncional que promove a retirada dos colesterol esteril da HDL; esse receptor é importante para a homeostase

do colesterol HDL e susceptibilidade à aterosclerose, mas também é importante para a manutenção da vida útil do eritrócito (MEURS *et al.*, 2005). A polimerização da Hb S e a desnaturação da Hb resultam em um dano oxidativo à membrana do eritrócito sendo que associado a esse fato temos alterações no equilíbrio de cátions o que resulta na desidratação e na falcização irreversível das hemácias (JOHNSON & TELEN, 2008). Os dados do presente estudo revelaram que crianças com doença falciforme que apresentam níveis diminuídos de colesterol HDL fizeram até 2,5 vezes mais uso de hemoderivados quando comparadas àquelas com valores normais de colesterol HDL, fato que pode ser decorrente dos efeitos anti-oxidantes atribuídos a HDL, conduzindo a uma clínica mais grave.

Os cuidados familiares, a atenção de especialista e o envolvimento dos pacientes são fundamentais para a prevenção e tratamento de eventos agudos e crônicos na doença falciforme (MEHTA *et al.*, 2006). Acredita-se que não foram observadas associações entre os níveis de colesterol HDL com outras manifestações clínicas devido a faixa etária dos pacientes objeto do estudo; entretanto, sugere-se que os parâmetros avaliados são fundamentais para o acompanhamento dos indivíduos com doença falciforme e que podem ter papel decisivo na compreensão da evolução clínica desses pacientes uma vez que vários achados importantes só foram demonstrados pelo presente estudo em idade pediátrica.

A mieloperoxidase é uma enzima encontrada nos lisossomos de neutrófilos e monócitos e sua deficiência vem sendo associada a processos inflamatórios crônicos (LONDON, 1997). Costa e col. (2005) relatam a associação entre o polimorfismo G-463A no gene da *MPO* e a presença de uma ou mais infecções bacterianas graves, sugerindo que o alelo mutante pode estar associado a susceptibilidade elevada a infecções em indivíduos com doença falciforme. No presente estudo não foi observada

associação entre a presença do alelo mutante para a *MPO* e infecções, mas observou-se que os indivíduos com a mutação possuíram níveis elevados de LDH, sugerindo que a *MPO* pode ter uma participação importante no desenvolvimento de hemólise na doença falciforme; este fato é reforçado pelos achados de associação entre a presença do alelo G-463A e níveis elevados de bilirrubina total, indireta, de ferro sérico; sugerindo que os níveis elevados dessas determinações bioquímicas podem ser resultantes do aumento do estresse oxidativo o que levaria ao aumento da hemólise e do processo inflamatório justificando dessa maneira, os níveis séricos elevados da PCR<sub>e</sub> nos indivíduos com doença falciforme e o alelo mutante para a *MPO*.

Os modelos estabelecidos na análise multivariada confirmaram o papel sinérgico de marcadores de risco no desenvolvimento de eventos clínicos ocorridos na doença falciforme, comprovando a importância do monitoramento desses no acompanhamento, principalmente de crianças com a doença.

Os resultados apresentados nesse estudo propõem que dosagens bioquímicas rotineiras podem ter um papel importante no acompanhamento da evolução clínica de indivíduos com doença falciforme, uma vez que temos achados significativos em grupos pediátricos sugerindo que o metabolismo dos lipídios tem papel importante na modulação dos eventos hemolítico, inflamatório e infeccioso na doença falciforme.

Estudos adicionais são necessários visando esclarecer os mecanismos através dos quais esses biomarcadores participam nos processos vaso-oclusivos, infecciosos e inflamatórios na doença falciforme, de maneira que possamos entender, especialmente o papel dos lipídios no estabelecimento do prognóstico clínico dos indivíduos com doença falciforme, bem como o seu papel na vida adulta.

## 7 – CONCLUSÕES

- A hemoglobina fetal revelou correlação direta com os marcadores de hemólise e contagens de leucócitos e plaquetas, não devendo ser considerada como biomarcador associado a danos teciduais ocorridos na doença falciforme;
- A contagem de reticulócitos demonstrou correlação direta com marcadores de hemólise, comprometimento hepático, inflamação, hemoglobinas, contagem de leucócitos, plaquetas e monócitos e inversa com colesterol HDL, podendo ser utilizada no acompanhamento dos eventos inflamatórios, alterações hepáticas e ativação vascular;
- A contagem de leucócitos foi diretamente correlacionada a determinações bioquímicas relacionadas a hemólise, comprometimento hepático, inflamação, contagem de segmentados e monócitos, concentração de Hb F e S, sugerindo que esse biomarcador possui papel importante nos eventos de hemólise, aumento de estresse oxidativo e ativação vascular presentes na doença falciforme;
- Os pacientes pediátricos com doença falciforme apresentam níveis diminuídos de colesterol total, HDL-c e LDL-c e níveis aumentados de VLDL-c e triglicerídeos quando comparados a crianças normais com perfil de hemoglobinas AA;
- O colesterol HDL apresentou correlação negativa com marcadores de hemólise, de inflamação, de comprometimento hepático, leucócitos, plaquetas e hemoglobina S; desta maneira o colesterol HDL pode ser utilizado para auxiliar no acompanhamento clínico dos indivíduos com doença falciforme, uma vez que pode representar um biomarcador envolvido em vários mecanismos presentes na doença;
- Os indivíduos com níveis séricos normais de colesterol HDL apresentaram um efeito protetor para o desenvolvimento de pneumonias, alterações cardíacas e uso de hemoderivados quando comparados àqueles com níveis diminuídos de col. HDL, sugerindo que o col. HDL desempenha um papel modulador nos eventos clínicos mais frequentes na doença falciforme;
- A LDH, no presente estudo, foi correlacionada diretamente a marcadores de hemólise, hepáticos, renais, inflamatório, colesterol VLDL e triglicerídeos,

sendo desta maneira, um bom marcador de hemólise e de dano a múltiplos órgãos em crianças com doença falciforme.

- Os triglicerídeos demonstraram uma associação direta com concentração de Hb S e marcadores hepáticos sendo correlacionados negativamente com a contagem de eritrócitos, concentração de hemoglobina e hematócrito, podendo ser considerados em níveis elevados como um marcador de anemia e de comprometimento hepático nesse grupo de pacientes. Além disso, o aumento dos níveis séricos de triglicerídeos constituiu-se em fator independente de risco para alterações cardiovasculares, devendo ser acompanhados;
- O colesterol total demonstrou uma correlação positiva com marcadores hepáticos, o que sugere que o comprometimento hepático na doença falciforme pode levar a uma alteração no metabolismo lipídico uma vez que o fígado desempenha um papel importante no catabolismo lipídico;
- O colesterol LDL correlacionou-se positivamente com a concentração de Hb S e AST e com a contagem de plaquetas, sugerindo sua relação a gravidade clínica maior e a possibilidade de dano hepáticos nos indivíduos com doença falciforme;
- A litíase biliar foi associada diretamente a níveis séricos de colesterol total, colesterol LDL e colesterol VLDL e triglicerídeos, sugerindo que estes biomarcadores podem estar associados, juntamente com os níveis séricos de bilirrubina total e frações na fisiopatogênese desta alteração;
- O colesterol VLDL foi associado diretamente a marcadores de hemólise, de comprometimento hepático, hemoglobinas, segmentados neutrófilos e ASLO, sugerindo que este pode ter um papel nos fenômenos de hemólise e infecciosos freqüentemente observados na doença falciforme;
- O alelo mutante para a *MPO* foi associado ao aumento de marcadores de hemólise, tais como LDH, bilirrubina total e indireta, sugerindo que a presença desse alelo possa ter influência nos eventos de hemólise apresentados por este grupo de pacientes.

## **8 - PERSPECTIVAS FUTURAS**

Compreender os mecanismos pelos quais o colesterol HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos e a LDH estão associados aos fenômenos vaso-oclusivos e estados inflamatórios e infecciosos em pacientes com doença falciforme, investigando a expressão de moléculas associadas ao metabolismo, bem como a sua possível utilização como biomarcadores de prognóstico da doença. Desta forma será ampliado o “N” do estudo, com a inclusão de indivíduos adultos, sendo realizados estudos de Biologia celular, visando compreender o papel da interação célula-mediadores inflamatórios.

## **9 - MODELO DE MECANISMO DE AÇÃO DO COLESTEROL HDL**

Com base nos resultados obtidos no presente estudo propomos um modelo de mecanismo associado a participação do colesterol HDL na doença falciforme.

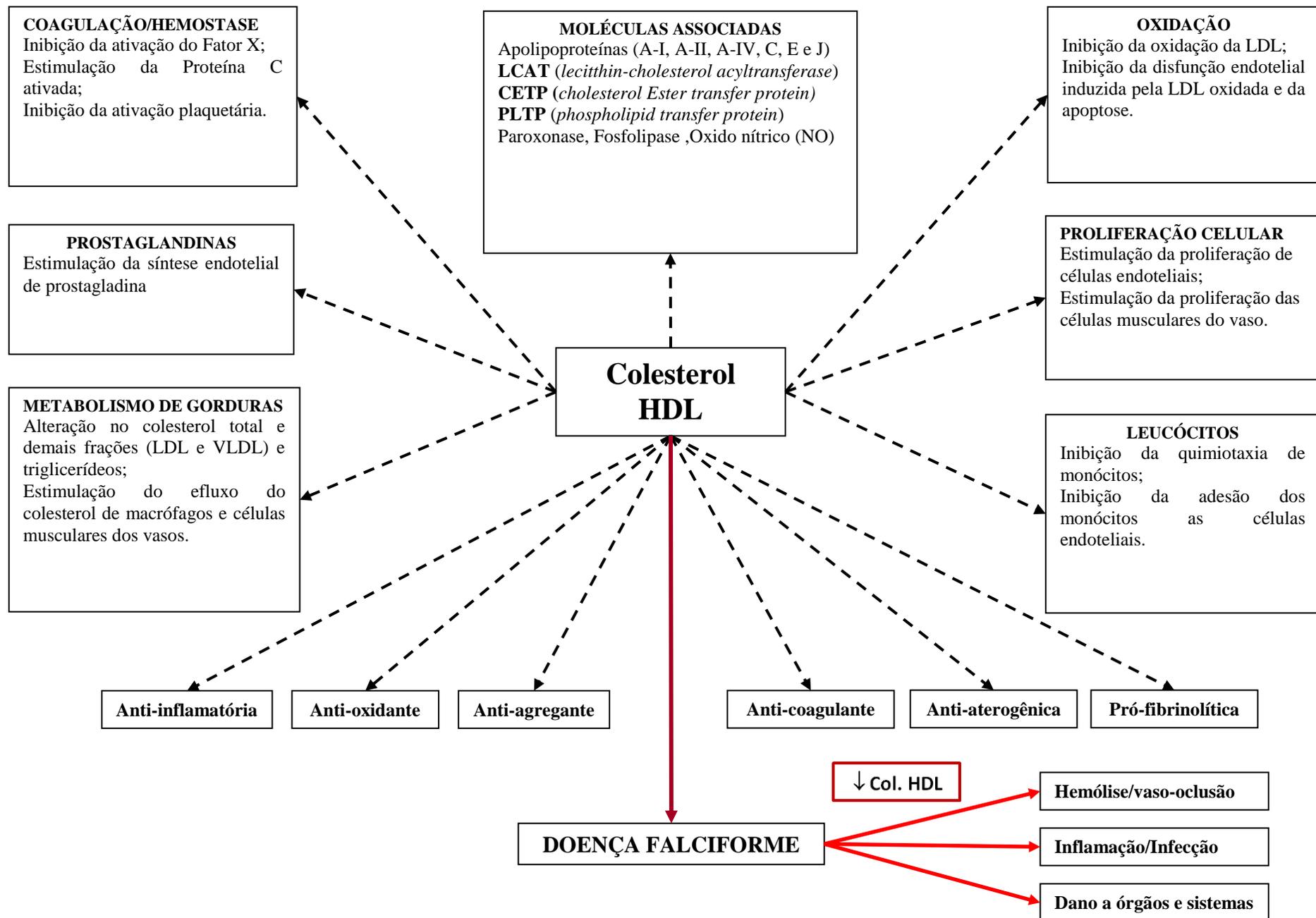


FIGURA 23 – Modelo de mecanismo associado a participação do colesterol HDL na doença falciforme.

## 10 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.J. TCD in sickle cell disease: an important and useful test. **Pediatr Radiol.**, v.35, n.(3), p.229-34, 2005

ADORNO, E.V.; COUTO, F.D.; MOURA NETO, J.P.; MENEZES, J.F.; REGO, M.; REIS, M.G; GONÇALVES, M.S. Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil. **Cad. Saude Publica**, v.21, p. 292-298, 2005.

AHN, H. LI, C.S.; WANG, W. Sickle cell hepatopathy: clinical presentation, treatment, and outcome in paediatric and adult patients. **Paediatr. Blood Cancer**, p.184-190, 2005.

AKINOLA, N.O.; STEVENS, S.M.E.; FRANKLIN, I.M.; NASH, G.B.; STUART, J. Subclinical ischaemic episodes during the steady state of sickle cell anaemia. **J. Clin. Pathol.**, v.45: p.902-906, 1992.

AKOHOUE, S.A.; SHANKAR, S.; MILNE, G.L.; MORROW, J.; CHEN, K.Y.; AJAYI, W.U.; BUCHOWSKI, M.S. Energy expenditure, inflammation, and oxidative stress in steady-state adolescents with sickle cell anemia. **Pediatr. Res.**, v.61: p.233–238, 2007.

ALEEM, A. Renal Abnormalities in Patients with Sickle Cell Disease: A Single Center Report from Saudi Arabia. **Saudi J. Kidney Dis. Transpl.**, v.19: p.194-9, 2008.

ALMEIDA, A. G.; ARAUJO, F.; REGO, F.; DAVID, C.; LOPES, M. G.; DUCLASOARES, J. Abnormal myocardial flow reverse in sickle cell disease: A Myocardial Contrast Echocardiography Study. *Echocardiography*, v.25, n.6, p.591-599, 2008.

ANTONARAKIS, S. E.; BOEHM, C. D.; SERJEANT, G. R.; THEISEN, C.E.; DOVER, G. J.; KAZAZIAN JUNIOR, H. H. Origin of the  $\beta^S$ -globin gene in blacks: the contribution of recurrent mutation or gene conversion or both. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.81, p. 853-856, 1984.

ARAUJO, M.C.; SERAFIM, E.S.; DE CASTRO JR, W.A.; DE MEDEIROS, T.M. Prevalence of abnormal hemoglobins in newborns in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. **Cad. Saúde. Publica.**, v.20: p.123-128, 2004.

ASLAN, M.; FREEMAN, B. A.; Redox-Dependent impairment of vascular function in sickle cell disease. **Free. Radic. Biol. Med.**, v.43 n.11: p.1469-1483, 2007.

ASLAN, M.; RYAN, T.M.; ADLER, B.; TOWNES, T.M.; PARKS, D.A.; THOMPSON, J.A.; TOUSSON, A.; GLADWIN, M.T.; PATEL, R.P.; TARPEY, M.M.; BATINIC-HABERLE, I.; WHITE, C.R.; FREEMAN, B.A.; Oxygen radical inhibition of nitric oxidedependent vascular function in sickle cell disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the Unites States of América**, v.98: p.15215–15220. 2001.

AZEVEDO, E.S.; ALVES, A.F.P.; SILVA, M.C.B.O.; SOUZA, M.G.F.; LIMA, A.M.V.M.D.; AZEVEDO, W.C. Distribution of abnormal hemoglobins and glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in 1200 school children of Bahia, Brazil. **Am. J. Phys. Anthropol.**, v.53: p.509-512, 1980.

BALLAS, S.K.; MOHANDAS, N. Pathophysiology of vaso-occlusion. **Hematol. Oncol. Clin. North. Am.**, v.10, n.6: p.1221-39. 1996

BALLAS, S.K. Treatment of painfulsickle cell leg ulcers with topical opioids. **Blood**, v.99, p.1096, 2002.

BANDEIRA, F.M.G.C.; LEAL, M.C.;SOUZA, R.R.; FURTADO, V.C.; GOMES, Y.M.; MARQUES, N.M. Características de recém-nascidos portadores de hemoglobina "S" detectados através de triagem em sangue de cordão umbilical. **J. Pediatr., Rio de Janeiro**, v.75: p.167-171, 1999.

BANERJEE, S.; OWEN, C.; CHOPRA, S. Sickle cell hepatopathy. **Hepatology**, v.33: p.1021-1028, 2001.

BELCHER, J.D.; MARKER, P.H.; WEBER, J.P. HEBEL, R.P.; VERCELLOTTI, G.M. Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular endothelium and vaso-occlusion. **Blood**, v.96: p.2451-2459, 2000.

BELCHER J.D.; BRYANT, C.J.; NGUYEN, J.; BOWLIN, P.R.; KIELBIK, M.C.; BISCHOF, J.C.; HEBBEL, R.P., VERCELLOTTI, G.M.; Transgenic sickle mice have vascular inflammation. **Blood**, v.101: p.3953-3959, 2003.

BODZIOCH, M.; ORSÓ, E.; KLUCKEN, J.; LANGMANN, T.; BÖTTCHER, A.; DIEDERICH, W.; DROBNIK, W.; BARLAGE, S.; BÜCHLER, C.; PORSCH-OZCÜRÜMEZ, M.; KAMINSKI, W.E.; HAHMANN, H.W.; OETTE, K.; ROTHE, G.; ASLANIDIS, C.; LACKNER, K.J.; SCHMITZ, G. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. **Nature genetics**, v.22: p.347-351, 1999.

BOEHM, C. D.; DOWLING, C. E.; ANTONARAKIS, S. E.; HONIG, G. R.; Jr KAZAZIAN, H. H. Evidence Supporting a Single Origin of the  $\beta^C$ -Globin Gene in Blacks. **Am. J. Hum. Genet.**, v.37: p.771-777, 1985.

BONDS, D.R. Three decades of innovation in the management of sickle cell disease: the road to understanding the sickle cell disease clinical phenotype. **Blood Reviews**, v.19, n.2: p.99-110, 2005.

BRANDELISE, S.; PINHEIRO, V.; GABETTA, C.S.; HAMBLETON, I.; SERJEANT, B.; SERJEANT, G. Newborn screening for sickle cell disease in Brazil: the Campinas experience. **Clin. Lab. Haematol.**, v. 26, p.15-19, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes**. Brasília (DF): ANVISA, p10 – 11, 2002.

BRASIL, Ministério da Saúde. Doença falciforme e outras hemoglobinopatias, <http://portal.saude.gov.br/portal/saude>, 2008. Acesso em: 11 de novembro de 2008.

BROOKS-WILSON, A.; MARCIL, M.; CLEE, S.M.; ZHANG, L.H.; ROOMP, K.; DAM, M.V.; YU, L.; BREWER, C.; COLLINS, J.A.; MOLHUIZEN, H.O.F.; LOUBSER, O.; OUELETTE, B.F.F.; FICHTER, K.; ASHBOURNE-EXCOFFON, K.J.D.; SENSEN, C.W.; SCHERER, S.; MOTT, S.; DENIS, M.; MARTINDALE, D.; FROHLICH, J.; MORGAN, K.; KOOP, B.; PIMSTONE, S.; KASTELEIN, J.J.P.; GENEST, J.R.; HAYDEN, M.R. Mutations in ABC1 in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency. **Nature genetics**, v.22: p.336-345, 1999.

BUNN, H.F.; FORGET, B.G. **Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects**. Philadelphia, PA.: Saunders, 1nd edition, 1986.

BUNN, H..F. Sickle hemoglobin and other hemoglobin mutants. In: STAMATOYANNOPOULOS, G.; NIENHUIS, A.W., MAJERUS, P.W.; VARNUS, H. **The molecular basis of blood diseases**. 2. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994, cap. 6, p. 207-256.

BUNN, HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 337, p. 762-769, 1997;

BURNETT, A. L. Pathophysiology of priapismo: dysregulatory erection physiology thesis. **J. Urol.**, v. 170, p.26-34, 2003

CANALLI, A.A.; CONRAN, N.; FATTORI, A.; SAAD, S.T.; COSTA, F.F. Increased adhesive properties of eosinophil in sickle cell disease. **Exp. Hematol.**, v.32, n.8, p 728-34, 2004.

CEHMOB-MG, Centro de Educação e Apoio para Hemoglobinopatias. **Protocolo de Atendimento de Eventos Agudos da Doença Falciforme**. CEHMOB-MG, Belo Horizonte - MG, 2005, p.01-27.

CHARACHE, S.; TERRIN, M.L.; MOORE, R.D.; DOVER, G.J.; BARTON, F.B.; ECKERT, S.V.; MCMAHON, R.P.; BONDS, D.R. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. **N. Engl. J. Med.**, v. 332, n. 20, p.1317-22. 1995.

CHAMPION, H. C.; BIVALACQUA, T. J.; TAKIMOTO, E.; KASS, D. A.; BURNETT, A. L. Phosphodiesterase-5A dysregulation in penile erectile tissue is a mechanism of priapismo. **PNAS**, v.102, p.1661-1666, 2005.

CHRISTEN, S.; WOODALL, A.A.; SHIGENAGA, M.K.; SOUTHWELL-KEELY, P.T.; DUNCAN, M.W.; AMES, B.N.; Gammatocopherol traps mutagenic electrophiles such as NO(X) and complements alphotocopherol: physiological implications. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of América**, 94v.: p.3217–3222, 1997

CONRAN, N.; FATTORI, A.; SAAD, S.T.; COSTA, F.F. Increased levels of soluble ICAM-1 in the plasma of sickle cell patients are reversed by hydroxyurea. **Am. J. Hematol.**, v. **76**, p. 343-347, 2004.

COSTA, F. F.; ARRUDA, V.R.; GONCALVES, M. G.; MIRANDA, S. R.; CARVALHO, M. H.; SONATI, M. F.; SAAD, S. O.; GESTEIRA, F.; FERNANDES, D.; NASCIMENTO, M. L. Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia from two regions of Brazil. **Am. J. Hematol.**, v.45, p.96-97, 1994.

COSTA, F.F. Anemia Falciforme. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e Prática**. 1 ed rev. atual., São Paulo: Atheneu, 2004. cap. 30, p. 289-308.

COSTA R.N.; CONRAN N.; ALBUQUERQUE D.M.; SOARES P.H.; SAAD, S.T.; COSTA, F.F. Association of the G-463A myeloperoxidase polymorphism with infection in sickle cell anemia. **Haematologica**, v.**90**, n.7: p.977, 2005.

COVITZ, W.; ESPELAND, M.; GALLAGHER, D.; HELLENBRAND, W.; LEFF, S.; TALNER, N. The Heart in Sickle Cell Anemia. **Chest.**, v.108: p.1214-1219, 1995.

DE LA ROSA, C.; LARA, B.; VILÁ, S.; MIRAVITLLES, M.  $\alpha_1$ - Antitrypsin deficiency: situation in Spain and development of a screening program. **Arch. Bronconeumol.**, v.**42**, n.6: p.290-298, 2006.

DE MONTALEMBERT, M. Antibiotic prophylaxis against bacterial infections in the hyposplenic and asplenic child. **Presse. Med.**, v.6, n32 (28 Suppl.): p.15-16, 2003.

DOVER, G.J.; PLATT, O.R.A.H. Sickle Cell Disease In: NATAN, D.G.; ORKIN, S.H.; **Hematology of Infancy and Childhood**, 5 ed , WB Saunders Company, 1988. p.762-802.

DUONG, P.T.; COLLINS, H.L.; NICKEL, M.; LUND-KATZ, S.; ROTHBLAT G.H.; PHILLIPS M.C. Characterization of nascent HDL particles and microparticles formed by ABCA1-mediated efflux of cellular lipids to ApoA-I. **J. Lipid. Research.**, v.47, p.832-843, 2006.

ECKARDSTEIN, A.V.; ASSMANN, G. Prevention of coronary heart disease by raising high-density lipoprotein cholesterol? **Therapy and clinical trials**, v.11: p.627-637, 2000.

ECKARDSTEIN, A.V.; NOFER, J.R.; ASSMANN, G. High density lipoproteins and arteriosclerosis: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.21: p.13-27, 2001.

FABRY, M.E.; KAUL, D.K. Sickle cell vaso-occlusion. **Hematol. Oncol. Clin. North. Am.**, v.5, n.3: p.375-98. 1991.

FIORENZA, A.M.; BRANCHI, A.; SOMMARIVA, D. Serum lipoprotein profile in patients with cancer. A comparison with non-cancer subjects. **Int. J. Clin. Lab. Res.**, v.30, n.3: p.141-145, 2000.

FRANCIS JUNIOR, R.B.; HAYWOOD, L.J. Elevated immunoreactive tumor necrosis factor and interleukin-1 in sickle cell disease. **J. Natl. Med. Assoc.**, v.84: p.611-615, 1992.

GALIZA NETO, G.C. & PITOMBEIRA, M.S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v.39, n.1: p.51-56, 2003.

GASTON, M.H.; VERTER, J.I.; WOODS, G.; PEGELOW, C.; KELLEHER, J.; PRESBURY, G.; ZARKOWSKY H.; VICHINSKY, E.; IYER, R.; LOBEL, J.S. Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia. A randomized trial. **N. Engl. J. Med.**, v.314, n.25: p.1593-9, 1986.

GLADWIN, M.T.; SCHECHTER, A.N.; OGNIBENE, F.P.; COLES, W.A.; REITER, C.D.; SCHENKE, W.H.; CSAKO, G.; WACLAWIW, M.A.; PANZA, J.A.; CANNON, R.O.III. Divergent nitric oxide bioavailability in men and women with sickle cell disease. **Circulation**, v.107, p271-278, 2003.

GONCALVES, M. S.; NECHTMAN, J. F.; FIGUEIREDO, M. S.; KERBAUY, J.; ARRUDA, V. R.; SONATI, M. F.; SAAD, S. O.; COSTA, F. F.; STOMING, T. A. Sickle cell disease in a Brazilian population from Sao Paulo: a study of the beta s haplotypes. **Hum. Hered.**, v.44, p.322-327, 1994.

HABIB, A.; MIHAS, A.A.; ABOU-ASSI, S.G.; WILLIAMS, L.M.; GAVIS, E.; PANDAK, W.M. HEUMAN, D.M. High- density lipoprotein cholesterol as na indicator of liver function and prognosis in noncholestatic cirrhotics. **Clin. Gastroenterol. Hepatol.**, v.3, n.3, p.286-291, 2005.

HASSALL, D.G.; OWEN, J.S. BRUCKDORFER, R. The aggregation of isolated human platelets in presence of lipoproteins and prostacyclin. **Biochem. J.**, v.216, p.43-49, 1983.

HASSELL, K.L.; ECKMAN, J.R.; LANE, P.A. Acute multiorgan failure syndrome: a potentially catastrophic complication of severe sickle cell pain episodes. **Am. J. Med.**, v.96, p.155-162, 1994.

HEBBEL, R.P.; OSAROGIAGBON, R.; KAUL, D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. **Microcirculation**, v.11, p.129–151, 2004.

HEBBEL, R.P.; VERCELLOTTI, G.M. The endothelial biology of sickle cell disease. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 129, p. 288-293. 1997.

HORD, J.; BYRD, R.; STOWE, L.; WINDSOR, B.; SMITH-WHITLEY, K. *Streptococcus pneumoniae* sepsis and meningitis during the penicilin prophylaxis in children with sickle cell disease. **J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v.24, n.6, p.470-472, 2002.

ISICHEI, U. Liver function and the diagnostic significance of biochemical changes in the blood of African children with sickle cell disease. **J. Clin. Pathol.**, v.33, p.626-630, 1980.

JIANG, Q.; AMES, B.N. Gamma-tocopherol, but not alphatocopherol, decreases proinflammatory eicosanoids and inflammation damage in rats. **FASEB Journal**, v.17, p.816-822, 2003.

JILSON, M.L.; MUNSON, P.J.; BARB, J.J.; SUFFREDINNI, A.F.; TALWAR, S. LOGUN, C.; RAGHAVACHARI, N.; BEIGEL, J.H.; SHELFHAMER, J.H.; DANNER, R.L.; GLADWIN, M.T. Blood mononuclear cell gene expression profiles characterize the oxidant, hemolytic, and inflammatory stress of sickle cell disease. **Blood.**, v.104, p.270-280, 2004.

JOHNSON, C.; TELEN, M.J. Adhesion molecules and hydroxyurea in the pathophysiology of sickle cell disease. **Haematologica**, v.93, n.4, p.481-486, 2008.

JONES, A. K. B. & POON, A. Evaluation of Single-Tube Multiplex Polymerase Chain Reaction Screen for Detection of Common alpha-Thalassemia Genotypes in a Clinical Laboratory. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.118, p.18-24, 2002.

KASSAB-CHEKIR, A.; LARADI, S.; FERCHICHI, S.; HAJ KHELIL, A.; FEKI, M.; AMRI, F.; SELMI, H.; BEJAOU, M.; MILED, A. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. **Clinica Chimica Acta**, v.338, p.79-86, 2003.

KATO, G.J.; MCGOWAN, V.; MACHADO, R.F.; LITTLE, J.A.; TAYLOR, J. 6TH.; MORRIS, C.R.; NICHOLS, J.S.; WANG, X.; POLJAKOVIC, M.; MORRIS, S.M. JR.; GLADWIN, M.T. Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. **Blood.**, v.107, n.6, p.2279-85, 2006.

KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. **Blood. Ver.**, v.21, n.1, p.37-47, 2007

KAUL, D. K.; FABRY, M. E.; NAGEL, R. L. Microvascular sites and characteristics of sickle cell disease adhesion to vascular endothelium in shear flow conditions: pathophysiological implications. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.86, p.3356-3360, 1989.

KAUL, D. K; HEBBEL, R. P. Hypoxia/reoxygenation causes inflammatory response in transgenic sickle mice but not in normal mice. **J. Clin. Invest.**, v. 106, p.411-420, 2000.

KLINGS, E.S.; FARMER, H.W. Role of free radicals in the pathogenesis of acute chest syndrome in sickle cell disease. **Respiratory Research**, v.2, p.208-285, 2001.

KOOLMAN, J.; ROEHM, K.H. **Color Atlas of Biochemistry**. New York: Thieme, 2nd edition, 2005.

KOTILA, T.; ADEDAPO, K.; ADEDAPO, A.; OLUWASOLA, O.; FAKUNLE, E.; BROWN, B. Liver dysfunction in steady state sickle cell disease. **Ann. Hepatol.**, v.4, n.4, p.261-3, 2005.

KUMAR, V.; KHAN, M. M.; KHANNA, A. K.; SINGH, R. Lipid lowering activity of *Anthocephalus indicus* Root in hiperlipidemic Rats. **eCAM**, february, 2008.

KUTLAR, A. Sickle cell disease: multigenic perspective of a single-gene disorder. **Med. Princ. Prat.**, v. 14, p.15-19, 2005.

KUYPERS, F. A. Membrane Lipid Alterations in Hemoglobinopathies. **Am. Soc. Hematol.**, p.68-73, 2007.

LEE, G. R.; BITHELL, T. C.; FOERSTER, J.; ATHENS, J. W.; LUKENS, J. N. **Wintrobe's Clinical Hematology**. Philadelphia: - London. Lea & Febirger, 9ed, 1992.

LOGGETTO, S.R.; PELEGRINI-BRAGA, J.A.; COSTA-CARVALHO, B.T.; SOLÉ, D. Alterações imunológicas em pacientes com anemia falciforme. **Rev. Bras. Alerg. Imunopatol.**, v.22, p.77-82, 1999.

LONDON, S.J.; LEHMAN, T. A.; TAYLOR, J.A. Myeloperoxidase genetic polymorfisms and lung cancer risk. **Cancer. Res.**, v.57, p.5001-3, 1997.

LYRA, I. M.; GONCALVES, M. S.; BRAGA, J. A.; GESTEIRA, M. de F.; CARVALHO, M. H.; SAAD, S. T.; FIGUEIREDO, M. S.; COSTA, F. F. Clinical, hematological and molecular characterization of sickle cell anemia in pediatric patients from two different cities in Brazil. **Cad. Saude Publica**, v.21, p.1287-1290, 2005.

MAKIS, A.C.; HATZIMICHAEL, E.C.; MAVRIDIS, A.; BOURANTAS, K.L. Alpha-2-macroglobulin and interleukin-6 levels in steady-state sickle cell disease patients. **Acta. Haematol.**, v.104, p.164–168, 2000.

MEHTA, S.R.; AFENYI-ANNAN A.; BYRNS P.J.; LOTTENBERG, R. Opportunities to improve outcomes in sickle cell disease. **Am. Fam. Physician.**, v.74, n.2, p.303-10, 2006.

MEURS, I.; HOEKSTRA, M.; VAN WANROOIJ, E.J.A.; HILDEBRAND, R.B.; KUIPER, J.; KUIPERS, F.; HARDEMAN, M.R.; VAN BERKEL, T.J.C.; VAN ECK, M. HDL cholesterol levels are an important factor for determining the lifespan of erythrocytes. **Exp. Hematol.**, v.33, n.11, p.1309-1319, 2005.

MICHAELS, L.A.; OHENE-FREMPOG, K.; ZHAO, H.; DOUGLAS, S.D. Serum levels of substance P are elevated in patients with sickle cell disease and increase further during vaso-occlusive crisis. **Blood.**, v.92, p.3148–3151, 1998.

MODELL, B.; DARLISON, M. Global Epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. **Bull. World Health Organ.**, v.86, n.6, 2008.

NAGEL, R.L. The origin of the hemoglobin S gene: clinical, genetic and anthropological consequences. **Einstein. Quart. J. Biol. Med.**, v. 2, p. 53-62, 1984.

NAGEL, R.L.; STEINBERG, M.H. Role of epistatic (modifier) genes in the modulation of the phenotypic diversity of sickle cell anemia. **Pediatr Pathol Mol Med.**, v.20, n.2, p.123-136, 2001.

NAGEL, R. L.; Hemoglobinopathies due to structural mutations. In: PROVAN, D. & GRIBBEN, J. (eds). **Mol. Hematol.**, 2nd ed, Massachusetts – USA, Blackwell Publishing, 2005. p.159-172.

NAVAB, M.; BERLINER, J.A.; SUBBANAGOUNDER, G.; HAMA, S.; LUSIS, A.J.; CASTELLANI, L.W.; REDDY, S.; SHIH, D.; SHI, W.; WATSON, A.D.; VAN LENTEN, B.J.; VORA, D.; FOGELMAN, A.M. HDL and the inflammatory response induced by LDL-derived oxidized phospholipids. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.21, n.4, p.481-488, 2001.

NIH. National Institute of Health. **The Management of Sickle Cell Disease**, NIH Publication, n.02-2117, p.59-74, 2002.

NOFER, J.R.; VAN DER GIET, M.; TÖLLE, M.; WOLINSKA, I.; VON WNUCK LIPINSKI, K.; BABA, H.A.; TIETGE, U.J.; GÖDECKE, A.; ISHII, I.; KLEUSER, B.; SCHÄFERS, M.; FOBKER, M.; ZIDEK, W.; ASSMANN, G.; CHUN, J.; LEVKAU, B. HDL induces NO-dependent vasorelaxation via the lysophospholipid receptor S1P3. **J. Clin. Invest.**, v.113, n.4, p.569-581, 2004.

NOFER, J.R.; KEHREL, B.; FOBKER, M.; LEVKAU, B.; ASSMANN, G.; VON ECKARDSTEIN, A. HDL and arteriosclerosis: beyond reverse cholesterol transport. **Atherosclerosis**, v.161, n.1, p.1-16, 2002.

OHENE-FREMPONG, K.; STEINBERG, M.H. Clinical aspects of sickle cell anemia in adults and children. In: STEINBERG, M.H.; FORGET, B.G.; HIGGS, D.R.; NAGEL, R (eds.): **Disorders of hemoglobin-genetics, pathophysiology and clinical management**. New York: Cambridge University press, 2001 p. 611-670.

OHENE-FREMPONG, K.; WEINER, S.J.; SLEEPER, L.A. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease, rates and risk factors. **Blood.**, v.91, n.1, p.288-294,1998.

OKPALA, I. The intriguing contribution of white blood cells to sickle cell disease – a red cell disorder. **Blood.**, v.18, p. 65-73, 2004.

PLATT, O.S.; THORINGTON, B.D.; BRAMBILLA, D.J.; MILNER, P.F.; ROSSE, W.F.; VICHINSKY, E.; KINNEY, T.R. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. **N. Engl. J. Med.**, v. 325, p.1747-1748, 1991.

PLATT, S.O.; BRAMBILLA, J.D.; ROSSE, F.W.; MILNER, F.P.; CASTRO, O.; STEINBERG, H.M.; KLUG, P.P. Mortality in sickle cell disease – Life expectancy and risk factors for early death. **New. Engl. J. Med.**, v.330, p.1639-1644,1994.

POWARS, D.R. Beta s-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.**, v. 5, n. 3, p. 475-493, 1991.

POWARS D.R.; CHAN L.S.; HITI A., RAMICONE E.; JOHNSON C. Outcome of sickle cell anemia: a 4-decade observational study of 1056 patients. **Medicine**, v. **84**, n.6, p.363-76, 2005

POWARS, D.R.; MEISELMAN, H. J.; FISHER, T.C.; HITI, A.; JOHNSON, C.; Beta-S gene cluster haplotypes modulate hematologic and hemorheologic expression in sickle cell anemia. Use in predicting clinical severity. **Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, v.16, p.55-61, 1994.

QUINN, C.T.; ROGERS, Z.R.; BUCHANAN, G.R. Survival of children with sickle cell disease. **Blood.**, v.103, n.11, p.4023-4027, 2004.

RAHGOZAR, S.; POORFATHOLLAH, A.A.; MOAFI, A.R.; OLD, J.M  $\beta^S$  Gene in Central Iran is in linkage disequilibrium with the Indian-Arab Haplotype. **Am. J. Hematol.**, v. **65**, p. 192-195, 2000.

RAHIMI, Z.; MERAT, A.; HAGHSHENASS, M.; MADANI, H.; REZAEI, M.; NAGEL, R. L. Plasma lipids in Iranians with sickle cell disease: Hypocholesterolemia in sickle cell anemia and increase of HDL-cholesterol in sickle cell trait. **Clin. Chim. Acta.**, v.365, p.217-220, 2006.

RAMALHO A.S. As hemoglobinopatias hereditárias: um problema de saúde pública no Brasil. Ribeirão Preto: **Soc. Bras. Genetica.**, 1986.

REDDING-LALLINGER, R.; KNOLL, C. Sickle cell disease--pathophysiology and treatment. **Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care**, v. 36, n. 10, p. 346-76, 2006.

REITER, C.D.; WANG, X.; TANUS-SANTOS, J.E.; HOGG, N.; CANNON, R.O. JR, SCHECHTER, A.N.; GLADWIN, M.T. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. **Nat. Med.**, v.8, p.1383– 1389. 2002.

SACHDEV, V.; MAHADO, R. F.; SHIZUKUDA, Y.; RAO, Y. N.; SIDENKO, S.; ERNST, I.; PETER, M. St.; COLES, W. A.; ROSING, D. R.; BLACKWELDER, W. C.; CASTRO, O.; KATO, G. J.; GLADWIN, M. T. Diastolic Dysfunction is an Independent risk Factor for Death in Patients with Sickle Cell Disease. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v.49, n.4, p.472-479, 2007.

SERJEANT, G. R.; SERJEANT, B. E.; MOHAN, J. S.; CLARE, A. Leg ulceration in sickle cell disease: medieval medicine in a modern world. **Hematol. Oncol. Clin. North. Am.**, v.19, p.943-956, 2005.

SESS, D.; CARBONNEAU, M.A.; THOMAS, M.J.; DUMON, M.F.; PEUCHANT, E.; PERROMAT, A.; LE BRAS, M.; CLERC, M. First observations on the main plasma parameters of oxidative stress in homozygous sickle cell disease. **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v.85, p.174–179, 1992.

SILVA WS; LASTRA A; OLIVEIRA SF; KLUTAU-GUIMARÃES N; GRISOLIA CK. Avaliação da cobertura do programa de triagem neonatal de hemoglobinopatias em populações do Recôncavo Bahiano, Brasil. **Cad. Saude. Publica.**, v. **22**, p. 2561-2566, 2006.

SONATI, M.F. COSTA, F.F. The genetics of blood disorders: the hereditary hemoglobinopatias. **J. Pediat.**, v.84; supl.4, 2008 .

SONATI, M.F.; FARAH, S.B.; RAMALHO, A.S.; COSTA, F.F: High prevalence of  $\alpha$ -Thalassemia in a black population of Brazil. **Hemoglobin.**, v. 15, p. 309-311, 1991.

STEIN, O. & STEIN, Y. Atheroprotective mechanisms of HDL. **Atherosclerosis**, v.144, p.285-301, 1999.

STEINBERG, M.H: Genetic modulation of sickle cell anemia. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. **209**, p. 1-13, 1995.

STEINBERG, M.H.; RODGERS, G. P. Pathophysiology of sickle cell disease: role of cellular and genetic modifiers. **Semin. Hematol.**, v. **38**, n. 4, p.299-306, 2001.

STEINBERG, M.H.; FORGET, G.B.; RIGGS, R.D.; NAGEL, R.L. **Disorders of hemoglobin: genetics, pathophysiology and clinical management**. London: Cambridge, 2001.

STEINBERG, M.H. Predicting clinical severity in sickle cell anaemia. **Br J Haematol.**, v.129, n.4, p.465-481, 2005.

STUART, M.J.; NAGEL, R.L. Sickle-cell disease. **Lancet**, v. **364**, n. 9442, n. 1343-1360, 2004.

SUTTON, M.; BOUHASSI, E.E.; NAGEL, R.L. Polymerase Chain Reaction Amplification Applied to the determination of  $\beta$ -like globin gene cluster haplotypes. **Am. J. Hematol.**, v. **32**, p. 66-69, 1989.

TAYLOR, C.; CARTER, F.; POULOSE, J.; ROLLE, S.; BABU, S.; CRICHLLOW, S.; Clinical presentation of acute chest syndrome in sickle cell disease. **Postgrad. Med. J.**, v.**80**, n.944, p.346-9, 2004.

TAYLOR VI, J. G.; NOLAN, V. G.; MENDELSON, L.; KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Chronic Hyper-Hemolysis in Sickle Cell Anemia: Association os vascular Complications and Mortality with Less frequent Vasooocclusive Pain. **Plos One**, 3(5):1-9, 2008.

TAYLOR, G. O. & BAMGBOYE, A. E. Serum cholesterol and diseases in Nigerians. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.32, p.2540-2545, 1979.

THORNBURG, C.D.; DIXON, N.; BURGETT, S.; MORTIER, N.A.; SCHULTZ, W.H.; ZIMMERMAN, S.A.; BONNER, M.; HARDY, K.K.; CALATRONI, A.; WARE, R.E. A pilot study of hydroxyurea to prevent chronic organ damage in young children with sickle cell anemia. **Pediatr. Blood. Cancer.**, 2008.

TRAINA, F.; SAAD, S.T.O. Hepatic complications in sickle cell disease. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. **29**, n. 3, pp. 299-303, 2007.

TURHAN, A.; WEISS, L.A.; MOHANDAS, N.; COLLIER, B.S.; FRENETTE, P.S. Primary role for adherent leukocytes in sickle cell vascular occlusion: a new paradigm. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.99, p.3047–3051, 2002

VICHINSKY, E.P.; NEUMAYR, L.D.; EARLES, A.N.; WILLIAMS, R.; LENNETTE, E.T.; DEAN, D.; NICKERSON, B.; ORRINGER, E.; MCKIE, V.; BELLEVUE, R.; DAESCHNER, C.; MANCI, E.A. Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. National Acute Chest Syndrome Study Group; **N. Engl. J. Med.**, v.**342**, n.25, p.1855-65, 2000.

WANG, C.W.; LUKENS J.N. Sickle cell anemia and other sickling syndromes. In: LEE, G.R.; FOERSTER, J.; LUKENS, J.N.; PARASKEVAS, F.; GREER, J.P.; RODGERS, G.M. **Wintrobe's clinical hematology. 10 ed.** Baltimore: Williams & Wilkins, 1998. cap. 51, p. 1346-1404.

WATHERALL, D. Beginnings: The molecular pathology of hemoglobin. In: PROVAN, D. & GRIBBEN, J. (eds). **Mol. Hematol.**, 2 ed, Massachusetts – USA, Blackwell Publishing, 2005. p.01-17

WEATHERALL, D.J.; PROVAN, A.B. Red cells In: inherited anaemias. **Lancet.**, v. **355**, p. 1169-1175, 2000.

ZAGO M.A.; FIGUEIREDO, M. S.; OGO, S. H. Bantu beta s cluster haplotype prenomnantes among Brazilian blacks. **Am. J. Phys. Anthropol.**, v.88, p.295-298, 1992.

ZAGO M.A. Considerações Gerais. In: **Manual de Diagnóstico e Tratamento das Doenças Falciformes**, 1ed, Brasília, ANVISA ,2002. p. 9-11, 2002.

## **APÊNDICES**

I – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

II – Questionário aplicado aos pacientes e controles.

III – Tabela 13 - Correlação entre determinações hematológicas e percentagem de hemoglobinas.

IV – Tabela 14 - Associação entre níveis de Hemoglobina Fetal e eventos clínicos na doença falciforme.

V – Tabela 15 - Associação entre níveis leucócitos e eventos clínicos na doença falciforme.

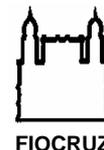
VI – Tabela 16 - Associação entre níveis de triglicérides e eventos clínicos na doença falciforme.

VII – tabela 17 - Associação entre níveis colesterol VLDL e eventos clínicos na doença falciforme.

VIII – Tabela 18 - Associação entre níveis de Desidrogenase láctica (LDH) e eventos clínicos na doença falciforme.



**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
**PARA MENORES DE 18 ANOS**



Você está sendo convidado a consentir com a participação do menor: \_\_\_\_\_, em pesquisas realizadas no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – FIOCRUZ - BA, cujo título está especificado a seguir, uma vez que oficialmente é o seu representante legal.

**“INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS AS PROGNÓSTICO EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM DOENÇA FALCIFORME”.**

A participação do menor é totalmente voluntária e pode ser retirada a qualquer momento, não resultando em punições.

**O objetivo deste trabalho é investigar aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da população atendida na fundação HEMOBA.**

Os registros da participação do menor no estudo serão mantidos confidencialmente, sendo do conhecimento apenas da equipe participante do projeto e do médico que o acompanha. As amostras coletadas serão identificadas por código, bem como os dados individuais dos exames e testes, que serão do conhecimento somente dos pesquisadores envolvidos na pesquisa. Desta forma, a sua identidade será mantida em segredo e nenhum outro grupo terá acesso às informações coletadas, tais como seguradoras, empregadores ou superiores, de acordo com a resolução CNS 340/2004, item V.1.e.

A permissão para que o menor participe deste estudo não implicará na retirada de sangue adicional, de modo que será utilizada uma quantidade remanescente da mesma amostra coletada para a realização dos exames solicitados pelo médico. Também queremos que você concorde que as amostras colhidas sejam armazenadas e possam ser utilizadas em estudos futuros, desde que estes estudos adicionais sejam analisados por um Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos e sigam os aspectos éticos determinados nas resoluções 196/96 e 347/05 do Conselho Nacional de Saúde.

Comunicamos que o sangue será colhido do braço e poderá acarretar em riscos e desconfortos, como sangramento e dor. Entretanto, a coleta de sangue será realizada por pessoal habilitado e especializado, visando diminuir esses riscos. A realização de coletas adicionais dependerá do médico e estará relacionada, simplesmente, ao acompanhamento clínico e avaliação periódica do menor.

A participação do menor no estudo não trará benefícios, mas possibilitará a obtenção de dados que poderão ser utilizados futuramente no acompanhamento de indivíduos que apresentam alguma doença conhecida e na implantação de políticas de saúde.

Assinatura do responsável \_\_\_\_\_

Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Nome do responsável (letra de forma) \_\_\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Testemunha 1 Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

Testemunha 2 Nome: \_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_

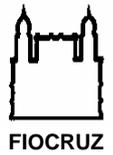
Por favor, entre em contato com uma das pessoas abaixo caso você necessite de maiores esclarecimentos:

Dra Marilda de Souza Gonçalves - Coordenadora do projeto - Laboratório de Pesquisa em Anemias da Faculdade de Farmácia/UFBA e Laboratório de Patologia e Biologia Molecular do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz - FIOCRUZ. Fone (71) 3176-2226.

Magda Oliveira Seixas – Mestranda responsável pelo desenvolvimento do projeto – Laboratório de Patologia e Biologia Molecular do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ. Fone (71) 3176-2265.



INVESTIGAÇÃO DE BIOMARCADORES ASSOCIADOS AO PROGNÓSTICO EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM DOENÇA FALCIFORME.



QUESTIONÁRIO PARA PACIENTES E CONTROLES

Nome: {NOME} \_\_\_\_\_ Sigla: {sig} \_\_\_\_\_ Telefone: ( ) \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Registro: {REG} \_\_\_\_\_ Nº Pront. HEMOBA: {PRON} \_\_\_\_\_ Data de Nasc.: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Idade: {I} \_\_\_\_\_ Gênero: {GENER} ( ) Masculino [0] ( ) Feminino [1]

01. Qual a sua cor? {COR} ( ) Branca[0] ( ) Negra[1] ( ) Parda[2] ( ) Amarela[3] ( ) Indígena[4]
02. Você estuda? {EST} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
03. Nível de escolaridade: {NESC} ( ) Alfabetiz.[0] ( ) Até 4 FM[1] ( ) Até 8 FM[2] ( ) Até 3 MD[3]
04. Número de irmãos: {NIRM} ( ) 0 [0] ( ) 1 [1] ( ) 2 [2] ( ) 3 [3] ( ) 4 ou + [4]
05. Familiares com DF? {FDFALC} ( ) Nenhum[0] ( ) Pai [1] ( ) Mãe [2] ( ) Irmão [3]
06. Idade primeira menstruação: {IPM} ( ) Não menst.[0] ( ) 09-11[1] ( ) 12-14 [2] ( ) 15-17 [3]
07. Já engravidou? {ENGRA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
08. Está grávida? {GRA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
09. Usa anticoncepcional? {ANTICO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
10. Menstruação é regular? {MREG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
11. Idade do 1º diagnóstico de Doença Falciforme: {ID} ( ) <6 m [0] ( ) 6m - 4anos [1] ( ) 5 - 9anos [2]  
( ) 10 - 14anos [3] ( ) 15 - 17anos [4]
12. Eletroforese de Hb {EHB} ( ) AA[0] ( ) SS[1] ( ) SC[2] ( ) SB+[3] ( ) SB<sub>0</sub>[4]  
( ) SD[5]
13. Haplótipo {HAPL} ( ) Sen[0] ( ) Car[1] ( ) Ben[2] ( ) Cam[3] ( ) Sau-Ara [4]  
( ) Atip[5] ( ) I[6] ( ) II[7] ( ) III[8]
14. Talassemia {TAL} ( ) Negativo[0] ( ) Hetero 3.7[1] ( ) Homo 3.7[2]  
( ) Hetero 4.2[3] ( ) Homo 4.2[4]
- Mieloperoxidase {MPO} ( ) GG[0] ( ) AG[1] ( ) AA[2]
- Alelo mutante Mieloperoxidase ? {MUTMPO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
- Alfa 1 antitripsina {A1ATP} ( ) MM[0] ( ) MZ[1] ( ) MS[2]  
( ) SZ[3] ( ) SS[4] ( ) ZZ[5]
15. Já esteve internado? {INTER} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
- Se SIM, quantas vezes? {QINTER} ( ) 1 [0] ( ) 2-5 [1] ( ) 6-10 [2] ( ) 11 ou + [3]
- Qual especialidade? {ESPEC} ( ) Cardiologia [0] ( ) Oftalmologia [1] ( ) Neurologia [2]  
( ) Infectologia [3] ( ) Pneumologia [4] ( ) Cirurgia [5]  
( ) Angiologia [6] ( ) Nefrologia [7] ( ) Clínica da Dor [8]  
( ) Outras [9]
16. Já teve pneumonia? {PNEU} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
- Se SIM, quantas vezes? {QPNEU} ( ) 1[0] ( ) 2-3[1] ( ) 4-6[2] ( ) 7 ou + [3]
- Se SIM, teve febre? {FEBRE} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
- Anormalidade no RX? {ARX} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
- Quando internado, usou medicação? {MPNEU} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]

- Quais? {DESCMPNEU}
- 
17. Teve ou tem esplenomegalia? {ESPLE} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Em que período? {PERIOESPLE} ( ) <6m [0] ( ) 6m-1ano [1] ( ) 2-3a [2] ( ) 4-5a [3] ( ) >6a [4]  
 Teve crise de seqüestro esplênico? {SEQESPLE} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, quantas vezes? {QSEQESPLE}
- 
18. Faz uso profilático de Penicilina? {PROP} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, qual? {QOPEN} ( ) Penicilina V oral [0] ( ) Penicilina benzatina [1]  
 Se Sim, há quanto tempo? {QTPEN} ( ) até 1 ano [0] ( ) + de 1 ano a 3 anos [1]  
 ( ) + 3 anos a 5 anos [2] ( ) + 5 anos a 7 anos [3]  
 ( ) + de 7 anos [4]
19. Já teve AVC? {AVC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, quantas vezes? {QAVC} ( ) 1 [0] ( ) 2 [1] ( ) 3 [2] ( ) 4 ou + [3]  
 Se SIM, seqüelas do AVC? {SEQAVC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Já fez ressonância magnética? {RESSOMAG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Alguma alteração? {ALTRESSOMAG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
20. Esplectomizado? {ESPECTO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Esplenectomia: {TIPOESPECTO} ( ) Total [0] ( ) Parcial [1]
21. Apresenta asma? {ASMA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, quantas crises nos últimos 06 meses? {QASMA} ( ) 0 [0] ( ) 1-3 [1] ( ) 4-7 [2] ( ) 8 ou + [3]  
 Faz uso regular de nebulização? {NEBU} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
22. Tem crises de dor? {CRISDOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, quantas crises nos últimos 06 meses? {QCRISDOR} ( ) 0 [0] ( ) 1-3 [1] ( ) 4-7 [2] ( ) 8 ou + [3]  
 Quando foi a última crise? {ULTCRISDOR} ( ) <1mês [0] ( ) 1-3m [1] ( ) 4m ou + [2]  
 Usa medicação para a dor? {MDOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Prescrita por um médico? {PRESMDOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Assistido por especialista em dor? {ESPECMDOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Faz tratamento com hidroxiuréia? {HIDROXI} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
23. Faz uso de alguma medicação? {MEDIC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, qual? {DESCMEDIC}
- 
- Com que frequência? {FREQMEDIC} ( ) Diário [0] ( ) Dias alternados [1] ( ) Semanal [2]  
 ( ) Quinzenal [3] ( ) Mensal [4] ( ) Bimestral [5] ( ) Semestral [6]
24. Vaso-Ocusão: {VO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1] Quantas vezes? {QVO}
- 
- Fez uso de alguma medicação? {MVO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
25. Retinopatia: {RETIN} ( ) NÃO [1] ( ) SIM [2]  
 Se SIM, fez uso de alguma medicação? {MRETIN} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Faz consultas periódicas com oftalmo? {CONSOFTAL} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
26. Infecções: {INFEC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quais? {DESCINFEC} ( ) Rinite [0] ( ) Sinusite [1] ( ) Otite [2]  
 ( ) Faringite [3] ( ) Amigdalite [4] ( ) Outros [5]  
 Fez uso de alguma medicação? {MINFEC} ( ) SIM [0] ( ) NÃO [1]
27. Priapismo: {PRIAP} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 N° de vezes: {QPRIAP} ( ) Até 4 [0] ( ) 05-09 [1] ( ) 10 ou + [2]  
 Fez uso de alguma medicação? {MPRIAP} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]

28. Úlcera maleolar: {ULCMALEO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1] Quantas vezes? {QULCMALEO} \_\_\_\_\_  
 Idade da primeira úlcera: {IDULC} ( ) Até 4 anos [0] ( ) 5-9 [1] ( ) 10 ou + [2]  
 Tratou a úlcera? {TRATULC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Qual tratamento? {QUALTRAT} \_\_\_\_\_
29. Síndrome torácica aguda: {SDTOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quantas vezes? {QSDTOR} ( ) Até 2 [0] ( ) 03-05 [1] ( ) 06 ou + [2]
30. Alterações ósseas: {ALTOSSEA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quais? {DESCALTOSSEA} \_\_\_\_\_
31. Insuficiência Renal Aguda: {INSRENAG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quantas vezes? {QINSRENAG} ( ) Até 2 [0] ( ) 03-05 [1] ( ) 06 ou + [2]
32. Insuficiência Renal Crônica: {INSRENCRO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Idade diagnóstico: {IDINSRENCRO} ( ) Até 5 anos [0] ( ) 06-11 [1] ( ) 12 ou + [2]
33. Alterações cardíacas: {INSCARD} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Qual alteração? {QUALALTCA} \_\_\_\_\_  
 Idade diagnóstico: {IDINSCARD} ( ) Até 5 anos [0] ( ) 06-11 [1] ( ) 12 ou + [2]  
 Fez eletrocardiograma? {ELETRO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Fez ecocardiograma? {ECOCARD} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
34. Seqüestro hepático: {SEQHEP} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1] Quantas vezes? {QSEQHEP} \_\_\_\_\_
35. Insuficiência respiratória: {INSRESP} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1] Quantas vezes? {QINSRESP} \_\_\_\_\_
36. Distúrbio do sono? {DISTSONO} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
37. Litíase biliar: {LITIBILI} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1] Quantas vezes? {QLITIBILI} \_\_\_\_\_
38. Cirurgia: {CIRURG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quais? {QUALCIRURG} \_\_\_\_\_
39. Se SIM, fez uso de profilaxia antibiótica? {PROFANTIB} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
40. Completou o calendário vacinal? {CALVAC} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Fez uso das seguintes vacinas? {USOVAC} ( ) 7 valente [0] ( ) 23 valente [1]  
 ( ) Meningo [2] ( ) Haemophilus [3]
41. Faz uso de hemoderivados? {HEMODER} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, quantas vezes ao ano? {QHEMODER} \_\_\_\_\_
42. Possui outra patologia? {PATOLOG} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Quais? {DESCPATOLOG} ( ) Hipertensão [0] ( ) Diabetes [1] ( ) Obesidade [2] ( ) Outras [3]
43. Você trabalha? {TRAB} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Tipo de profissão: {QTRAB} \_\_\_\_\_  
 Se SIM, manipula alguma substância química? {SUBQUIM} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Qual? {QSUBQUIM} \_\_\_\_\_ Freqüência ? {FREQSUBQUI} \_\_\_\_\_  
 Manipula diretamente esta subst? {MANIDIRE} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
44. Pratica esportes? {ESPOR} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]
45. Faz uso de bebida alcoólica? {BEBE} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, que freqüência? {FREQBEBE} \_\_\_\_\_
46. Você fuma? {FUMA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]  
 Se SIM, que freqüência? {FREQFUMA} \_\_\_\_\_

47. Faz uso de alguma droga? {DROGA} ( ) NÃO [0] ( ) SIM [1]

Em caso de SIM, que frequência? {FREQDROGA} \_\_\_\_\_

48. Além dos seus pais quantos membros da família ou parentes são apegados a vc? {APEG}

( ) 01[0] ( ) 02 – 03 [1] ( ) 04 – 06[2] ( ) 07 – 10[3] ( ) nenhum[4]

49. Quantos amigos vc têm aproximadamente? {AMIGO}

( ) 01[0] ( ) 02 – 03 [1] ( ) 04 – 06[2] ( ) 07 – 10[3] ( ) nenhum[4]

50. Com que frequência vc se reúne com seus parentes, amigos ou vizinhos? {REUNI}

( ) Diariamente ou quase todos os dias [0] ( ) Várias vezes na semana [1]

( ) Várias vezes no mês [2] ( ) Várias vezes por ano [3] ( ) Quase nunca [4]

Data da próxima consulta no HEMOBA:

\_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Tabela 13** – Correlação entre determinações hematólogicas e percentagem de hemoglobinas.

		Hm	Hb	Ht	VCM	HCM	CHCM	Leuco	Segm	Mono	Plaq	Ret	HbS	HbF
Hm	r	1,000	0,866	0,896	-0,657	-0,645	-0,184	-0,510	0,160	-0,222	-0,378	-0,499	-0,671	-0,451
	p	--	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,023</b>	<b>0,000</b>	0,048	<b>0,006</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Hb	r	0,866	1,000♣	0,974	-0,363♣	-0,330♣	0,050♣	-0,454♣	0,220♣	-0,192	-0,291♣	-0,484♣	-0,655	-0,436
	p	<b>0,000</b>	--	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	,539	<b>0,000</b>	<b>0,007</b>	<b>0,018</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Ht	r	0,896	0,974	1,000	-0,445	-0,445	-0,154	-0,504	0,192	-0,219	-0,349	-0,479	-0,677	-0,405
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	--	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,058</b>	<b>0,001</b>	<b>0,018</b>	<b>0,007</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
VCM	r	-0,657	-0,303♣	-0,445	1,000♣	0,978♣	0,218♣	0,194♣	-0,002♣	0,265	0,245♣	0,322♣	0,353	0,248
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	--	<b>0,000</b>	<b>0,007</b>	<b>0,017</b>	0,983	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
HCM	r	-0,645	-0,330♣	-0,445	0,978♣	1,000♣	0,413♣	0,155♣	-0,004♣	0,272	0,244♣	0,297♣	0,365	0,223
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	--	<b>0,000</b>	0,056	0,959	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,029</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
CHCM	r	-0,184	0,050♣	-0,154	0,218♣	0,413♣	1,000♣	-0,123♣	0,001♣	0,066	0,085♣	-0,033♣	0,093	-0,015
	p	<b>0,023</b>	0,539	0,058	<b>0,007</b>	<b>0,000</b>	--	0,132	0,988	0,417	0,295	0,701	0,370	0,885
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Leuco	r	-0,510	-0,454♣	-0,504	0,194♣	0,155♣	-0,123♣	1,000♣	0,171♣	0,202	0,291♣	0,386♣	0,467	0,346
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,017</b>	0,056	0,132	--	<b>0,035</b>	<b>0,013</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Segm	r	0,160	0,220♣	0,192	-0,002♣	-0,004♣	0,001♣	0,171♣	1,000♣	-0,252	-0,091♣	-0,069♣	-0,171	-0,212
	p	<b>0,048</b>	<b>0,007</b>	<b>0,018</b>	0,983	0,959	0,988	<b>0,035</b>	--	<b>0,002</b>	0,267	0,418	0,095	0,038
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Mono	r	-0,222	-0,192	-0,219	0,265	0,272	0,066	0,202	-0,252	1,000	0,359	0,168	0,374	0,087
	p	<b>0,006</b>	<b>0,018</b>	<b>0,007</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	0,417	<b>0,013</b>	<b>0,002</b>	--	<b>0,000</b>	0,047	<b>0,000</b>	0,397
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Plaq	r	-0,378	-0,291♣	-0,349	0,245♣	0,244♣	0,085♣	0,291♣	-0,091♣	0,359	1,000♣	0,226♣	0,386	0,434
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,002</b>	<b>0,002</b>	0,295	<b>0,000</b>	0,267	<b>0,000</b>	--	<b>0,007</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>
	N	152	152	152	152	152	152	152	152	152	152	140	142	142
Ret	r	-0,499	-0,484♣	-0,479	0,322♣	0,297♣	-0,033♣	0,386♣	-0,069♣	0,168	0,226♣	1,000♣	0,536	0,228
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	0,701	<b>0,000</b>	0,418	0,047	<b>0,007</b>	--	<b>0,000</b>	<b>0,030</b>
	N	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140	140	130	130
HbS	r	-0,671	-0,655	-0,677	0,353	0,365	0,093	0,467	-0,171	0,315	0,386	0,536	1,000	0,132
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	,370	<b>0,000</b>	0,095	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	--	0,201
	N	142	142	142	142	142	142	142	142	142	142	130	142	142
HbF	r	-0,451	-0,436	-0,405	0,248	0,223	-0,015	0,346	-0,212	0,032	0,434	0,228	0,132	1,000
	p	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,000</b>	<b>0,015</b>	<b>0,029</b>	0,885	<b>0,001</b>	<b>0,038</b>	0,701	<b>0,000</b>	<b>0,030</b>	0,201	--
	N	142	142	142	142	142	142	142	142	142	142	130	142	142

Coeficiente de correlação de Spearman ou Pearson (*r*); ♣ *r* = Coeficiente de correlação de Pearson Valor de p (*p*); Número de indivíduos (N). As correlações estatisticamente significativas estão em negrito.

**Tabela 14** – Associação entre níveis de Hemoglobina Fetal e eventos clínicos na doença falciforme.

	Hb Fetal ≤ 10		Hb fetal > 10		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	05 (5,0)	94 (95,0)	02 (5,9)	32 (94,1)	0,5740	0,85 ( 0,14 – 6,70 )
Internação	80 (80,8)	19 (19,2)	28 (80)	07 (20)	0,8849	1,05 (0,36 – 3,02)
Crise de Dor	80 (80,8)	19 (19,2)	27 (75)	09 (25)	0,6198	1,40 (0,51 – 3,77)
Crise vaso-oclusiva	82 (74,5)	17 (25,5)	28 (77,8)	08 (22,2)	0,6762	1,38 (0,48 – 3,87)
Uso de Hidroxiuréia	07 (6,7)	97 (93,3)	02 (5,3)	36 (94,7)	0,5500	1,30 (0,23 – 9,53)
Infecções	44 (53,7)	38 (46,3)	19 (67,9)	09 (32,1)	0,2756	0,55 (0,2 – 1,47)
Pneumonia	53 (53,5)	46 (46,5)	18 (51,4)	17 (48,6)	0,9859	1,09 (0,47 – 2,52)
Priaprismo	05 (10,4)	43 (89,6)	00 (0,0)	21 (100,0)	0,1523	---
Esplenomegalia	11 (11,2)	87 (88,8)	10 (28,6)	25 (71,4)	<b>0,0318</b>	0,32 (0,11 – 0,92)
Seqüestro esplênico	09 (9,2)	89 (90,8)	08 (22,9)	27 (77,1)	<b>0,0415</b>	0,34 (0,11 – 1,09)
Úlcera maleolar	02 (2,0)	97 (98,0)	01 (2,9)	34 (97,1)	0,5999	0,70 (0,05 – 20,21)
Alterações cardíacas	37 (37,4)	62 (62,6)	11 (31,4)	24 (68,6)	0,6705	1,30 (0,53 – 3,22)
Insuficiência respiratória	02 (2,0)	97 (98,0)	01 (2,9)	34 (97,1)	0,5999	0,70 (0,05 – 20,21)
Litíase biliar	07 (7,1)	92 (92,9)	01 (2,9)	34 (97,1)	0,3322	2,59 (0,30 – 58,01)
Uso de Hemoderivados	52 (52,5)	47 (47,5)	20 (57,1)	15 (42,9)	0,7842	0,83 (0,35 – 1,93)

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher

**Tabela 15** – Associação entre níveis leucócitos e eventos clínicos na doença falciforme.

	Leucócitos ≤ 10.000		Leucócitos > 10.000		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	01 (2,4)	40 (97,6)	07 (6,8)	96 (93,2)	0,2791	0,34 (0,02 – 2,93)
Internação	29 (70,7)	12 (29,3)	88 (85,4)	15 (14,6)	<b>0,0420</b>	<b>0,41 (0,16 – 1,07)</b>
Crise de Dor	28 (66,7)	14 (33,3)	88 (85,4)	15 (14,6)	0,0195	0,34 (0,13 – 0,86)
Crise vaso-oclusiva	31 (73,8)	11 (26,2)	88 (85,4)	15 (14,6)	0,1564	0,48 (0,18 – 1,26)
Uso de Hidroxiuréia	05 (10,9)	41 (89,1)	04 (3,8)	102 (96,2)	0,0953	3,10 (0,68 – 14,68)
Infecções	15 (44,1)	19 (55,9)	51 (60,0)	34 (40,0)	0,1704	0,53 (0,22 – 1,27)
Pneumonia	11 (26,8)	30 (77,2)	66 (64,1)	37 (35,9)	<b>&lt;0,0001</b>	0,21 ( <b>0,09 – 0,49</b> )
Priaprismo	02 (10,0)	18 (80,0)	03 (5,5)	52 (94,5)	0,4032	1,93 (0,20 – 15,98)
Esplenomegalia	05 (12,2)	36 (87,8)	16 (15,7)	86 (84,3)	0,7854	0,75 (0,22 – 2,40)
Seqüestro esplênico	02 (5,0)	38 (95,0)	16 (15,5)	87 (84,5)	0,1545	0,29 (0,04 – 1,40)
Úlcera maleolar	00 (0,0)	41 (100,0)	04 (3,9)	99 (96,1)	0,2573	---
Alterações cardíacas	10 (24,4)	31 (75,6)	40 (38,8)	63 (61,1)	0,1473	0,51 (0,21 – 1,23)
Insuficiência respiratória	02 (4,9)	39 (95,1)	01 (1,0)	102 (99,0)	0,1951	5,23 (0,36 – 150,27)
Litíase biliar	01 (2,4)	40 (97,6)	07 (6,8)	96 (93,2)	0,2791	0,34 (0,02 – 2,93)
Uso de Hemoderivados	11 (26,8)	30 (73,2)	66 (64,1)	37 (35,9)	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,21 (0,09 – 0,49)</b>

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher

**Tabela 16** – Associação entre níveis de triglicérides e eventos clínicos na doença falciforme.

	Triglicérides ≤ 130		Triglicérides > 130		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	07 (5,9)	111 (94,1)	01 (4,0)	24 (96,0)	0,577**	1,51 (0,7 – 34,25)
Internação	96 (81,3)	22 (18,6)	20 (80,0)	05 (20,0)	0,534**	1,09 (0,32 – 3,54)
Crise de Dor	93 (78,2)	26 (21,8)	23 (92,0)	02 (8,0)	0,088**	0,31 (0,05 – 1,50)
Crise vaso-oclusiva	96 (80,7)	23 (19,3)	23 (92,0)	02 (8,0)	0,141**	0,36 (0,05 – 1,77)
Uso de Hidroxiuréia	09 (7,3)	115 (92,7)	00 (0,0)	26 (100,0)	0,171**	-----
Infecções	55 (54,5)	46 (45,5)	11 (64,7)	06 (35,3)	0,600*	0,65 (0,18 – 2,11)
Pneumonia	60 (50,9)	58 (49,1)	16 (64,0)	09 (36,0)	0,329*	0,58 (0,21 – 1,54)
Priaprismo	05 (7,9)	58 (92,1)	00 (0,0)	12 (100,0)	0,407**	-----
Esplenomegalia	16 (13,7)	101 (86,3)	05 (20,0)	20 (80,0)	0,297**	0,63 (0,19 – 2,48)
Seqüestro esplênico	14 (11,9)	104 (88,1)	04 (16,7)	20 (83,3)	0,360**	0,67 (0,18 – 2,71)
Úlcera maleolar	03 (2,5)	115 (97,5)	00 (0,0)	25 (100,0)	0,559**	-----
Alterações cardíacas	38 (32,2)	80 (67,8)	12 (48,0)	13 (52,0)	0,209*	0,51 (0,20 – 1,34)
Insuficiência respiratória	03 (2,5)	115 (97,5)	00 (0,0)	25 (100,0)	0,559**	-----
Litíase biliar	03 (2,5)	115 (97,5)	05 (20,0)	20 (80,0)	0,605**	1,05 (0,20 – 5,77)
Uso de Hemoderivados	57 (48,3)	61 (51,7)	19 (76,0)	06 (24,0)	<b>0,021*</b>	<b>0,90 (0,10 – 0,86)</b>

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher**Tabela 17** – Associação entre níveis “very low density lipoprotein” (VLDL) e eventos clínicos na doença falciforme.

	VLDL ≤ 40		VLDL > 40		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	08 (5,8)	129 (94,2)	00 (0,0)	06 (100,0)	0,203**	-----
Internação	112 (81,7)	25 (18,3)	04 (66,7)	02 (33,3)	0,317**	2,24 (0,27 – 15,46)
Crise de Dor	110 (79,7)	28 (20,3)	06 (100,0)	00 (0,0)	0,266**	-----
Crise vaso-oclusiva	113 (81,9)	25 (18,1)	06 (100,0)	00 (0,0)	0,311**	-----
Uso de Hidroxiuréia	09 (6,2)	136 (93,8)	00 (0,0)	06 (100,0)	0,687**	-----
Infecções	64 (56,1)	50 (43,9)	02 (50,0)	02 (50,0)	0,596**	1,28 (0,12 – 13,24)
Pneumonia	72 (52,5)	65 (47,5)	04 (66,7)	02 (33,3)	0,402**	0,55 (0,07 – 3,68)
Priaprismo	05 (6,9)	67 (93,1)	00 (0,0)	03 (100,0)	0,811**	-----
Esplenomegalia	19 (14,0)	117 (86,0)	02 (33,3)	04 (66,7)	0,216**	0,32 (0,05 – 2,77)
Seqüestro esplênico	16 (11,8)	120 (88,2)	02 (33,3)	04 (66,7)	0,167**	0,27 (0,04 – 2,30)
Úlcera maleolar	03 (2,2)	134 (97,8)	00 (0,0)	06 (100,0)	0,878**	-----
Alterações cardíacas	47 (34,3)	90 (65,7)	03 (50,0)	03 (50,0)	0,350**	0,52 (0,08 – 1,40)
Insuficiência respiratória	03 (2,2)	134 (97,8)	00 (0,0)	06 (100,0)	0,878**	-----
Litíase biliar	03 (2,2)	131 (97,8)	02 (33,3)	04 (66,7)	<b>0,024**</b>	0,05 (0,00 – 0,53)
Uso de Hemoderivados	71 (51,8)	66 (48,2)	05 (83,3)	01 (16,7)	0,136**	0,22 (0,01 – 1,98)

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher

**Tabela 18** – Associação entre níveis de Desidrogenase láctica (LDH) e eventos clínicos na doença falciforme.

	LDH ≤ 414		LDH > 414		p	OR (IC)
	Sim N (%)	Não N (%)	Sim N (%)	Não N (%)		
Acidente Vascular Cerebral	00 (0,0)	26 (100,0)	08 (6,8)	109 (93,2)	0,192**	-----
Internação	19 (73,1)	07 (26,9)	97 (82,9)	20 (17,1)	0,187**	0,56 (0,19 – 1,20)
Crise de Dor	19 (76,9)	07 (26,9)	97 (82,2)	21 (17,8)	0,429*	0,59 (0,20 – 1,77)
Crise vaso-oclusiva	20 (76,9)	06 (23,1)	99 (83,9)	19 (16,1)	0,277**	0,64 (0,21 – 2,05)
Uso de Hidroxiuréia	04 (13,3)	26 (86,7)	05 (4,1)	116 (95,9)	0,078**	3,57 (0,74 – 16,08)
Infecções	12 (52,2)	11 (47,8)	54 (56,8)	41 (43,2)	0,864*	0,83 (0,30 – 2,27)
Pneumonia	13 (50,0)	13 (50,0)	63 (53,8)	54 (46,2)	0,890*	0,80 (0,34 – 2,17)
Priaprismo	02 (12,5)	14 (87,5)	03 (5,1)	56 (94,9)	0,288**	2,67 (0,28 – 22,71)
Esplenomegalia	06 (23,1)	20 (76,9)	15 (12,9)	101 (87,1)	0,155*	2,02 (0,61 – 6,48)
Seqüestro esplênico	03 (12,0)	22 (88,0)	15 (12,8)	102 (87,2)	0,607**	0,93 (0,19 – 3,85)
Úlcera maleolar	00 (0,0)	26 (100,0)	03 (2,6)	114 (97,4)	0,545**	-----
Alterações cardíacas	11 (42,3)	15 (57,7)	39 (33,3)	78 (66,7)	0,522*	1,47 (0,56 – 3,79)
Insuficiência respiratória	02 (7,4)	25 (92,6)	02 (1,7)	115 (98,3)	0,159**	4,60 (0,44 – 48,70)
Litíase biliar	02 (7,7)	24 (92,3)	06 (5,1)	111 (94,9)	0,445**	1,54 (0,20 – 9,29)
Uso de Hemoderivados	13 (50,0)	13 (50,0)	63 (53,8)	54 (46,1)	0,890*	0,86 90,34 – 2,17)

\*  $\chi^2$  corrigido por Yates \*\* Teste exato de Fisher

## ANEXO I - VALORES DE REFERÊNCIA PARA DETERMINAÇÕES

### HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

#### Hematologia

	Homens	Mulheres
Hemácias (milhões/mL) -----	4,5 - 6,1	4,0 - 5,4
Hemoglobina (g/dL)-----	12,8 – 17,8	11,3 – 16,3
Hematócrito (%)-----	40,0 -54,0	35,0 – 49,0
VGM (fL)-----	80,0 – 98,0	80,0 – 98,0
HCM (pg)-----	27,0 – 32,0	27,0 – 32,0
CHCM (%)-----	31,0 – 35,0	31,0 – 35,00
Leucócitos-----	4.000 – 10.000	
Neutrófilos-----	2.500 – 7500	
Bastonetes-----	40 - 400	
Segmentados-----	1600 – 7000	
Eosinófilos -----	400 – 600	
Basófilos-----	0 – 300	
Linfócitos típicos-----	720 – 4800	
Linfócitos atípicos-----	0 – 300	
Monócitos-----	120 – 1000	
Plaquetas-----	150.000 – 450.000	
Reticulócitos-----	0,5 – 1,5%	

#### Bioquímica

	Desejável	Limítrofe	Aumentado
Colesterol total----- 2 a 19anos	< 170 mg/dL	170 a 199 mg/dL	≥ 200 mg/dL
20 ou mais	<200 mg/dL	200 a 239mg/dL	≥ 240 mg/dL
Colesterol HDL----- até 10 anos	≥ 40 mg/dL		
11 ou mais	≥ 35 mg/dL		
Colesterol – LDL----- 2 a 19 anos	< 110 mg/dL	110 – 129 mg/dL	≥ 130 mg/dL
Colesterol – VLDL----- < 40 mg/dL			
Triglicerídeos-----< 10 anos	Desejável até 100 mg/dL	Aumentado > 100 mg/dL	
10 a 19 anos	até 130 mg/dL	>240 mg/dL	
> 20 anos	até 199 mg/dL	>200mg/dL	
Uréia-----	15 a 40 mg/dL		
Creatinina-----	0,4 a 1,3 mg/dL		
Ferro sérico-----Homem	65 a 175 mcg/dL		
Mulher	50 a 170 mcg/dL		
Crianças (2 a 12anos)	22 a 135 mcg/dL		
TGO-----	até 42 U/L		
TGP-----	até 41 U/L		
Bilirrubina total-----	até 1,3 mg/dL		
Bilirrubina direta-----	até 0,4 mg/dL		
Bilirrubina indireta-----	até 0,9 mg/dL		
Proteínas totais-----	6,0 – 8,0 g/dL		
Albumina-----	3,5 – 5,5 g/dL		
Globulinas-----	2,3 – 3,5 g/dL		
RE Albu/Glob-----	1,0 – 2,5		
LDH -----	207 – 414 U/L (37°C)		
Ferritina-----	Homens 23,9 a 335,2 ng/mL		
	Mulheres 11,0 a 305,8 ng/mL		
ASLO-----	<200 UI/mL		
PCR-----	<6,0 mg/L		
Alfa 1 antitripsina-----	80 a 200 mg/dL		

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)