

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

VERÔNICA AVENA LISBOA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES**

São Luís
2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

VERÔNICA AVENA LISBOA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE MARCADORES LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Mestrado da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Antônio
Gomes Oliveira

Co-orientador: Prof. Ms. Sônia Maria P. Cruz

São Luís

2008

Silva, Veronica Avena Lisboa da.

Avaliação de marcadores laboratoriais no diagnóstico e prognóstico de pacientes com doenças falciformes / Veronica Avena Lisboa da Silva. – São Luis, 2008.

62 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Maranhão, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2008.

1. Anemia falciforme. 2. Índices hemantimétricos. 3. Reticulócitos. 4. Eletroforese de hemoglobina. I.Título.

CDU 616.155.194

VERÔNICA AVENA LISBOA DA SILVA
AVALIAÇÃO DE MARCADORES LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO E
PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM DOENÇAS FALCIFORMES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Mestrado da Universidade Federal do Maranhão, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde.

Aprovada em / /

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Raimundo Antônio Gomes Oliveira (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão

Prof. Dr. Sérgio Suzart dos Santos
Pesquisador da FAPEMA

Profª Drª Azizedite Guedes Gonçalves
Universidade Federal do Maranhão

Profª Drª Alcione Miranda dos Santos
Universidade Federal do Maranhão

À minha mãe, minha maior incentivadora.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em Jesus Cristo seu filho a quem devo toda honra, glória e louvor para sempre.

Aos meus pais João Lisboa da Silva e Maria de Fátima Avena Silva, pelo amor que me ensinaram amar a Deus, ao próximo e à vida.

À CAPES pelo incentivo, ao meu Orientador, Dr. Raimundo Antônio Gomes Oliveira Prof. Adjunto de Hematologia Clínica do DEFAR-UFMA, Farmacêutico-Bioquímico do Hospital Universitário da UFMA, Pesquisador Clínico do CEPEC-HUUFMA Doutor em Análises Clínicas – FCF-USP, por todos os ensinamentos preciosos e atenção dispensada ao trabalho e ao seu pai o professor Antonio Benedito Oliveira meu mestre querido, o Farmacêutico e o Professor que sempre lembrarei em toda minha caminhada.

A minha co-orientadora Ms. Sônia Maria Pereira Cruz Prof^a Adjunto de Hematologia Clínica do DEMEDII-UFMA, Médica Hematologista do Hospital Universitário da UFMA, Mestre em Hematologia UNIFESP, pela orientação, atenção e carinho com que sempre me ajudou em todos os momentos.

À Professora Dr^a Marilene Oliveira da Rocha Borges, coordenadora do mestrado em Ciências da Saúde da UFMA, por toda compreensão e atenção com que sempre me recebeu, pela resposta sempre positiva, pela mão estendida nos momentos difíceis, pela voz doce e ao mesmo tempo firme com que me trouxe soluções, pelo exemplo de liderança e profissionalismo.

Aos pacientes portadores de anemia falciforme no Estado do Maranhão que fazem tratamento no HEMOMAR e seus responsáveis, que se dispuseram a participar dessa pesquisa. Que este trabalho possa ser mais uma forma de divulgar a luta desses pacientes por melhores dias.

Aos funcionários do HEMOMAR, as recepcionistas, ao administrador do arquivo, a todos os médicos hematologistas, todos os profissionais atenciosos e

compreensivos que me receberam de forma cordial e atenta , que nos auxiliaram de forma amigável e prestativa com o intuito de doar também um pouco de si para a pesquisa.

Agradeço também aos funcionários do Laboratório do Hospital Universitário Presidente Dutra, em São Luís (MA), principalmente aos técnicos de laboratório que me auxiliaram com os hemogramas e reticulogramas automatizados.

Aos funcionários do Departamento de Farmácia da UFMA, por me receberem no laboratório de hematologia e sempre em auxiliarem no que fosse preciso.

À minha avó Dona Margarida Fernandes Pinto, pelas orações.

Aos meus queridos irmãos Wadyson Avena Lisboa da Silva e João Lisboa da Silva Júnior por me entenderem nos momentos difíceis e pelo abraço de amor e cuidado. E aos meus colegas do Mestrado que me apoiaram muito.

“Por que com alegria saireis, e em paz sereis guiados; os montes e outeiros romperão em cântico diante de vós, e todas as árvores do campo baterão palmas.”

Isaías 55:12

RESUMO

As doenças falciformes são um conjunto de anemias hemolíticas desencadeadas pela presença de hemoglobina S em homozigose (a anemia falciforme), dupla heterozigose ou em interação com as talassemias. São caracterizadas por grande variabilidade clínica. Este trabalho teve por objetivo a avaliação dos marcadores laboratoriais do hemograma, reticulograma e eletroforese de hemoglobinas, e sua correlação clínica de 33 pacientes com doenças falciformes atendidos no Hemocentro do Maranhão (HEMOMAR) e no Hospital Universitário do município de São Luís (HUUPD). Do total de amostras analisadas, 28 foram de portadores de anemia falciforme e 5 de pacientes com talassemia falciforme. Dos 28 pacientes falcêmicos, 19 foram considerados clinicamente estáveis (grupo A) e 9 como clinicamente instáveis (grupo B). Em relação ao sexo, 13 (46,43 %) foram do sexo feminino e 15 masculino (53,57 %). Dezesete pacientes (60,71 %) da amostra eram da faixa etária de 0 a 11 anos e onze (39,29 %) acima dos 11 anos. Os pacientes com anemia falciforme revelaram maior variação nos níveis de hemoglobina fetal (CV = 60,7%) que os portadores de talassemia falciforme (CV = 31,3 %). Houve forte associação entre os níveis de hemoglobina fetal e a estabilidade clínica, revelando que os portadores de anemia falciforme com maiores níveis de hemoglobina fetal tendem a ser mais estáveis. Pacientes falcêmicos com menos de 11 anos de idade tiveram maiores níveis de hemoglobina fetal e menor propensão a instabilidade clínica que os maiores de 11 anos. A distinção entre os sexos não teve associação com a estabilidade clínica dos pacientes estudados. A diminuição do VCM, da HCM, do CHDW, o elevado % de micrócitos e a ausência de eritrócitos com mais de 120,0 fl de volume, se revelaram fortes marcadores da talassemia falciforme. O nível de Hb, RDW, CHDW e HDW, principalmente o HDW, demonstraram forte correlação com os níveis de hemoglobina fetal nos pacientes com anemia falciforme e podem ser utilizados na prática laboratorial na avaliação clínica destes pacientes. Os pacientes com anemia falciforme, com instabilidade clínica mais acentuada, tendem a ter maiores contagens de reticulócitos que os mais estáveis.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Índices hematimétricos. Reticulócitos. Eletroforese de hemoglobina.

ABSTRACT

Sickle cell diseases are a set of Hemolytic anemia triggered by the presence of hemoglobin S in homozygous (a sickle cell anemia), double heterozygosity or in interaction with the thalassemias. They are characterized by large clinical variability. This study aimed to the evaluation of laboratory markers of blood, and electrophoresis reticulograma of hemoglobin, and its clinical correlation of 33 patients with sickle cell disease seen at Hemocentro of Maranhao (HEMOMAR) and the University Hospital in São Luis (HUUPD). The total of samples, 28 were carriers of sickle cell anemia and 5 of patients with S β thalassemia . The 28 sickle cell patients, 19 were considered clinically stable (Group A) and 9 as clinically unstable (Group B). Regarding gender, 13 (46.43%) were female and 15 male (53.57%). Seventeen patients (60.71%) were the group of age 0 to 11 years and eleven (39.29%) over 11 years. Patients with sickle cell anemia showed greater variation in levels of fetal hemoglobin (CV = 60.7%) that the carriers of S β thalassemia (CV = 31.3%). There was a strong association between levels of fetal hemoglobin and clinical stability, revealing that the carriers of sickle cell anemia with higher levels of fetal hemoglobin tend to be more stable. Sickle cell patients less than 11 years of age have higher levels of fetal hemoglobin and less prone to clinical instability that the largest of 11 years. Distinction between male and female had no association with the stability of the clinic patients. Decrease of MCV, the HCM, CHDW, the high % of micro cells and the absence of red cells with more than 120.0 fL of volume, have proved strong markers of S β thalassemia . Level of hemoglobin, RDW, CHDW and HDW, mainly the HDW, showed strong correlation with the levels of fetal hemoglobin in sickle cell anemia patients and can be used in laboratory practice in clinical evaluation of these patients. Sickle cell anemia patients, with stronger clinical instability, tend to have higher counts of reticulocytes that the most stable.

Keywords: Sickle cell anemia. Hematological parameters. Reticulocytes.
Electrophoresis of hemoglobin.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme (HbSS) e dos pacientes com talassemia falciforme (HbS/ beta tal), as diferenças entres os grupos	29
Tabela 2 –	Valores dos índices do hemograma dos pacientes falcêmicos e dos pacientes com talassemia falciforme e as diferenças entre os grupos	30
Tabela 3 –	Valores dos índices do reticulograma dos pacientes falcêmicos e dos pacientes com talassemia falciforme e as diferenças entre os grupos	31
Tabela 4 –	Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme e as diferenças entres os grupos A (pacientes estáveis) e B (pacientes instáveis)	32
Tabela 5 –	Perfil do hemograma dos pacientes com anemia falciforme e as diferenças estatísticas entre os índices do hemograma dos grupo A (pacientes estáveis) e grupo B (pacientes instáveis)	33
Tabela 6 –	Perfil reticulocitário dos pacientes falciformes dos grupos A (estáveis) e B (instáveis) e as diferenças significativas entre os índices desses dois grupos	34
Tabela 7 –	Correlação entre os valores dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) versus os valores hematológicos do hemograma nos pacientes portadores de HbSS	35
Tabela 8 –	Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme por faixa etária e as diferenças entres o grupo de pacientes com idade menor que 11 anos e o grupo com idade acima de 11 anos	36

Tabela 9 –	Valores do hemograma dos pacientes com anemia falciforme por grupos de faixa etária e as diferenças entre os grupos	36
Tabela 10 –	Valores dos índices do reticulograma dos pacientes com anemia falciforme por grupo faixa etária e a diferenças entre os mesmos	37
Tabela 11 –	Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme por sexo e as diferenças entres os grupos	37
Tabela 12 –	Valores do hemograma dos pacientes com anemia falciforme por grupo masculino e feminino e as diferenças significativas dos índices entre os sexos	38
Tabela 13 –	Valores do reticulograma dos pacientes falcêmicos por sexo e as diferenças desses índices pelo sexo dos pacientes	39

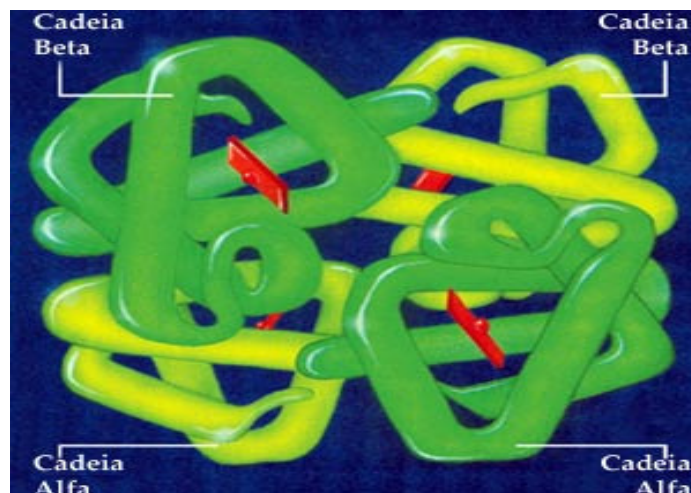
SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	23
2.1	Geral	23
2.2	Específicos	23
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1	Amostra	24
3.1.1	Critérios de não inclusão	24
3.1.2	Coleta da amostra	24
3.2	Dados clínicos	25
3.3	Hemograma completo	25
3.4	Detecção da hemoglobina S	26
3.4.1	Eletroforese de hemoglobina	26
3.5	Análise estatística	27
4	RESULTADOS	29
5	DISCUSSÃO	40
6	CONCLUSÃO	46
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

As doenças falciformes englobam um grupo de anemias hemolíticas hereditárias que têm em comum a presença de hemoglobina S (HbS) nos eritrócitos (LOBO, 2007). A anemia falciforme é a mais comum das variantes graves de hemoglobina, e resulta da substituição do aminoácido ácido glutâmico por valina na posição 6 da cadeia β da parte protéica da hemoglobina, a globina (NAOUM, 2000a).

A hemoglobina normal do ser humano é denominada de HbA. Está presente em elevadas concentrações nos eritrócitos após os seis meses de vida pós-uterina, mantendo-se em elevadas concentrações por toda a vida do indivíduo. Ela é composta por dois pares de cadeias polipeptídicas: α_2/β_2 (figura 1). A distribuição proporcional das diferentes hemoglobinas nas hemácias do indivíduo a partir deste período fica assim definida: HbA = 96 a 98%; HbA₂ = 2,5 a 3,5 %; e HbF = 0 a 2% (UDA et al., 2008).



Fonte: Uic (apud BEIGUELMAN, 2006)

Figura 1 – Estrutura em 3D da Hemoglobina A, duas cadeias tipo beta e duas cadeias tipo alfa

A anemia falciforme e as talassemias representam as formas hereditárias mais comuns de anemia hemolítica. As talassemias resultam da síntese parcial ou da síntese incompleta de cadeias alfa ou de cadeias beta globinas ocorrendo defeitos quantitativos nas hemoglobinas. Embora a anemia falciforme e as talassemias sejam diferentes, fisiopatologicamente as manifestações bioquímicas e clínicas são semelhantes (KENNE et al., 2007).

O defeito genético das doenças falciformes pode ocorrer em estado homocigoto (β^s, β^s), heterocigoto (β^a, β^s) e dupla heterocigose com a associação de outras variantes da cadeia β da globina tais como hemoglobinas C e D (HbSC e HbSD) ou com talassemias β (HbS-talassemia β). O gene falciforme (gene S) pode estar associado com variantes da cadeia alfa e com diferentes formas de talassemias beta (NAOUM; BONINI-DOMINGOS, 2007).

A alteração estrutural da molécula de hemoglobina de pacientes com anemia falciforme provoca uma alteração na carga elétrica da hemoglobina que em estado de desoxihemoglobina inicia o processo de agregação (NAOUM, 2000a). Acontece então a formação de cristais alongados (tactóides) levando a forma de foice dos eritrócitos. A diminuição da deformidade é responsável pelos fenômenos de oclusão vascular típicos da doença (figura 2). Quando reoxigenados os eritrócitos falcizados podem voltar à forma bicôncava normal, mas este fenômeno torna-se irreversível após repetidas oxigenações e desoxigenações (RIVERA, 2007).

Os episódios de vaso-occlusão são característicos das doenças falciformes, gerando dor isquêmica, de intensidade variável, geralmente, intensas, com recorrências imprevisíveis, que podem iniciar-se aos 6 meses de idade e durar a vida toda (ÂNGULO, 2003). São responsáveis pela maioria dos casos de atendimentos de emergência e hospitalização, assim como pela má qualidade de vida dos pacientes acometidos. Internações freqüentes resultam em elevada mortalidade (LOUREIRO; ROZENFELD, 2005).

Outros fatores que contribuem para o fenômeno da falcização são a baixa na temperatura que causa vaso-constricção e a diminuição do pH sanguíneo. A falcização resulta em aumento da viscosidade do sangue facilitando a estase e oclusão vascular, culminando em infarto. O encurtamento da vida média dos eritrócitos falcizados leva ao quadro de anemia hemolítica, além da ação de monócitos e macrófagos sobre os eritrócitos tornados foice (os drepanócitos) que tem tendência em se aderirem às células endoteliais (BUNN, 1997).

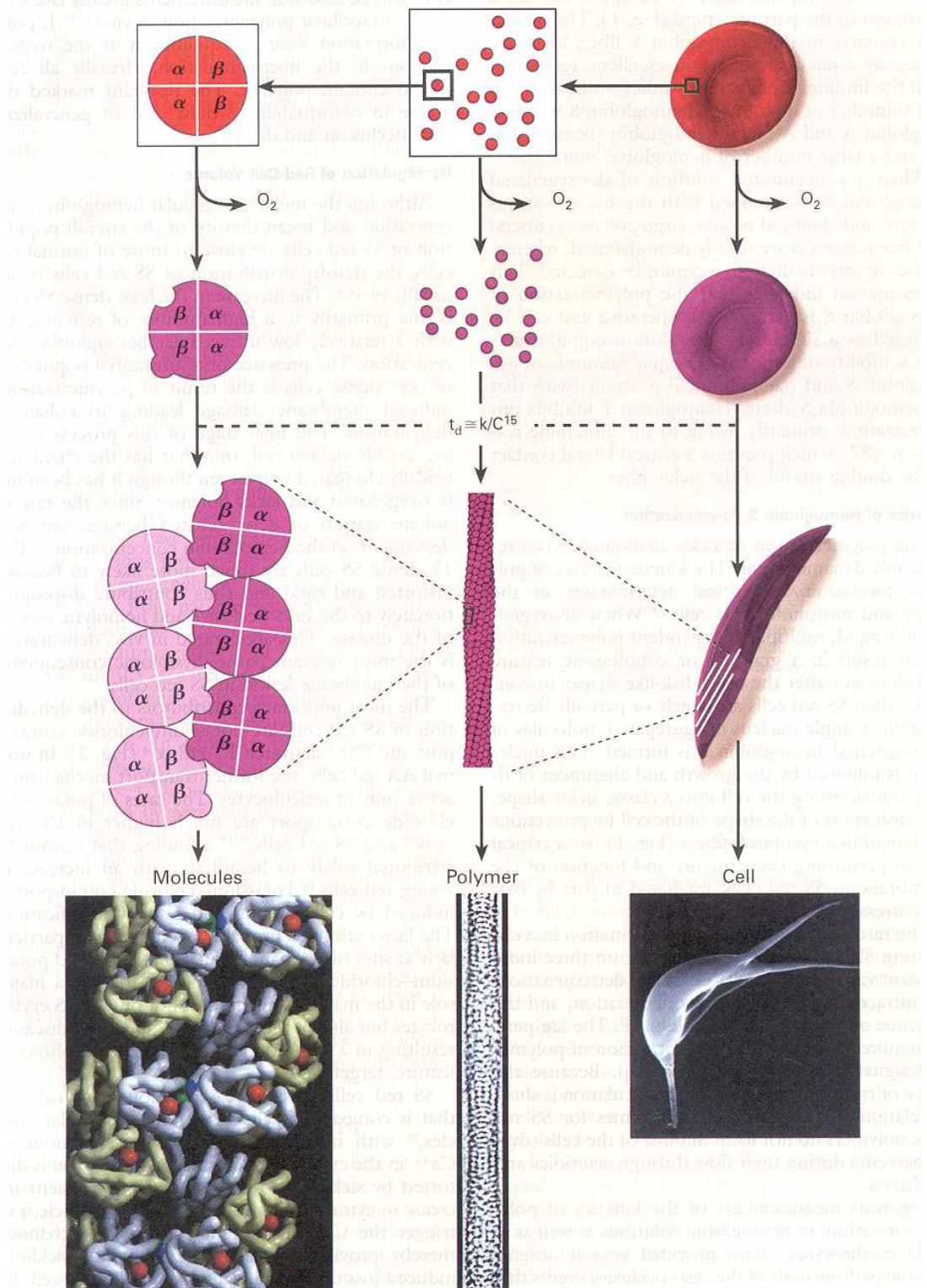


Figura 2 – Indução do afoiçamento eritrocitário pela polimerização da desoxi-Hb S (BUNN, 1997)

A variabilidade clínica da anemia falciforme é influenciada por fatores genéticos que modificam a expressão da doença (COSTA et al., 2006). A utilização de marcadores laboratoriais como nível de hemoglobina F (HbF) tem se mostrado importante na avaliação prognóstica do paciente com anemia falciforme. Estudos mostraram que a anemia falciforme associada à concentração de HbF aumentada apresenta sintomas mais leves (FIGUEIREDO, 2007 a; UDA, 2008)

A HbF como outras hemoglobinas de mamíferos consiste em quatro cadeias polipeptídicas, duas α e duas γ ($\alpha_2\gamma_2$). A cadeia α é idêntica à da molécula de Hb A, que é formada por uma seqüência de 141 aminoácidos, e a γ , como a β , consiste em 146 aminoácidos. A concentração de Hb fetal no sangue de uma pessoa com idade superior a seis meses é menor que 2,0%. A concentração de HbF pode estar aumentada em várias condições genéticas ou adquiridas (SETTY, 2001). Entretanto, as principais situações em que o nível de HbF está elevado são a persistência hereditária de Hb Fetal (PHHF), as diversas formas de talassemias beta e as doenças falciformes. Em todos os casos as alterações hematológicas avaliadas laboratorialmente são diferentes (FATHALLAH; ATWEH, 2006).

A HbF é produzida pelos genes da globina γ e está restrita a um pequeno contingente de eritrócitos de adultos normais. Nos pacientes com anemia falciforme, os eritrócitos contém em média até 20% de HbF e por volta de 80% de HbS. Sabe-se hoje que a presença de HbF pode alterar os sítios de contato entre as moléculas de HbS de tal maneira que a formação do polímero fica prejudicada, com conseqüente redução no processo de falcização (FIGUEIREDO, 2007 a; SETTY, 2001).

O aumento de HbF causada por situação adquirida se deve especialmente ao uso de determinadas drogas (LEMSADDEK, 2003). O aumento da HbF na anemia falciforme se mostra favorável hematologicamente, pois nesta interação HbSS/HbF pode haver inibição da polimerização da HbS e também o desencadeamento da falcização dos eritrócitos (GARNER, 1998; DEBAUN; FIELD, 2007; QUINN, 2007).

A HbF tem efeito protetor sobre a HbS. A sua elevação resulta em redução compensatória da HbS ($\alpha_2\beta_2$ S), para manter a concentração intracelular da hemoglobina total. Além disso, os tetrâmeros da HbF ($\alpha_2\gamma_2$) se dissociam em

dímeros e podem formar híbridos mistos com os dímeros da HbS ($\alpha_2\beta_S\gamma$) (FATHALLAH; ATWEH, 2006).

Machado (2007), recomenda o uso de hidroxiuréia ou transfusões crônicas em todos os pacientes com hipertensão pulmonar. Essas intervenções também podem levar a uma melhora sintomática, já que tendem a elevar o nível de hemoglobina fetal e hemoglobina total circulante e, conseqüentemente, a capacidade carreadora de oxigênio (KLINGS, 2006).

O aumento do número de leucócitos totais com aumento de granulócitos indica um prognóstico ruim para o paciente portador de anemia falciforme. Os granulócitos interagem com as células falcizadas e as células endoteliais são estimuladas a liberarem citocinas (NAOUM, 2000 b). As plaquetas ativadas liberam trombospondina, que promove a adesão das células falciformes às células endoteliais. Os reticulócitos que são prematuramente liberados da medula óssea nas doenças hemolíticas apresentam ligantes adicionais que facilitam interações entre as células falciformes e as células endoteliais (FOURCADE; BELAOUNI, 1999; NAOUM, 2001).

A presença de uma população substancial de células bastante densas é o resultado do dano à membrana induzido pela polimerização, o que leva a uma desidratação aumentada (COSTA et al., 2006). A célula irreversivelmente falciforme resulta desse processo no qual a célula mantém seu formato de foice característico mesmo após completa oxigenação e não ter a formação de polímeros (BRUNIERA, 2007). Como a taxa de polimerização da HbS desoxigenada depende da concentração de hemoglobina, células SS densas tornam-se mais facilmente distorcidas e rígidas, isso contribui desproporcionalmente para o aspecto hemolítico e vaso-oclusivos da doença. Tal acelerada desidratação in vivo é a conseqüência fisiopatológica mais relevante da lesão da membrana da hemácia SS (RIVERA, 2007).

Na crise aguda de seqüestração esplênica, há o acúmulo repentino de sangue dentro dos sinusóides esplênicos, com acentuado aumento do órgão, declínio na concentração da hemoglobina e elevação dos reticulócitos (ÂNGULO, 2003). É uma complicação grave da doença falciforme, com risco de morte imediata devido à queda brusca e intensa do nível de hemoglobina e da possibilidade de choque hipovolêmico. Ocorre geralmente em crianças menores de 5 anos e em

adolescentes com talassemia falciforme (SS/ β talassemia), que persistem com esplenomegalia (BUCHANAN, 2007).

Os pacientes com HbSS são os mais gravemente afetados, seguidos pelos pacientes com talassemia falciforme. Aqueles com doença de HbSC tendem a ter um desenvolvimento mais benigno da doença (ZAGO, 2001). Os pacientes HbSS e S/ β 0talassemia são transfundidos com maior frequência dos que os pacientes SC ou S/ β +talassemia (NAOUM, 2000a). A transfusão pode ser necessária em pacientes com anemia falciforme, para repor o volume sangüíneo perdido por hemorragia, seqüestro esplênico ou para aumentar a capacidade de carrear o oxigênio como nas exacerbações da anemia (ÂNGULO, 2003).

Há evidências de que a doença falciforme já era conhecida pelos negros da África desde 1670. Em 1904, James B. Henrick foi o primeiro a notar hemácias em forma de foice no sangue de um estudante de medicina em Chicago. Em 1949, descobriu-se que a hemoglobina dos pacientes com anemia falciforme tinha uma variação no campo elétrico e mobilidade eletroforética, diferente da hemoglobina normal (WEATHERALL et al., 1989; RUIZ, 2007).

Segundo estimativa da Organização Mundial de Saúde (OMS), 5% da população mundial é portadora do gene para hemoglobinopatias, e a cada ano nascem aproximadamente 300.000 indivíduos com hemoglobinopatias. Desses, cerca de 200.000 casos de anemia falciforme ocorrem na África (RODRIGUEZ-ROMERO, 1998; CANÇADO ; JESUS, 2007) .

De acordo com a triagem neonatal, estima-se que nascem, no Brasil, por ano, 3,5 mil crianças vítimas da doença falciforme, dados dos estados que aderiram ao Programa de Triagem Neonatal, que inclui o exame que detecta doença falciforme no teste do pezinho. Os falcêmicos também têm a vida encurtada. O período mais crítico vai até os cinco primeiros anos. O índice de mortalidade em crianças que não são diagnosticadas e tratadas precocemente chega a 25%. Entre as que recebem tratamento adequado, o índice cai para 2,5%. Segundo dados de 1996, a expectativa de vida de um portador de anemia falciforme no Brasil é de 18,6 anos (CANÇADO ; JESUS, 2007).

Segundo Ministério da Saúde, quase 13 mil pacientes com anemia falciforme estão cadastrados no Sistema Único de Saúde (SUS). Seguindo a prevalência genética da população, as estimativas apontam para a existência de 30 mil a 50 mil pessoas com a doença, em todo o país. Para cada 35 pessoas que

nascerem no Brasil, uma registra traços de anemia falciforme. No Maranhão há um falcêmico para 1,4 mil nascidos vivos, o mesmo índice para Minas Gerais e Pernambuco, esse índice aumenta no Rio de Janeiro, sendo um para cada 1,2 mil e na Bahia onde há um falcêmico para cada 500 nascidos vivos (BRASIL, 2007).

Hoje se considera de enorme significado a inclusão da eletroforese de hemoglobina nos testes de triagem neonatal representando grande importância no reconhecimento da relevância das hemoglobinopatias em nosso país. Apontam-se como pontos principais o diagnóstico e tratamento precoces no aumento da sobrevivência e na melhora da qualidade de vida das pessoas com anemia falciforme, estas devem ser acompanhadas em Centros de Referência especializados com atendimento multidisciplinar e multiprofissional (CANÇADO; JESUS, 2007).

As principais causas de mudanças na prática da moderna hematologia são os avanços tecnológicos que influenciam no diagnóstico laboratorial e nos procedimentos terapêuticos de algumas patologias, destacando-se a anemia falciforme, hemofilias e leucemias (NAOUM, 2001).

O estudo dos haplótipos é extremamente útil para detectar diferenças genéticas entre os alelos de globina presentes em diferentes mutações que codificam alterações da síntese da molécula da hemoglobina. No caso do gene da Beta globina, os segmentos alterados se encontram no braço largo do cromossomo 11 nas regiões flangeadoras do gene (RODRIGUEZ-ROMERO, 1998).

Estudos realizados com técnicas de biologia molecular têm relacionado os haplótipos com o nível de gravidade ou benignidade da anemia falciforme, que indiretamente estão relacionados com a concentração de Hb Fetal e interação com a talassemia alfa (POWARS, 1993).

Algumas características genéticas têm grande importância na gravidade clínica da doença, pois determinam a concentração intracelular de HbS. A elevada concentração de HbS é essencial para que a polimerização se inicie e se propague rapidamente, provocando a falcização e os fenômenos celulares que desencadeiam as lesões tissulares (KOCH, 2000). Assim, genótipos que produzem uma menor concentração de HbS ou uma elevação de HbF (que não interage com as moléculas de HbS) dificultam a polimerização e a falcização, reduzindo a gravidade e intensidade das manifestações clínicas. Por esses motivos, o quadro é mais grave na anemia falciforme e na S/ β 0talassemia sem níveis muito elevados de HbF (ou seja, HbF < 10%), enquanto os quadros mais leves são aqueles com elevação da

HbF e S/ β +talassemia (SETTY, 2001). Nestes últimos pacientes ocorre a produção de HbA que, embora em menor quantidade do que a HbS, é suficiente para inibir a formação de polímeros (NASCIMENTO;SILVA,2005; KENNE et al., 2007).

As elevações de HbF têm um papel muito importante para modular o quadro das doenças falciformes (FIGUEIREDO, 2007a). Os níveis de HbF em adultos são determinados geneticamente, a presença de alelos que determinam ligeiras elevações de HbF são comuns e não são associados a manifestações clínicas, mas, quando presentes em um indivíduo com doença falciforme, provocam uma elevação de HbF maior do que a habitual na doença (SETTY, 2001). Também existem formas de persistência hereditária de HbF heterocelular, mais raras, mas que podem se associar à doença falciforme (NAOUM, 2000a; FIGUEIREDO, 2007 b)

Como conseqüência do papel inibitório que a HbF exerce sobre o processo de falcização, reduzindo a gravidade das manifestações clínicas, desenvolveu-se uma busca ativa de drogas que reativassem a síntese de HbF no período pós-natal (NAOUM, 2000b). Essa busca levou à descoberta do efeito terapêutico da hidroxiuréia na doença, e à investigação de numerosos outros compostos em fase experimental. Embora o efeito terapêutico da hidroxiuréia provavelmente compreenda outros fenômenos, como a modificação das moléculas de adesão de hemácias, granulócitos e plaquetas, e a redução da produção de granulócitos, participantes diretos dos fenômenos inflamatórios da doença, seu efeito elevando a HbF é muito consistente (LEVASSEUR, 2004; UDA, 2008).

A evidência do benefício clínico da hemoglobina fetal na doença falciforme advém da observação que pacientes portadores de anemia falciforme das regiões da Arábia Saudita e Índia, que comumente apresentam HbF em alta concentração, apresentam manifestações clínicas mais brandas e anemia menos intensa (WINSOAT et al., 1985; BUNN, 1997; SERTEJANT, 2007;). Outra evidência advém do fato de que a criança produz a HbF até a idade de 4 a 6 meses, por isso as manifestações clínicas só irão começar a surgir após a diminuição da HbF (KOCH, 2000).

A relação entre haplótipos HbS, níveis de HbF e gravidade clínica da anemia falciforme é muito complexa, além da influencia dos níveis de HbF e da interação com talassemia alfa nas diferentes populações africanas-base da dispersão do gene HbS- ocorreu também a miscigenação entre os diferentes haplótipos (FATHALLAH; ATWEH, 2006). Assim, especialmente no Brasil, as

peças com anemia falciforme apresentam predomínio de haplótipos heterozigotos, com prevalência de 59,4% do haplótipo CAR (Bantu), 39,4% de Benin e 1,2% de Senegal (NAOUM, 2000 a). Essa distribuição reflete muito bem a proporção de escravos africanos de diferentes regiões trazidos ao Brasil durante o período de tráfico de escravos (FLEURY, 2007).

Os haplótipos da região dos genes de globina β têm um papel importante na determinação da gravidade da doença, em parte pelo menos por influenciar o nível de HbF (RODRIGUEZ-ROMERO, 1998). Assim, o haplótipo Senegal, raro no Brasil, está associado a níveis mais elevados de HbF, enquanto o haplótipo Árabe-Indiano, que não ocorre no Brasil, tem os níveis mais elevados de HbF, e corresponde à forma mais benigna de anemia falciforme, oligossintomática ou assintomática (FIGUEIREDO et al., 1996).

O diagnóstico da anemia falciforme parte de um eritrograma que revela anemia grave, com presença de drepanócitos, reticulocitose, elevação da bilirrubina indireta e da LDH e clínica característica. A diferenciação da anemia falciforme das demais doenças falciformes são realizados obrigatoriamente com a eletroforese em pH alcalino e em pH ácido em gel (OLIVEIRA, 2004; CHINELATO-FERNANDES; DOMINGOS, 2006).

A verificação de alterações no gene S deve ser necessária incluir procedimentos que permitam o encontro de suas formas mais comuns, segundo o US Department of Health and Human Services, a saber: HbAS, HbSS, HbSC e interações com as talassemias, também no que diz respeito a identificação do gene C (NAOUM, 2000 a; TELLEN, 2000; ZAMARO, 2002).

O diagnóstico da anemia falciforme também é baseado nos achados do hemograma, que apresentam anemia normocrômica e normocítica, reticulocitose, presença de corpos de Howell-Jolly nos eritrócitos, eritroblastos orto e policromáticos, além de hemácias falcizadas, leucocitose, plaquetose, elevação de bilirrubinas e nos achados de hemoglobina S em níveis de 85 a 100% (VERRASTRO, 1998).

A quantidade de reticulócitos no sangue indica a velocidade de produção de eritrócitos viáveis na medula óssea. Normalmente, os reticulócitos passam de 2 a 3 dias na medula óssea e 1 dia no sangue periférico, quando então sua carga de hemoglobina se completa, isto é, ficam normoconcentrados (CHCM normal) e tornam-se eritrócitos maduros. Grandes elevações dos níveis séricos de

eritropoetina (EPO) exceto nas deficiências associadas de algum dos fatores essenciais para uma eritropoiese eficiente, promovem aumento da produção de reticulócitos na medula e sua saída prematura para o sangue (OLIVEIRA, 2007).

Os eritrócitos vivem cerca de 120 dias na circulação, os reticulócitos, por sua vez, circulam como tal, por apenas 1 dia na circulação, ou no máximo, por 3 a 4 dias, quando liberados precocemente pela medula óssea, induzida por elevados níveis de eritropoetina circulante. Por tal motivo, é muito mais fácil e precoce avaliar o perfil de uma população de células que se renova a no máximo 3 a 4 dias ao invés de ter que aguardar, pelo menos 1/3 de 120 dias (40 dias) para que o perfil de uma determinada anemia se altere em decorrência de uma terapia específica, ou se faça notar para a caracterização morfológica e seu diagnóstico através dos perfís hematimétricos (índices hematimétricos) do eritrograma (MEZZOMO, 2007; MORESCO, 2003; OLIVEIRA, 2007).

Hoje, sem dúvida, a contagem automatizada do hemograma, incluindo-se novos índices hematimétricos derivados da tecnologia do laser, tais como, além dos já conhecidos volume corpuscular médio (VCM) e amplitude da distribuição dos eritrócitos (red cell distribution width; RDW), a concentração de hemoglobina corpuscular média a laser (CHCM direta), a hemoglobina corpuscular média a laser (HCM a laser), a variação da CHCM dos eritrócitos (HDW) e variação da HCM dos eritrócitos (CHDW), bem como o reticulograma automatizado se tornam um poderoso recurso para o diagnóstico diferencial e a monitorização terapêutica de uma anemia (HOFFMANN, 2007; OLIVEIRA, 2007). Especificamente, a contagem de reticulócitos na avaliação da resposta a terapia de uma anemia carencial é mais sensível em relação às avaliações do hemograma posto que os reticulócitos são células com tempo de vida média bem menor que o dos eritrócitos, de modo que seu perfil muda de maneira mais rápida que o perfil de eritrócitos maduros (OLIVEIRA, 2007).

A contagem automatizada de reticulócitos é de extrema importância na avaliação da maturação eritroide. Alguns tipos de contadores do mercado, como o ADVIA 120 da Bayer-Siemes, detêm a tecnologia do scatter de luz laser e podem determinar a concentração de hemoglobina célula por célula. Os reticulócitos são diferenciados dos eritrocitos maduros após prévia mistura com oxazina 750 que é específica para RNA mensageiro presente no reticulócito. A avaliação simultânea do VCM, VCM ret., CHCM laser, CHCM ret laser, percentual de células microíticas,

percentual de células macrocíticas, percentual de células hipodensas, percentual de células hiperdensas em eritrócitos e em reticulócitos pela automação é uma maneira muito precisa para estudo das mudanças celulares durante a maturação eritróide normal e nos diferentes tipos de anemias (OLIVEIRA, 2007).

Tão importante quanto diagnosticar, é poder prognosticar e tomar decisões terapêuticas específicas para uma determinada doença. A anemia falciforme é uma patologia grave cuja evolução clínica difere bastante entre seus portadores. A caracterização de novos marcadores em pacientes com anemia falciforme, correlacionados a heterogeneidade clínica da doença, pode servir de base para o diagnóstico diferencial de doenças falciformes, bem como parâmetro de prognóstico para a severidade de cada paciente. Assim, esta estratificação poderá contribuir para adoção de uma conduta clínica mais específica, caso a caso.

A caracterização, além do perfil eletroforético das hemoglobinas, de outros marcadores laboratoriais nos eritrócitos e reticulócitos de portadores de anemia falciforme é uma forma de estudo de baixo custo, altamente precisa, rápida, e que pode se mostrar útil na avaliação da evolução clínica particular de cada paciente.

Não há estudos clínicos na população de falcêmicos no Brasil utilizando certos índices hematimétricos baseados na densidade interna de hemoglobina nos eritrócitos e reticulócitos, tais como: a hemoglobina corpuscular média laser (HCM laser), concentração de hemoglobina corpuscular média laser (CHCM laser), variação da CHCM (HDW) e variação da HCM (CHDW), bem como das frações de reticulócitos. Deste modo, a caracterização do perfil destes referidos índices, e sua correlação com a estabilidade clínica dos pacientes com doenças falciformes, poderá dar subsídios mais sólidos para conduta clínica diferenciada entre portadores desta patologia. A implantação de novas técnicas que vão além do diagnóstico, podem permitir medidas profiláticas e aumentar a qualidade de vida, diminuindo a morbimortalidade de uma doença tão grave quanto a anemia falciforme.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar marcadores laboratoriais no diagnóstico e prognóstico de pacientes com doenças falciformes.

2.2 Específicos

- a) estabelecer o perfil das frações de hemoglobinas dos pacientes com doenças falciformes em nosso estado;
- b) caracterizar o perfil do hemograma e reticulograma automatizados em pacientes com doenças falciformes;
- c) estudar se há associação entre os níveis de hemoglobina fetal e hemoglobina A₂ com a estabilidade clínica dos pacientes com anemia falciforme;
- d) determinar se a idade e o sexo possuem alguma associação com o prognóstico dos pacientes com anemia falciforme;
- e) definir quais dos parâmetros do hemograma e reticulograma automatizados podem servir de marcadores específicos no diagnóstico diferencial das doenças falciformes;
- f) estabelecer quais dos parâmetros do hemograma e reticulograma automatizados podem servir de marcadores específicos no prognóstico e na estabilidade clínica de pacientes com anemia falciforme.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostra

Nosso estudo foi descritivo, no qual foram incluídas 33 amostras, selecionadas por conveniência, de pacientes de ambos os sexos, com idade entre 2

e 39 anos, que estavam em acompanhamento nos serviços ambulatoriais de hematologia da Supervisão de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR) e do Hospital Universitário Unidade Presidente Dutra (HUUPD) em São Luís, Maranhão, como doentes falciformes.

Dos 33 pacientes avaliados, 28 foram confirmados pacientes com anemia falciforme, mas 5 foram diagnosticados como portadores de talassemia falciforme (HbS / □talassemia).

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário conforme Parecer nº 111/2008. Todos os pacientes ou seus responsáveis assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme CNS, Resolução nº 196 de 10/10/96.

3.1.1 Critério de não inclusão

Não foram incluídos na pesquisa os pacientes que receberam transfusão sanguínea nos três últimos meses que antecederam o momento da coleta para os testes laboratoriais.

3.1.2 Coleta da amostra

Coletou-se 5 ml de sangue de cada um dos pacientes em tubo vacutainer com anticoagulante EDTA, das quais uma amostra foi usada para o hemograma completo, contagem automatizada de reticulócitos e para as eletroforeses de hemoglobina em gel pH alcalino e em gel pH ácido e a outra para extração de DNA, em estudos ainda a serem desenvolvidos.

3.2 Dados clínicos

A evolução clínica dos pacientes com anemia falciforme foi realizada pelo Serviço de Hematologia Clínica do HEMOMAR e HUUPD, sob responsabilidade da médica hematologista, Prof^a MS Sônia Maria Pereira Cruz. A avaliação clínica, sexo,

e data de nascimento foram dados obtidos com a análise dos prontuários dos pacientes.

Dos 28 pacientes detectados como portadores de anemia falciforme, 19 foram considerados estáveis. Foram os pacientes que chegaram ao serviço do ambulatório de hematologia do HEMOMAR ou do HUUPD para consultas de rotina, ou para realizar coleta para exames laboratoriais, os quais formaram o grupo A. Nove (9) pacientes que encontravam-se em vigência de intercorrências clínicas no momento da coleta de sangue para esta pesquisa foram considerados pacientes em estado instável e compuseram o grupo B desta pesquisa.

Em função do baixo número de casos de portadores de talassemia falciforme, obtidos em nosso estudo (n= 5), este grupo de pacientes não pode ser subdividido, o que impossibilitou sua análise clínica prognóstica.

3.3 Hemograma completo

Realizou-se o hemograma completo dos pacientes, para análise dos índices hematológicos, no contador ADIVIA-120 (BAYER-SIEMENS). Sendo analisados os seguintes parâmetros; concentração de hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM), Hemoglobina corpuscular média (HCM) e Concentração de hemoglobina Corpuscular Média (CHCM), o RDW (red cell distribution width); variação da CHCM (HDW) e variação da HCM (CHDW); a quantidade de células hiperocrômicas; percentual de células microcíticas (células com menos de 60 fl); percentual de células macrocíticas (células com mais de 120 fl) no sangue, bem como o perfil reticulocitário; percentual de reticulócitos (%ret); volume corpuscular médio dos reticulócitos (VCM ret); hemoglobina corpuscular média dos reticulócitos (HCM ret); concentração hemoglobínica dos reticulócitos (CHCM-ret); os percentuais de células hiperdensas dos reticulócitos e de células hipodensas dos reticulócitos, também os percentuais de baixa HCM dos reticulócitos e de alta HCM dos reticulócitos, obtidos diretamente por tecnologia laser.

3.4 Detecção da hemoglobina S

3.4.1 Eletroforese de hemoglobinas

As amostras foram submetidas aos testes de eletroforese alcalina e eletroforese ácida no sistema semi-automático FEA-250 da CELM.

Resumidamente, submeteu-se uma solução de hemoglobina das amostras ao campo elétrico em tampão alcalino num suporte como acetato de celulose ou agarose. A solução de hemoglobina foi preparada hemolisando a papa de hemácia com água e hemolisante da CELM em partes iguais. Para a corrida eletroforética, colocou-se 150µL de tampão TRIS pH 9,5 gelado na cuba e aplicou-se 0,6µL de cada hemolisado no filme de gel alcalino. Em seguida o filme foi colocado na tampa com o lado onde foi aplicada a amostra, do lado do polo negativo (-) da tampa. Colocou-se a tampa na cuba e deixou-se por 25 minutos a 150V. Após esse tempo foi retirada a fita sem invertê-la, deixando-a secar sobre uma folha de papel toalha para eliminar o excesso de tampão das bordas do filme. O filme então foi levado para secagem com o secador de cabelos aquecido entre 55° a 65°C. Após a secagem o filme foi então corado com corante ponceau.

A leitura da corrida foi realizada em um scanner com um programa próprio da CELM, utilizando-se o princípio da densitometria usando um filtro de 420nm.

De modo semelhante, foi realizada a eletroforese em agarose em pH 6,1, onde a corrida eletroforética é realizada no sentido do ânodo (pólo positivo) para cátodo (pólo negativo). Para a corrida eletroforética, colocou-se 190 mL de tampão citrato pH 6,3 gelado, na cuba eletroforética. No filme de agar ácido foi aplicado 1,0µL de cada hemolisado. Colocou-se o filme na tampa com o lado onde foi aplicada a amostra, do lado do pólo positivo (+) da tampa. Foi recolocada a tampa na cuba o gel da eletroforese, a qual permaneceu por 35 minutos a 90 volts. Terminado o tempo de corrida foi retirada a tampa que sustentava o filme e colocada em uma folha de papel toalha para retirar o excesso de tampão das bordas do filme. Foi realizada então a coloração e secagem do gel.

O filme com a corrida das hemoglobinas foi então mergulhado em 200mL de corante de amido black a 0,2%, por 5 minutos sem agitação e retirado o filme do corante colocou-se em 200 ml de solução descorante de ácido acético a 5% por cinco minutos, após esse tempo foi colocado a 60°C sob o secador de cabelos, até que o mesmo ficasse completamente seco. De modo semelhante ao descrito

anteriormente, realizou-se a leitura da fita em scanner por densitometria de acordo com programa específico do fabricante.

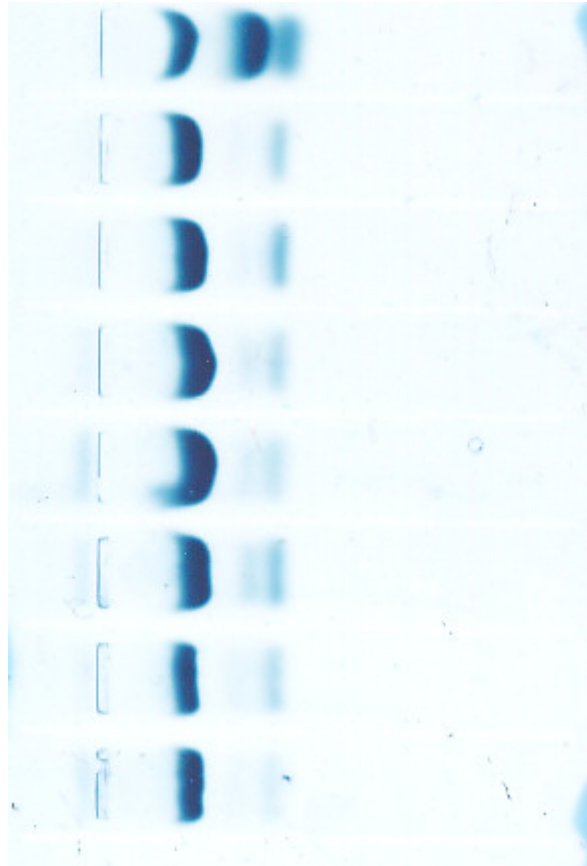


Figura 3 – Gel de eletroforese em pH ácido com resultado da corrida de amostras de pacientes portadores de anemia falciforme. A amostra encontrada na parte superior do gel corresponde a corrida eletroforética característica da Hb AS e as demais corridas são de amostras características de HbSS com HbF aumentada

3.5 Análise estatística

As variáveis em estudo são apresentadas em tabelas constando; média, desvio padrão e coeficiente de variação dos valores encontrados nas análises laboratoriais. Para comparar as variáveis estudadas entre os grupos de pacientes

utilizou-se teste “t” de Student, para comparação entre duas médias e o teste não-paramétrico de Mann-Whitney, para amostras não-homogêneas.

Foi usado coeficiente de correlação de Pearson, para verificar o grau de relação entre a idade e as variáveis laboratoriais e clínicas quando normais e Correlação de Sperman quando as amostras não foram normais; Na análise das correlações foi utilizada a seguinte escala de valores: abaixo de 0,0 (zero) como correlação negativa e acima de 0,0 (zero) como correlação positiva, com $p < 0,05$.

Utilizou-se teste de normalidade Shapiro Wilk $p > 0,05$. Fixou-se em 0,05 ou 5% (alfa menor ou igual a 0,05) o nível de rejeição da hipótese de nulidade. Usou-se o programa BioEstat 3.0.

4 RESULTADOS

Os dados obtidos neste trabalho resultaram da análise de 33 amostras, triadas por eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino e em pH ácido, onde 28 foram detectadas como de pacientes com anemia falciforme (HbSS) e 5 de pacientes com talassemia falciforme (HbS/ β tal).

A tabela 1 apresenta, respectivamente, as frações de hemoglobina S (HbS), hemoglobina fetal (HbF) e hemoglobina A₂ (HbA₂) dos pacientes estudados: grupo dos falcêmicos (HbSS), com média de 82,9%, 14,2% e 2,9%, e grupo dos portadores de talassemia falciforme (HbS/ β tal), com média de 81,5%, 13,1% e 5,3%, e os valores de p obtidos. A análise estatística, entre os grupos HbS e

HbS/talassemia, revelou haver diferenças significativas nos níveis de HbA₂ entre os portadores de anemia falciforme (HbA₂ = 2,9 ± 0,6 %) e os com talassemia falciforme (HbA₂ = 5,3 ± 0,3 %), com p valor < 0,0001. Não houve diferenças significativas nas frações de HbS e HbF entre os dois grupos de pacientes.

Tabela 1 – Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme (HbSS) e dos pacientes com talassemia falciforme (HbS/ beta tal), as diferenças entres os grupos

Variáveis	Grupo HbSS			Grupo HbS /β talassemia			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
HbS	82,9	8,26	9,96	81,5	3,8	4,74	0,73
HbF	14,2	8,62	60,7	13,1	4,11	31,3	0,79
HbA ₂	2,9	0,57	19,45	5,3	0,36	6,93	<0,0001

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação.

A tabela 2 apresenta os valores dos hemogramas dos pacientes com anemia falciforme (HbSS) e dos pacientes com talassemia falciforme (HbS/ β tal), assim como os valores de p encontrados no estudo comparativo entre os grupos. Observa-se que os pacientes com anemia falciforme revelaram uma anemia grave (Hb=7,8 g/dl) do subtipo normocítica normocrômica (VCM= 90,7 fl e CHCM= 33,6 g/dl), com elevado grau de anisocitose (RDW= 22,8%), anisocromia (HDW= 5,7 g/dl e CHDW= 4,3 pg) e presença, simultânea aos eritrócitos normocíticos normocrômicos, de eritrócitos macrocíticos, microcíticos, hiposaturados ou hipersaturados de hemoglobina, com discreta leucocitose (13.700 leucócitos/ mm³) e moderada plaquetose (575.900 plaquetas/ mm³).

A análise do hemograma dos 5 pacientes com talassemia falciforme revelou, anemia também grave (Hb= 8,2 g/dl), subtipo microcítica (VCM= 66,0 fl) com elevado grau de anisocitose (RDW= 20,5 %), moderado grau de anisocromia (HDW = 4,4 g/dl e CHDW = 4,1 pg) e presença, simultânea à uma pequena proporção de eritrócitos normocíticos normocrômicos, de inúmeros eritrócitos microcíticos, com a ausência completa de eritrócitos macrocíticos (% macro = 0%), tabela 2. Os valores do hemograma em estudo comparativo, apresentado nesta mesma tabela, demonstraram que não houve diferença no grau de anemia (nível de hemoglobina circulante) entre portadores de anemia falciforme e portadores de talassemia falciforme.

Tabela 2 – Valores dos índices do hemograma dos pacientes falcêmicos e dos pacientes com talassemia falciforme e as diferenças entre os grupos

Variáveis	Grupo HbSS			Grupo HbS / β talassemia			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
Hb g/dl	7.79	1.28	16.53	8,18	0,55	6,77	0,52
VCM fl	90.75	7.03	7.75	66,0	4,89	7,42	0,0001
HCM pg	30.02	2.12	7.09	21,8	1,14	5,25	0,0001
CHCM g/dl	33.57	1.66	4.97	33,3	1,9	5,98	0,86
RDW %	22.08	4.17	18.90	20,5	2,15	10,52	0,32
CHDW pg	4.26	0.63	14.97	4,09	0,6	15,29	0,002
HDW g/dl	5.69	1.01	17.88	4,38	0,48	11,11	0,35
% micro	7.28	4.88	67.05	35,5	14,83	41,72	0,006
% macro	7.82	7.14	91.23	0	0	0	
% hipo	9.42	10.82	114.8	9,9	7,01	70,42	0,63
% hiper	4.93	3.02	61.20	5,7	3,66	63,35	0,54
Leucócitos/mm ³	15.289	6.326	41.38	13.660	5.382	39,40	0,36
Plaquetas/mm ³	537.142	185.690	34.57	387.800	149.640	38,59	0,10

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. Hb - hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio, HCM - hemoglobina corpuscular média por laser, CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média por laser; RDW - amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos; CHDW - variação da HCM dos eritrócitos; HDW - variação da CHCM dos eritrócitos; % micro - percentual de micrócitos (células com menos de 60 fl); % macro - percentual de macrócitos (células com mais de 120 fl).

Os valores apresentados à tabela 3, demonstraram que apesar de todas as amostras apresentarem elevadas contagens de reticulócitos, houve diferença significativa (p valor = 0,0049) das médias das contagens de percentual de reticulócitos entre falcêmicos e portadores de talassemia falciforme, os quais apresentaram como resultados, respectivamente, 14,5% e 7,5%. Houve diferença significativa entre o aumento da proporção de reticulócitos imaturos entre o grupo dos falcêmicos (IRF= 36,9%) e dos talassêmicos falciformes (IRF= 51,2%), com p valor = 0,0031.

Os reticulócitos dos falcêmicos apresentaram VCMr, CHCMr e percentual de células hiperdensas maior que dos portadores de talassemia falciforme. Por outro

lado, o número de células hipodensas foi menor nos falcêmicos que nos talassêmicos falciformes, todos com p valor < 0,05.

Tabela 3 – Valores dos índices do reticulograma dos pacientes falcêmicos e dos pacientes com talassemia falciforme e as diferenças entre os grupos

Variáveis	Grupo HbSS			Grupo HbS /β talassemia			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
% ret	14.55	7.82	53.77	7,46	0,65	8,77	0,0049
VCMr fl	120.30	8.74	7.27	92,18	0,66	7,23	0,0002
HCMr pg	27.16	1.58	5.85	25,94	1,14	4,41	0,063
CHCMr g/dl	32.19	1.70	5.30	23,54	0,99	4,24	0,0004
% hipo ret	63.46	15.00	23.65	77,84	0,58	88,0	< 0,00001
% hiper ret	0.76	0.43	56.61	0,66	8,34	10,7	< 0,00001
% baixa HCMr	10.88	6.61	60.74	84,04	6,28	7,48	0,0004
% alta HCMr	51.80	15.75	30.41	0,52	6,87	89,5	0,0001
IRF %	51.19	13.01	25.43	36,98	0,46	18,6	0,0031

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. % ret- percentual de reticulócitos; VCM ret- volume corpuscular médio dos reticulócitos; HCM ret-hemoglobina Corpuscular média dos reticulócitos; CHCM-ret- Concentração hemoglobínica dos reticulócitos; % hiper- percentual de células hiperdensas dos reticulócitos, % hipo ret- percentual de células hipodensas dos reticulócitos; %baixa HCM ret- percentual de baixa HCM dos reticulócitos; % alta HCM ret- percentual de alta HCM dos reticulócitos.

Neste trabalho separou-se o grupo total de portadores de anemia falciforme através de três critérios: 1) da evolução clínica em grupo estável (grupo A) e instável (grupo B), pela idade (em menores e maiores de 11 anos) e pelo sexo, masculino ou feminino. O grupo de pacientes portadores de talassemia falciforme não pode ser subdividido para análise prognóstica, em razão do baixo número de casos obtidos (n=5).

O grupo de pacientes clinicamente estáveis (grupo A) composto por 19 pacientes, demonstrou valores significativamente maiores de hemoglobina fetal, HbF = $16,4 \pm 8,7$ %, contra $9,6 \pm 6,8$ % de HbF para o grupo B (n= 9 pacientes clinicamente instáveis), com p < 0,05. Para os níveis de HbS, também houve diferença significativa entre os grupos A e B, onde o nível HbS do grupo A foi em média de $80,7 \pm 8,3$ %, contra HbS de $87,3 \pm 6,4$ % para o grupo B (p < 0,05) de acordo com os dados da tabela 4.

Tabela 4 – Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme e as diferenças entres os grupos A (pacientes estáveis) e B (pacientes instáveis)

Variáveis	Grupo A			Grupo B			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	

HbS	80.72	8.32	10.31	87.33	6,45	7,39	0,032
HbF	16.37	8.70	53.14	9.61	6,76	7,39	0,036
HbA ₂	2.87	0.57	19.87	3.05	0,58	19,0	0,45

Nota: Hb- hemoglobina; Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação.

A tabela 5 apresenta as diferenças entre os valores dos marcadores encontrados no hemograma automatizado dos grupos A e B. O grau de anisocitose, do grupo A, com RDW de 20,5%, foi menor que do grupo B que foi de 25,3%, com p valor = 0,004. O grau de anisocromia (variação da concentração média de hemoglobina intraeritrocitária - HDW) foi em média de 4,0 g/dl para o grupo A e 4,8 g/dl para o grupo B, com p valor = 0,001. A variação do peso médio de hemoglobina intraeritrocitária (CHDW) foi em média 5,2 pg para o grupo A, sendo menor que a média do grupo B que foi de 5,8 pg, com p valor = 0,02.

Tabela 5 – Perfil do hemograma dos pacientes com anemia falciforme e as diferenças estatísticas entre os índices do hemograma dos grupo A (pacientes estáveis) e grupo B (pacientes instáveis)

Variáveis	Grupo A			Grupo B			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
Hb g/dl	8,11	1,21	14,91	7,12	1,24	17,4	0,05
VCM fl	89,77	5,61	6,25	92,82	9,42	10,1	0,29
HCM pg	30,08	1,41	6,25	29,90	3,27	10,9	0,41
CHCM g/dl	33,96	0,92	4,71	32,74	2,51	7,67	0,035
RDW %	20,53	1,63	2,74	25,34	5,92	23,5	0,004
CHDW pg	5,29	0,57	7,95	6,54	1,24	19,0	0,018
HDW g/dl	4,01	5,07	7,95	4,80	0,57	12,0	0,001
% micro	6,01	2,57	42,7	9,96	7,33	73,5	0,02
% macro	5,25	4,61	87,6	13,25	8,68	65,5	0,01
% hipo	5,85	2,84	48,5	16,96	16,82	99,1	0,008
% hiper	4,38	1,94	44,4	6,10	4,47	73,3	0,08
Leucócitos/mm ³	13.731	4.502	32,7	18.577	8.458	45,3	0,056
Plaquetas/mm ³	575.894	184.9	32,1	455.333	168.3	36,9	0,10

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. Hb – hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio, HCM - hemoglobina corpuscular média por laser, CHCM –

concentração de hemoglobina corpuscular média por laser; RDW - amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos; CHDW - variação da HCM dos eritrócitos; HDW - variação da CHCM dos eritrócitos; % micro – percentual de micrócitos (células com menos de 60 fl); % macro – percentual de macrócitos (células com mais de 120 fl).

No reticulograma automatizado foi encontrada diferença significativa entre os grupos A e B apenas na contagem % de reticulócitos (% ret = 12,4 % no grupo A, contra 19,1% no grupo B, com $p = 0,01$). Exceto pelo % de reticulócitos hiperdensos, nenhum dos demais índices reticulocitários automatizados revelou diferença significativa em nosso estudo comparativo.

Tabela 6 – Perfil reticulocitário dos pacientes falciformes dos grupos A (estáveis) e B (instáveis) e as diferenças significativas entre os índices desses dois grupos

Variáveis	Grupo A			Grupo B			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
% ret	12,4	4,3	34,72	19,10	11,43	59,88	0,015
VCMr fl	118,5	7,27	6,14	124,11	10,72	8,64	0,11
HCMr pg	27,29	1,49	5,48	26,88	1,83	6,82	0,53
CHCMr g/dl	31,93	1,32	4,16	32,75	2,30	7,05	0,23
% hipo ret	62,05	14,29	23,04	0,94	0,41	44,33	0,48
% hiper ret	0,67	0,41	62,16	66,43	16,89	25,44	0,038
% baixa HCMr	10,35	5,03	48,58	12,01	9,41	78,36	0,98
% alta HCMr	49,16	13,72	27,91	57,38	19,03	33,17	0,20
IRF %	48,30	8,30	17,19	57,30	18,84	32,88	0,25

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. % ret- percentual de reticulócitos; VCM ret- volume corpuscular médio dos reticulócitos; HCM ret-hemoglobina Corpuscular média dos reticulócitos; CHCM-ret- Concentração hemoglobínica dos reticulócitos; % hiper- percentual de células hiperdensas dos reticulócitos, % hipo ret- percentual de células hipodensas dos reticulócitos; %baixa HCM ret- percentual de baixa HCM dos reticulócitos; % alta HCM ret- percentual de alta HCM dos reticulócitos.

O estudo da correlação entre os níveis de HbF dos pacientes falcêmicos e os índices do hemograma demonstrou correlação significativa com os níveis de hemoglobina total dos pacientes; com o RDW, $r = -0,490$ e p valor = 0,008, o HDW sendo $r = -0,763$, com p valor < 0,000001 ; o CHDW, com $r = -0,431$, e p valor = 0,02 e o percentual (%) de microcitos, de macrócitos e de células hipodensas de hemoglobina e dos eritrócitos também apresentaram correlação significativa com os

níveis de HbF. Não houve correlação significativa entre a HbF e os demais índices estudados, tabela 7.

Tabela 7 – Correlação entre os valores dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) versus os valores hematológicos do hemograma nos pacientes portadores de HbSS

Variantes	r	p valor
HbF x Hb	0,454	0,01
HbF x VCM	0,148	0,449
HbF x HCM laser	0,302	0,117
HbF x CHCM laser	0,213	0,27
HbF x RDW	- 0,490	0,008
HbF x CHDW	- 0,431	0,02
HbF x HDW	- 0,763	0,00001
HbF x %micro	- 0,424	0,024
HbF x %macro	- 0,134	0,49
HbF x %hipo	- 0,506	0,006
HbF x %hiper	- 0,474	0,01
HbF x Leucócitos	0,0317	0,872
HbF x Plaquetas	- 0,0046	0,981

Nota: r- Correlação (Pearson ou Spearman).

Hb - hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio, HCM - hemoglobina corpuscular média por laser, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média por laser; RDW - amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos; CHDW - variação da HCM dos eritrócitos; HDW - variação da CHCM dos eritrócitos; % micro – percentual de micrócitos (células com menos de 60 fl); % macro – percentual de macrócitos (células com mais de 120 fl).

A idade dos pacientes com anemia falciforme variou entre 2 e 39 anos sendo a média igual a 11,6 anos. Dezesete pacientes apresentaram faixa etária de 0 a 11 anos e onze pacientes acima dos 11 anos. A avaliação prognostica relacionando a idade dos pacientes (grupo de pacientes menores de 11 anos e maiores de 11 anos) revelou, de acordo com a tabela 8, que os pacientes com menor idade tendem a maiores níveis de HbF, e menores níveis de HbS.

Tabela 8 – Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme por faixa etária e as diferenças entres o grupo de pacientes com idade menor que 11 anos e o grupo com idade acima de 11 anos

Variáveis	Grupo <11 anos			Grupo >11 anos			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
HbS	79,5	8,35	10,14	87,96	5,7	6,51	0,006
HbF	17,5	8,05	47,30	8,8	6,1	68,9	0,005
HbA ₂	2,7	0,51	18,61	3,19	0,58	18,1	0,055

Nota: Hb-Hemoglobina; Dp corresponde a desvio padrão e Cv a coeficiente de variação.

O percentual de células hiperdensas de hemoglobina, no hemograma, foi significativamente maior nos pacientes maiores de 11 anos em relação aos menores de 11, tabela 9.

Tabela 9 – Valores do hemograma dos pacientes com anemia falciforme por grupos de faixa etária e as diferenças entre os grupos

Variáveis	Grupo <11 anos			Grupo B > 11 anos			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
Hb g/dl	7,7	1,4	18,51	7,8	1,09	13,83	0,76
VCM fl	91,37	5,7	6,29	89,8	8,88	9,90	0,57
HCM pg	29,95	1,9	6,61	30,13	2,43	8,10	0,52
CHCM g/dl	33,28	1,9	5,84	34,0	1,06	3,12	0,46
RDW %	22,40	5,0	22,64	21,58	2,32	10,78	0,88
CHDW pg	5,73	1,11	14,17	5,63	0,89	15,91	0,065
HDW g/dl	4,09	0,57	19,44	4,54	0,65	14,37	1,0
% micro	7,18	5,47	76,18	7,43	4,05	54,47	0,60
% macro	8,21	7,18	87,48	7,22	7,37	102,0	0,68
% hipo	10,68	13,41	125,51	7,48	4,64	62,06	0,98
% hiper	3,85	2,15	56,01	6,60	3,48	52,66	0,007
Leucócitos/mm ³	16.911	7,308	43,22	12.781,8	3347,7	26,19	0,09
Plaquetas/mm ³	545.529	184.328	33,79	524.18	196.050,	37,40	0,77

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. Hb - hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio, HCM - hemoglobina corpuscular média por laser, CHCM - concentração de hemoglobina corpuscular média por laser; RDW - amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos; CHDW - variação da HCM dos eritrócitos; HDW - variação da CHCM dos eritrócitos; % micro - percentual de micrócitos (células com menos de 60 fl); % macro - percentual de macrócitos (células com mais de 120 fl).

Os pacientes com menor idade apresentaram maiores contagens de reticulócitos, sendo a média 16,92% para os menores de 11 anos contra 10,89% para os acima dos 11 anos, com p valor = 0,0001. Houve diferença no percentual de

reticulócitos hiperdensos (0,61% contra 0,99%) entre maiores e menores de 11 anos), tabela 10.

Tabela 10 – Valores dos índices do reticulograma dos pacientes com anemia falciforme por grupo faixa etária e a diferenças entre os mesmos

Variáveis	Grupo <11 anos			Grupo B > 11 anos			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
% ret	16,92 %	8,98	53,08	10,89 %	3,44	31,60	0,0001
VCMr fl	119,52 fl	6,83	5,72	121,50 fl	11,35	9,35	0,52
HCMr pg	27,32 pg	1,37	5,02	26,91 pg	1,92	7,15	0,72
CHCMr g/dl	32,25 g/dl	1,38	4,29	32,10 g/dl	2,18	6,81	0,81
% hipo ret	61,94 %	14,51	23,43	65,80 %	16,15	24,55	0,51
% hiper ret	0,61 %	0,34	56,88	0,99 %	0,45	46,35	0,0001
% baixa HCMr	10,21 %	7,14	69,88	11,92 %	5,88	49,31	0,27
% alta HCMr	53,05 %	11,85	22,35	49,87 %	20,93	41,98	0,61
IRF %	51,38 %	10,44	20,32	50,90 %	16,81	33,04	0,28

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação.

% ret- percentual de reticulócitos; VCM ret- volume corpuscular médio dos reticulócitos; HCM ret-hemoglobina Corpuscular média dos reticulócitos; CHCM-ret- Concentração hemoglobínica dos reticulócitos; % hiper- percentual de células hiperdensas dos reticulócitos, % hipo ret- percentual de células hipodensas dos reticulócitos; %baixa HCM ret- percentual de baixa HCM dos reticulócitos; % alta HCM ret- percentual de alta HCM dos reticulócitos.

A tabela 11 apresenta a média, desvio padrão e coeficiente de variação dos níveis das frações de hemoglobinas encontradas nos pacientes em relação ao sexo. Os pacientes do sexo masculino apresentaram níveis de HbS, HbF em média menores que o grupo feminino, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre eles, também não houve diferença nos níveis de HbA₂ entre os grupos masculino e feminino dos pacientes com anemia falciforme estudados.

Tabela 11 – Níveis das frações de hemoglobinas dos pacientes com anemia falciforme por sexo e as diferenças entres os grupos

Variáveis	Grupo masculino			Grupo feminino			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
HbS	83,95	8,9	10,62	81,60	7,57	9,28	0,45
HbF	13,04	9,36	71,80	15,53	7,83	50,47	0,47
HbA ₂	3,0	0,6	20,00	2,86	0,55	19,22	0,53

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação.

Encontram-se na tabela 12 os valores das médias, desvio padrão e coeficiente variação dos marcadores do hemograma. Os dados demonstram não

haver diferença significativa os sexos no grau de anemia (níveis de Hb equivalentes) nem nos índices RDW, HDW e CHDW. Para o grau de leucocitose entre os pacientes do sexo feminino e masculino foi encontrada diferença significativa (leucócitos = 18.300/mm³ para sexo feminino contra 12.600/mm³ para o sexo masculino, p = 0,007) e também na proporção de células hiperdensas (% hiper) na CHCM laser (que reflete a média da concentração interna de hemoglobina nos eritrócitos).

Tabela 12 – Valores do hemograma dos pacientes com anemia falciforme por grupo masculino e feminino e as diferenças significativas dos índices entre os sexos

Variáveis	Grupo masculino			Grupo feminino			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
Hb g/dl	8,04	1,36	16,99	7,50	1,17	15,71	0,27
VCM fl	88,86	7,57	8,53	92,93	5,88	6,33	0,12
HCM pg	29,90	1,63	5,46	30,16	2,65	8,80	0,75
CHCM g/dl	34,12	1,25	3,68	32,93	1,9	5,77	0,04
RDW %	21,16	2,24	10,58	23,13	5,57	24,10	0,54
CHDW pg	5,48	0,85	15,64	5,93	1,16	19,63	
HDW g/dl	4,36	0,74	17,40	4,22	0,50	12,04	0,72
% micro	7,13	3,56	50,04	7,46	6,22	83,44	0,26
% macro	6,08	6,55	107,8	9,84	7,56	76,23	0,89
% hipo	7,04	4,61	65,57	12,18	14,94	122,6	0,59
% hiper	5,96	3,59	60,31	3,75	1,62	43,22	0,026
Leucócitos/mm ³	12.633	3.978	31,50	18.353,8	7.252,3	39,51	0,007
Plaquetas/mm ³	590.13	176.06	29,84	476.000	184.010	38,66	0,63

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. Hb - hemoglobina; VCM - volume corpuscular médio, HCM - hemoglobina corpuscular média por laser, CHCM – concentração de hemoglobina corpuscular média por laser; RDW - amplitude de distribuição do volume dos eritrócitos; CHDW - variação da HCM dos eritrócitos; HDW - variação da CHCM dos eritrócitos; % micro – percentual de micrócitos (células com menos de 60 fl); % macro – percentual de macrócitos (células com mais de 120 fl).

O VCMr dos pacientes do sexo masculino foram em média menores que os encontrados no sexo feminino, p valor = 0,046 . O percentual (%) de hipodensidade dos reticulócitos dos pacientes do sexo feminino foram maiores que os do sexo masculino, com p de 0,04, tabela 13.

Tabela 13 – Valores do reticulograma dos pacientes falcêmicos por sexo e as diferenças desses índices pelo sexo dos pacientes

Variáveis	Grupo masculino			Grupo feminino			p valor
	Média	Dp	Cv%	Média	Dp	CV%	
% ret	12,14	4,95	40,82	17,34	9,66	55,73	0,11
VCMr fl	117,27	9,4	8,10	123,8	6,48	5,24	0,046
HCMr pg	27,70	1,03	3,72	26,54	1,9	7,22	0,67
CHCMr g/dl	32,06	1,62	5,08	32,34	1,8	5,70	0,16
% hipo ret	58,24	13,29	22,82	69,47	15,07	21,70	0,04
% hiper ret	0,71	0,41	58,49	0,81	0,45	55,94	0,54
% baixa HCMr	10,42	5,4	52,73	11,42	7,91	69,25	0,85
% alta HCMr	50,31	16,14	32,09	53,53	15,76	29,44	0,59
IRF %	51,92	16,12	31,06	50,36	8,74	17,36	0,89

Nota: Dp corresponde a desvio padrão e CV a coeficiente de variação. % ret- percentual de reticulócitos; VCM ret- volume corpuscular médio dos reticulócitos; HCM ret-hemoglobina Corpuscular média dos reticulócitos;CHCM-ret- Concentração hemoglobínica dos reticulócitos; % hiper- percentual de células hiperdensas dos reticulócitos, % hipo ret- percentual de células hipodensas dos reticulócitos; %baixa HCM ret- percentual de baixa HCM dos reticulócitos; % alta HCM ret- percentual de alta HCM dos reticulócitos.

5 DISCUSSÃO

As doenças falciformes se caracterizam por genótipos bem definidos. Porém o diagnóstico laboratorial se torna difícil quando se trata das interações da HbS com as talassemias. Por esse motivo, Naoum e Bonini-Domingos (2007) ressaltam a necessidade de novos métodos que devem complementar a dosagem de HbA₂ e de hemoglobina fetal no diagnóstico dos diferentes tipos de associações genéticas da HbS. Nosso trabalho se propôs a avaliar alguns marcadores laboratoriais no diagnóstico e prognóstico de pacientes com doenças falciformes.

A análise estatística do nosso estudo revelou haver diferenças significativas nos níveis de HbA₂ entre os portadores de anemia falciforme (HbA₂ = 2,9 ± 0,6 %) e os com talassemia falciforme (HbA₂ = 5,3 ± 0,3 %), com p < 0,0001. Não houve diferenças significativas nas frações de HbS e HbF entre os dois grupos de pacientes, tabela 1. Estes dados estão de acordo com dados de Nascimento e Silva (2005), e se justificam posto que o mecanismo fisiopatológico das betas talassemias, leva a aumento da produção de cadeias delta, o que acarreta, conseqüentemente, elevação da proporção de HbA₂ no sangue.

O perfil de hemoglobinas obtidos em nosso estudo revelou que a variação dos níveis de HbF nos talassêmicos falciformes (HbF com CV = 31,3 %), tabela 1, foi bem menor (quase a metade) que aquela obtida entre os portadores de anemia falciforme. Este achado talvez possa ser justificável, pois apenas 1 dos 5 pacientes talassêmicos falciformes estudados revelara instabilidade clínica, o que pode ter refletido em uma maior homogeneidade nos níveis de hemoglobina fetal deste grupo de pacientes.

São inúmeros os dados da literatura apontam o nível de hemoglobina fetal como fator de proteção aos doentes com anemia falciforme, o que justificaria menor número de crises e melhor evolução e prognóstico da doença (FIGUEIREDO, 2007 b; NAOUM, 2000; UDA, 2008). Assim, a heterogeneidade dos níveis de fetal obtida neste trabalho (HbF com CV = 60,7%), tabela 1, poderia justificar a grande diversidade clínica da doença também refletida em nosso estudo, quando muitos dos pacientes revelavam instabilidade clínica em sua evolução.

Segundo Setty (2001), o quadro clínico entre doentes falciformes é mais grave na anemia falciforme e na S/β⁰talassemia com níveis menos elevados de HbF (ou seja, HbF < 10%), enquanto quadros mais leves estão correlacionados com níveis mais elevados de HbF ou casos de S β⁺talassemia. Nestes últimos pacientes

ocorre a produção de HbA que, embora em menor quantidade do que a HbS, é suficiente para inibir a formação de polímeros (KENNE et al., 2007). Nossos dados estão de acordo com a referida literatura em relação aos portadores de anemia falciforme. Entretanto, como em nosso estudo não foi feito nenhum estudo genético-molecular, bem como devido ao pequeno número de casos de talassemia falciforme, não podemos comparar qualquer dado prognóstico da literatura em relação aos subtipos de duplos heterozigotos talassêmicos falciformes.

É comum haver certa dificuldade no diagnóstico diferencial das doenças falciformes (MELO, 2002; NAOUM; BONINI-DOMINGOS, 2007). Este problema reside no fato de que todas as doenças falciformes podem apresentar células em foice no sangue (os drepanócitos observados no hemograma) terem o teste de falcização positivo (um teste específico para detectar células em foice in vitro), bem como sinais clínicos equivalentes (OLIVEIRA, 2007). Em realidade, por se tratarem de doenças distintas, cuja herança genética e prognóstico são também distintos, devem ser diagnosticadas de modo diferenciado, para conduta apropriada. Além disso, o aconselhamento genético que é baseado em possibilidades de cruzamento entre alelos específicos, herdados do pai e da mãe, de um portador de anemia falciforme, por exemplo, é bem distinto de um com talassemia falciforme.

Os pacientes com anemia falciforme revelaram uma anemia grave do subtipo normocítica normocrômico com elevado grau de anisocitose (RDW), anisocromia (HDW) e presença, simultânea aos eritrócitos normocíticos normocrômicos, de eritrócitos macrocíticos, microcíticos, hiposaturados ou hipersaturados de hemoglobina, com discreta leucocitose e moderada plaquetose, tabela 2. Apesar de não terem demonstrado diferenças no grau de anemia, leucocitose e plaquetose, o que de fato dificulta o diagnóstico diferencial para com os falcêmicos homozigotos (HbSS), os pacientes com talassemia falciforme apresentaram valores contundentes que podem em muito auxiliar o diagnóstico diferencial para com os falcêmicos, tais como: uma anemia caracteristicamente microcítica, com VCM e HCM inquestionavelmente menores, o que talvez possa refletir que os clones de eritroblastos dos talassêmicos falciformes fazem número bem maior de mitoses que o dos portadores de anemia falciforme (HbSS); uma menor variação na HCM, refletida pelo menor CHDW, justificável, pois como as células dos talassêmicos falciformes são bem menores e com menor variação entre

seus volumes, há de se entender uma menor variação em seus pesos de hemoglobina.

Um outro dado bastante representativo obtido neste estudo e que pode ser de grande utilidade para a diferenciação entre portadores de anemia falciforme e talassemia falciforme é que nenhum dos talassêmicos falciformes apresentou qualquer percentagem de eritrócitos com mais de 120 fentolitros (fl), caracterizados em nosso trabalho como macrócitos, o que difere sobremaneira dos portadores de anemia falciforme, cuja característica marcante é um elevado grau de anisocitose, com sobreposição de macrócitos aos normócitos e micrócitos. De fato, em nosso estudo, todos os portadores de anemia falciforme apresentaram elevado grau de macrócitos, tabela 2.

O perfil reticulocitário dos falcêmicos revelou que, realmente, todas as amostras apresentaram elevadas contagens de reticulócitos, cuja média foi de 14,5%, com aumento da proporção de reticulócitos imaturos (IRF= 51,2%), o que comprova um grande aumento da produção eritróide, como forma de tentar diminuir o grau de anemia. As características do reticulograma dos pacientes com talassemia falciforme revelou certa elevação nas contagens de reticulócitos, cuja média foi de 7,5%, também com aumento da proporção de reticulócitos imaturos (IRF= 36,9%), tabela 3. Assim, apesar de a produção eritróide estar sempre aumentada, como uma tentativa de diminuir o grau de anemia (aumento da hemoglobina circulante) o nível basal de hemoglobina se mantém bastante diminuído, pois a destruição precoce dos eritrócitos é muito elevada.

Os valores do reticulograma revelaram que os reticulócitos dos talassêmicos falciformes são significativamente menores, menos hemoglobinizados, e são produzidos em menor quantidade que os reticulócitos dos portadores de anemia falciforme (tabela 3), o que é plenamente justificável pois as talassemias tem como característica marcante a falha de hemoglobinação dos eritrócitos, o que dificulta a eritropoese, e força os eritroblastos a fazerem um maior número de mitoses tornando os reticulócitos menores e mais leves em peso de hemoglobina, fato este que não ocorre na anemia falciforme. Tudo isto demonstra que a utilização da mais moderna tecnologia do laser na automação, torna menos complexa a diferenciação entre as doenças falciformes. Enfim, isto sugere que tais índices devam ser incorporados à rotina como marcadores adicionais à eletroforese de

hemoglobinas, na diferenciação ordinária entre a anemia falciforme e a talassemia falciforme.

Assim sendo, em uma avaliação de rotina, um paciente que mesmo tendo anemia grave, falciteste positivo e células em foice no hemograma, apresentarem elevado número de micrócitos e VCM diminuído, são mais prováveis serem talassêmicos falciformes que portadores de anemia falciforme, principalmente se não houver qualquer percentual de células com mais de 120 fl no sangue.

Se por um lado o diagnóstico define especificamente uma doença, o prognóstico antevê o comportamento de um determinado paciente portador daquela doença (OLIVEIRA, 2007). Dados da literatura atestam que alguns marcadores laboratoriais como o nível de hemoglobina fetal estão associados a melhor prognóstico de portadores de anemia falciforme (FATHALLAH; ATWEH, 2006; UDA, 2008). As diferenças estatísticas encontradas entre os grupos analisados por estabilidade clínica em nosso estudo demonstram que o grupo considerado estável (grupo A) apresentou maior nível de hemoglobina fetal ($16,4 \pm 8,7$ %) que os pacientes do grupo B - instáveis, ($9,6 \pm 6,8$ %), com p valor < 0,05. Estes dados podem auxiliar na compreensão do estado clínico dos pacientes com anemia falciforme, confirmando realmente que os níveis elevados de HbF podem ser um fator de bom prognóstico para os pacientes com tal patologia.

Os resultados para os marcadores do hemograma automatizado revelaram haver diferenças significativas entre os grupos A e B para o grau de anisocitose (RDW), de anisocromia (a variação da concentração média de hemoglobina intraeritrocitária – HDW) e para a variação do peso médio de hemoglobina intraeritrocitária (CHDW), tabela 5. Os dados demonstram que os pacientes considerados estáveis apresentaram menor variação de tamanho, cor e peso de hemoglobina, comprovando a importância da utilização desses marcadores no prognóstico desses pacientes.

A média do percentual de reticulócitos do grupo B (instável) foi significativamente maior que a do grupo A (estável). Entretanto, não houve correlação significativa entre os níveis de HbF e o % de reticulócitos estudados em nossa casuística. Portanto, contagens mais elevadas de reticulócitos, isoladamente, devem apontar apenas uma maior necessidade de produção eritrocitária pela medula óssea, mas não necessariamente um sinal de prognóstico desfavorável.

Nenhum dos demais índices reticulocitários automatizados estudados entre os grupos A e B de falcêmicos revelou diferenças significativas, tabela 6.

Quando da análise da correlação entre os níveis de HbF e os índices do hemograma observou-se uma correlação significativa entre os valores da Hb ($r = 0,454$ e $p = 0,01$), do RDW ($r_s = -0,490$ e $p = 0,008$), do HDW ($r = -0,763$ e $p < 0,000001$) e do CHDW ($r_s = -0,431$ e $p = 0,02$) e os níveis da fração de HbF no total de pacientes com anemia falciforme estudados. Como todos estes índices demonstraram diferenças significativas entre os pacientes estáveis (grupo A) e instáveis (grupo B), e significativa correlação com os níveis de HbF, isto nos permite inferir que, tais índices automatizados derivados da tecnologia do laser, podem ser incorporados como recurso simples, rápido, preciso e eficiente, na avaliação da estabilidade clínica de pacientes com anemia falciforme, principalmente o HDW que revelou elevada correlação negativa com os níveis de HbF, tabela 7. Não há qualquer estudo na literatura que correlacione estes índices eritrocitários com os níveis de hemoglobina fetal em falcêmicos.

Em relação às sub-populações de eritrócitos, classificados de modo preciso pelo tamanho (macrócitos e micrócitos) e densidade de hemoglobina (células hipodensas e hiperdensas), nossos resultados apontam que os pacientes que evoluem clinicamente de modo desfavorável possuem maior número de macrócitos hipodensos de hemoglobina (tabela 5), o que se justifica, pois tais pacientes tendem a ser mais anêmicos e, como resposta, há maior produção de reticulócitos pela medula óssea dos mesmos. À luz da tecnologia do laser, os referidos macrócitos hipodensos são os mesmos macrócitos policromáticos, que correspondem em realidade aos reticulócitos, os quais se mostraram mais elevados nos pacientes clinicamente instáveis. A significativa correlação negativa entre o número de micrócitos, tabela 7 (que em realidade correspondem às células em foice – drepanócitos) as quais perderam área de superfície ao saírem da forma bicôncava discóide para forma alongada, e os níveis de HbF, sugere realmente que quanto maior número de células afoiçadas, pior deve ser a evolução clínica dos falcêmicos.

Os níveis de HbF (tabela 8) foram maiores nas crianças, assim como índice de reticulócitos (tabela 9), esse aumento da contagem de reticulócitos isoladamente não deve ser um mau sinal prognóstico, mas sim uma maior capacidade das crianças em aumentar a produção eritróide frente a uma anemia, tabela 9.

A avaliação dos pacientes com anemia falciforme pelo sexo nos revelou não haver diferenças significativas em nenhuma das frações de hemoglobinas (HbS, HbF ou HbA₂), tabela 11, ou no grau de anemia (níveis de Hb equivalentes), tabela 12. Tampouco houve diferenças para o RDW, HDW e CHDW, tabela 12, os quais haviam se revelado distintos no estudo entre os grupos A e B de pacientes. Houve diferenças significativas apenas na proporção de células hiperdensas (% hiper) na CHCM laser (que reflete a média da concentração interna de hemoglobina nos eritrócitos) e no grau de leucocitose entre os pacientes do sexo feminino e masculino (leucócitos = 18.300/mm³ para sexo feminino contra 12.600/mm³ para o sexo masculino, p = 0,007), tabela 12. A análise dos índices do reticulograma demonstrou diferença significativa entre o VCMr e o % de hipodensidade dos reticulócitos dos pacientes do sexo feminino que foram maiores que os do sexo masculino, com p de respectivamente 0,046 e 0,04, tabela 13, o que sugere haver saída mais precoce da medula dos reticulócitos das mulheres que dos homens.

Entretanto, como estes marcadores acima referidos como distintos entre os sexos não apresentaram qualquer diferença na avaliação da estabilidade clínica dos pacientes, os dados sugerem que a distinção do sexo não deva conferir qualquer prognóstico diferencial entre os pacientes com anemia falciforme.

6 CONCLUSÃO

Os pacientes com anemia falciforme revelaram grande variação nos níveis de hemoglobina fetal ($14,2 \pm 8,6\%$ com CV de 60,7%).

Os pacientes com talassemia falciforme revelaram menor variação nos níveis de hemoglobina fetal ($13,1 \pm 4,1\%$ com CV de 31,3%), que os pacientes com anemia falciforme.

Houve forte associação entre os níveis de hemoglobina fetal e a estabilidade clínica, revelando que pacientes portadores de anemia falciforme com maiores níveis de hemoglobina fetal tendem a ser mais estáveis.

Pacientes com anemia falciforme instáveis clinicamente revelaram ter menores e mais homogêneos níveis de hemoglobina fetal que os estáveis.

Não houve qualquer associação entre os níveis de hemoglobina A₂ e a estabilidade clínica do pacientes com anemia falciforme.

Pacientes com menos de 11 anos de idade com anemia falciforme revelaram maiores níveis de hemoglobina fetal, menores níveis de hemoglobina S e menor propensão a instabilidade clínica que os maiores de 11 anos.

A distinção entre os sexos parece não predizer qualquer prognóstico de estabilidade clínica em pacientes com anemia falciforme.

A diminuição do VCM, da HCM, do CHDW, o elevado % de micrócitos e a ausência de eritrócitos com mais de 120,0 fl de volume, são fortes marcadores da talassemia falciforme e podem ser utilizados no diagnóstico diferencial desta patologia com a anemia falciforme, independente da presença de células em foice no hemograma.

A diminuição do VCMr, da HCMr, e a elevada proporção de reticulócitos proporcionalmente pouco hemoglobinizados, são fortes marcadores da talassemia falciforme e podem ser utilizados no diagnóstico diferencial desta patologia com a anemia falciforme.

O nível de Hb total, RDW, CHDW e HDW, principalmente o HDW, revelaram forte correlação com os níveis de hemoglobina fetal nos pacientes com anemia falciforme e podem ser utilizados na prática laboratorial na avaliação clínica destes pacientes.

Pacientes clinicamente instáveis tendem a ter maiores percentuais macrócitos hipodensos de hemoglobina, os macrócitos policromáticos ou reticulócitos, e maior número de células microcíticas, que correspondem às células em foice.

Os pacientes com anemia falciforme com maior instabilidade clínica tendem a ter maiores contagens de reticulócitos que os mais estáveis.

REFERÊNCIAS

- ÂNGULO, IL. Acidente vascular cerebral e outras complicações do sistema nervoso central nas doenças falciformes. **R. Bras. Hematol. Hemoter**, v. 29, n. 3, p. 262-267, 2007.
- _____. Crises falciformes. In: Simpósio Urgências e Emergências Hematológicas. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 36, p. 427-430, abr./dez. 2003.
- ARAÚJO, P. I. C. O autocuidado na doença falciforme. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p.239-246, 2007.
- ASHLEY-KOCH, A.; YANG, Q.; OLNEY, R. S. Sickle hemoglobin (HbS) allele and sickle cell disease. **Am. Journal Gen.**, v.1, n. 151, p. 839-845, 2000.
- BEIGUELMAN, B. **Genética de populações humanas**. Disponível em: <http://lineu.icb.usp.br/bbeiguel/genetica_populacoes/>. Acesso em: 10 maio 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Assistência à Saúde. Departamento de Assistência e Promoção à Saúde. Coordenação de Sangue e Homoderivados. **Programa de Anemia Falciforme**. Brasília, DF, 2007. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>>. Acesso em: 10 dez. 2007.
- _____. Ministério da Saúde. **Triagem neonatal**: manual de normas técnicas e rotinas operacionais do programa nacional de triagem neonatal. 2. ed. ampl. Brasília, DF, 2004.
- BRUNIERA, P. Crise de seqüestro esplênico na doença falciforme. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 259-261, 2007.

BUCHANAN, G. R.; KAHN, M. J. **Hemolytic anemias**. ASH-SAP, 2007.

BUNN, H. F. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. **N. Engl. J. Med.**, Massachussets, v. 337, n. 11, p. 762-769, 1997.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A. Doença falciforme no Brasil. **R. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.

CHINELATO-FERNANDES, A. R.; DOMINGOS, C. R. B. Metodologias laboratoriais para o diagnóstico de hemoglobinas variantes. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 28, n. 1, p. 65-70, 2006.

COLLER, B. S. Leukocytosis and Ischemic vascular disease morbidity and mortality: is it time to intervene?. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Bio.**, v. 25, p. 658-670, 2005.

COSTA, P. J. M. S. et al. Diversidade clínica e laboratorial no haplótipo Bantu da anemia falciforme. **R. Hematol. Hemoter.**, v. 28, n. 1, p. 40-44, 2006.

COVAS, D. T. et al. Effects of hydroxyurea on the membrane of erythrocytes and platelets in sickle cell anemia. **Haematologica**, v. 89, n. 3, p. 273-80, 2004.

DAVIES, S. C.; ROBERTS-HAREWOOD, M. Blood transfusion in sickle cell disease. **Blood**, v. 11, p. 57-71, 1997.

DEBAUN, M. R., FIELD, J. J. Limitations of clinical trials in sickle cell disease: a case study of the multi-center study of Hydroxyurea (MSH) trial and the stroke prevention (STOP) trial. **ASH Education Book**, 2007.

DI NUZZIO, D. V. P.; FONSECA, S. F. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 80, n. 5, p. 347-54, 2004.

DURHAN, W. H. **Co-evaluation**: genes culture and human diversity. California: Standford University Press, 1991.

FABRON JR., A. Clínica e tratamento das doenças falciformes. In: NAOUM, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. São Paulo: Sarvier, 1997.

FATHALLAH, H.; ATWEH, G. F. Induction of fetal hemoglobin in the treatment of sickle cell disease. **ASH Education Book**, 2006.

FERRAZ, M. H. C.; MURÃO, M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 218-222, 2007.

FIGUEIREDO, M. S. Agentes indutores da síntese de hemoglobina fetal: fetal hemoglobin inducing factors. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 313-315, 2007a.

_____. Effect of α -Thalassemia and β -globin gene cluster haplotypes on the hematological and clinical features sickle cell anemia in Brazil. **American Journal of Hematology**, v. 53, p.72-76, 1996.

_____. Fatores moduladores da gravidade da evolução clínica da anemia falciforme. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 215-217, 2007b.

FOURCADE, L. C. H.; BELAOUNI, J. H. Reticulocyte analysis provided by the coulter GEN.S: significance and interpretation in regenerative and nonregenerative hemolytic conditions. **Laboratory Hematology**, v. 5, p. 153-158, 1999.

FLEURY, M. K. Haplótipos do cluster da globina beta em pacientes com anemia falciforme no Rio de Janeiro: Aspectos Laboratoriais. **RBAC**, v. 32,n.2, p. 89-93, 2007.

GALIZA NETO, G. C.; PITOMBEIRA, M. S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **J. Bras. Patol. Med. Laboratorial.**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, 2003.

GANER,C.J.et al. Haplótypes mapping of a major qualitative- trait locus for fetal hemoglobin production, on chromosome 6q23. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 62, p.1468-1474,1998.

HEBBEL, R. P. Adhesive interactions of sickle cell erythrocytes with endothelium. **The American Society for Clinical Investigation.**, v. 99, n. 11, p. 2561-2564, 1997.

HOFFBRAND, A. V.; PETTIT, J. E. **Atlas colorido de hematologia clínica**. 3. ed. São Paulo: Manole, 2001.

HOFFMANN, L. P. Avaliação dos índices hematimétricos emitidos pelos contadores hematológicos Pentra 120, Range e Sysmex XT-2000i. **R. Bras. Análises Clínicas**, v. 39, n. 1, p. 25-28, 2007.

ITANO, H. A.; PAULING, L. A rapid diagnostic test for sickle cell anemia. **Blood**, v. 4, p. 66-68, 1949.

KENNE, T. H. et al. B Thalassemia and sickle cell anemia as paradigmas of hypercoagulability. **British Journal of Haematology**, v. 139, n 1, p.3, october, 2007.

KLINGS, E. S. et al. Abnormal pulmonary function in adults with sickle cell anemia. **Am. J. Respir. Crit. Care Med.**, v. 173, p. 1264-1269, 2006.

KOCH, A. A. et al. Sickle hemoglobin (HbS) allele and sickle cell disease. **American Journal of Genetics**, v. 151, n. 9, p. 839-845, 2000.

LEMSADDEK, W. et al. Spectrum of β thalassemia mutations and HbF levels in the heterozygous moroccans population. **AM. J. Hematology**, v. 73, p.161-168, 2003.

LEVARSEUR, D. N. et al. A recombinant human hemoglobin with anti-sickling properties greater than Fetal hemoglobin. **J. Biol. Chem.**, v. 279, n. 26, p. 27518-27524, Jun. 2004.

LIMA, O. A. et al. **Métodos de laboratório aplicados a clínica: técnicas e interpretação**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

LOBO, C. et al. Crises dolorosas na doença falciforme. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 247-258, 2007.

LOUREIRO, M. M.; ROZENFELD, S. Epidemiologia das internações por doença falciforme no Brasil. **R. Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 943-949, 2005.

MACHADO, R. F. P. Hipertensão arterial pulmonar associada á anemia falciforme. **J. Bras. Pneumol.**, v. 33, n. 5, p. 583-591, 2007.

MELO, M. R. Uso de índices hematimétricos no diagnóstico diferencial de anemias microcíticas: uma abordagem a ser adotada?. **R. Assoc. Med. Bras.**, v. 48, n. 3, p. 222-224, 2002.

MEZZOMO, F. et al. Comportamento da reticulometria antes e após a suplementação de dietética ferrosa, em crianças com anemia ferropriva, em Erichim-RS. **R. Bras. Análises Clínicas**, v. 39, n. 2, p. 131-134, 2007.

MOREIRA, Gustavo Antonio. Respiratory repercussions of sickle cell anemia. **J. Bras. Pneumol.**, São Paulo, v. 33, n. 3, 2007 .

MORESCO, R. N. et al. Análise comparativa das técnicas manual e automatizada (ADVIA, tm120) para contagem de reticulócitos. **R. Bras. Análises Clínicas**, v. 35, n. 1, p. 17-18, 2003.

NAOUM, P. C. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 23, n. 2, 2001.

_____. Prevalência e controle da hemoglobina S. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. n. 2, p. 142-148, 2000a.

_____. Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 22, n. 1, p. 05-22, 2000b.

NAOUM, P. C.; BONINI-DOMINGOS, S. Dificuldades no diagnóstico laboratorial das hemoglobinopatias. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p. 226-228, 2007.

NAOUM, P. C. et al. Prevalência de hemoglobinopatias em amostras de proveniência diferenciada. **Bol. Soc. Bras. Hematol. Hemoter.**, v.11, n.153, p.69-72, 1989.

_____. **Diagnóstico das hemoglobinopatias**. São Paulo: Savier, 1987.

NAOUM, P. C.; NAOUM, F. A. **Doenças das células falciformes**. São Paulo: Sarvier, 2004.

NASCIMENTO, M. L. P.; FERREIRA, F. C. Por que na relação entre a concentração de hemoglobina globular média e a contagem de hemácias a avaliação dos RDW-SD é importante? **NewsLab.**, v. 61, p. 95, 2003.

NASCIMENTO, M. L. P.; SILVA, L. L. O diagnóstico das hemoglobinopatias e beta/talassemias através de cromatografia líquida de alta resolução (HPLC), **NewsLab.**, v. 62, 2005.

OHENE-FREMPONG, K. et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. **Blood.**, v. 91, n. 1, p. 228-294, Jan. 1998.

OLIVEIRA, R. A. G. **Hemograma**: como fazer e interpretar. São Paulo: LMP, 2007.

OLIVEIRA, R. A. G.; POLI-NETO, A. **Anemias e leucemias**. São Paulo: Roca, 2004.

ORLANDO, G. M. et al. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 22, n. 2, p.111-121, 2000.

PAIVA, R. B.; RAMALHO, A. S.; CASSORLA, R. M. S. A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil. **R. Saúde Pública**, v. 27, n. 1, p. 54-58, 1993.

POWARS, D. □ gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia: clinical and hematologic features. **Hematol. Oncol. Clin. North Am.**, v. 5, n. 3, p. 475-493, 1993.

POWARS, D.; CHAN, L.S.; ASCHROEDER, A. The variable expression of sickle cell disease is genetically determined. **Sem. Hematol.**, v. 27, n. 4, p. 360-376, 1990.

QUINN, C. T. et al. Prognostic significance of early vaso-occlusive complications in children with sickle cell anemia. **Blood.**, v. 109, p. 40-45, 2007.

RAHIMI, Z. et al. β Globin gene cluster haplotypes in sickle cell patients from south west Iran. **American Journal of Hematology**, v. 74, p.156-160, 2003.

RIVERA, A. Reduced sickle erythrocyte dehydration in vivo by endothelin-1 receptor antagonists. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, v. 293, p. 960-966, 2007.

RODRIGUEZ-ROMERO, W. E. et al. Haplótipos de la hemoglobinas importância epidemiológica antropológica y clínica. **R. Panam. Salud Publica**, Washington, v. 3, n. 1, 1998.

RUIZ, M. A. Anemia falciforme. Objetivos e resultados no tratamento de uma doença de saúde pública no Brasil. **R. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 29, n. 3, p.203-206, 2007.

SARNAIK, S. A.; BALLAS, S. K. Molecular characteristics of pediatric patients with sickle cell anemia and stroke. **American Journal of Hematology**, v. 67, p. 179-182, 2001.

SERJEANT, G. R.; HIGGS, D. R.; HAMBLETON, I. R. Elderly survivors with homozygous sickle cell disease. **N. E.J.M.**, v. 356, p. 642-643, 2007.

SERJEANT, G. R. et al. Mortality from sickle cell disease in Africa. **B.M.J.**, v. 330, p. 432-433, 2005.

SETTY, B. N. Y.; BETAL, S. G. Microvascular endothelial cells express a phosphatidylserine receptor: a functionally active receptor for phosphatidylserine-positive erythrocytes. **Blood.**, v. 111, p. 905-914, 2008.

SETTY, Y. B. N. et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: relationship to erythrocyte adhesion markers and adhesion. **Blood.**, v. 97, n. 9, p. 2568-2573, May 2001.

STEINBERG, M. H. Management of sickle cell disease. **N. Engl. J. Med.**, v. 340, n.1/3, p. 1021-1030, 1999.

TELEN, M. J. Red blood cell surface adhesion molecules: their possible roles in normal human physiology and disease. **Seminars in Hematology**, v. 37, n. 2, p. 130-142, 2000.

TURHAN, A. et al. Primary role for adherent leukocytes in sickle cell vascular occlusion: a new paradigm. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, USA, v. 99, p. 3047-3051, 2002.

UDA, M. et al. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of {beta}-thalassemia. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, USA, v. 105, p. 1620-1625, 2008.

VERRASTRO, T. et al. **Hematologia e hematoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica.** São Paulo: Atheneu, 1998.

VI, J. G. T., et al. Variants in the VCAM1 gene and risk for symptomatic stroke in sickle cell disease. **Blood.**, v. 100, p. 4303-4309, 2002.

WAINSCOAT, J. S. et al. A genetic marker of elevated levels of haemoglobin f in homozygous sickle cell disease? **Br. J. Haematol.**, v. 60, p. 261-268, 1985.

WATHERALL, D. J. et al. The hemoglobinopathies. In: SRIVER, C.R. et al. **The metabolic basis of inherited disease**. 6. ed. N.YorK: MacGraw-Hill, 1989. v. 2.

ZAGO, M. A. Anemia falciforme e doenças falciformes. In: BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. **Manual de doenças mais importantes, por razões étnicas, na população brasileira afro-descendente**. Brasília, DF, 2001b.

ZAGO, M. A. et al. Enfermidades drepanocíticas em una población brasileña. **Sangre**, v. 28, n. 3, p.191-198, 1983.

ZAMARRO, I. A. et al. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinas semelhantes a HbS. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 38, n.4, p. 261-266, 2002.

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](#)