

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

**DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS**

CAMPO GRANDE  
2016

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

## **DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador(a): Profa. Dra Maria Lúcia Ivo

CAMPO GRANDE  
2016

## FOLHA DE APROVAÇÃO

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

### **DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador(a): Profa. Dra Maria Lúcia Ivo

Resultado \_\_\_\_\_

Campo Grande (MS), \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

#### BANCA EXAMINADORA

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Lúcia Ivo  
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Loudes Zélia Garcia Zanoni  
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Rondon Tosta Ramalho  
Professor Convidado  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

\_\_\_\_\_  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Elenir Rose jardim Cury Pontes  
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Wander Fernando de Oliveira Filiú  
Professor Convidado  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Alexandra Maria Almeida Carvalho  
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

## **DEDICATÓRIA**

A Deus, por tudo.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus.

À Prof. Dra. Maria Lúcia Ivo pela incrível capacidade de nos ensinar a não desistir, pela tenacidade, pela paciência, pela dedicação, pela bondade, pela humildade.

Aos funcionários do programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste que labutam diariamente com competência para que possamos concretizar nossas expectativas e conquistas profissionais.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste que se dedicam a construir uma sociedade melhor através do compartilhamento de seus valiosos conhecimentos e dedicação a mais valiosa das carreiras.

Aos colegas de pós-graduação pela parceria.

*Quem anda no trilho é trem de ferro.  
Sou água que corre entre pedras - liberdade caça jeito.*

**Manoel de Barros**

*E, aquele  
Que não morou nunca em seus próprios abismos  
Nem andou em promiscuidade com os seus fantasmas  
Não foi marcado. Não será exposto  
Às fraquezas, ao desalento, ao amor, ao poema.*

**Manoel de Barros**

## RESUMO

**Oliveira, ECL. Doença falciforme, zinco e TBARS.** Campo Grande; 2015. [Tese – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

O objetivo principal desse estudo é analisar as concentrações plasmáticas de zinco e TBARS em indivíduos com doença falciforme em uso de hidroxiureia. É um estudo descritivo com corte transversal, de março de 2011 a dezembro de 2015. Vinte e quatro pacientes, homens e mulheres, de Campo Grande, MS, foram estudados quanto aos níveis plasmáticos de TBARS e Zinco. Utilizado o Teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade, Teste t ou Teste Mann Whitney para comparação das médias, e o Teste de Pearson ou Spearman para as correlações ao nível de significância de 5%. Resultados: Os valores de zinco na Doença Falciforme variaram de 36,0 a 74,4mg/L, com média de  $50,1 \pm 9,5$ mg/L (DP), os de TBARS variaram de 2,46 a 21,97  $\mu$ mol, com média de  $9,92 \pm 6,18$   $\mu$ mol (DP). Houve forte correlação negativa entre TBARS e HbF ( $r=-0,82$ ). Conclusão: As concentrações plasmáticas de zinco estão reduzidas em relação ao grupo controle na Doença Falciforme, persistência de marcadores de estresse oxidativo (TBARS) mesmo com o uso de hidroxiureia por período prolongado, quanto maior a hemoglobina fetal, menor o estresse oxidativo. Os resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura. Apesar do uso regular de Hidroxiureia, o grupo Doença Falciforme teve valores elevados de TBARS e reduzidos de zinco.

Palavras-chave: falciforme, anemia, TBARS, Zinco, estresse oxidativo.

## ABSTRACT

**Oliveira, ECL. Sickle cell disease, zinc and TBARS.** Campo Grande; 2016. [Thesis – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

The main objective of this study is to analyze TBARS and zinc plasmatic concentrations in sickle cell disease individuals using hydroxyurea. It is a descriptive cross-sectional study, from March 2011 to December 2015. Twenty-four patients, men and women, from Campo Grande, MS, were studied for plasma levels of TBARS and zinc. Clinical and survival features were reviewed in literature. . To compare the means it was performed the t test or Mann-Whitney test, normality was verified by the Shapiro-Wilk test. For correlations, it was performed Pearson or Spearman test at a significance level of 5%. Results Zinc values ranged from 36.0 to 74,4mg / L, with a mean of  $50.1 \pm 9,5$ mg / L (SD), TBARS ranged from 2.46 to 21.97  $\mu$ mol with average of  $9.92 \pm 6.18$   $\mu$ mol (DP). There was a strong negative correlation between TBARS and HbF ( $r = -0.82$ ). Conclusion: There was a reduction of plasma zinc concentrations in Sickle Cell Disease when compared with control group. Persistence of oxidative stress markers (TBARS) although hydroxyurea uses for a long period of time. The higher fetal hemoglobin, the lower oxidative stress. The results were similar to those observed in the literature. Despite the regular use of Hydroxyurea, the Sickle Cell Disease group had elevated TBARS and reduced zinc.

Keywords: sickle cell, anemia, TBARS, zinc, oxidative stress.

## LISTA DE TABELAS

1 –	Tabela 1 - Valor de zinco sérico em indivíduos com doença falciforme e grupo controle, Campo Grande - 2012.....	56
2 –	Tabela 2 – Correlação entre variáveis de estudo (n=24).....	57
3 –	Tabela 3 – Estatística descritiva e comparação entre valores das variáveis de estudo entre os gêneros feminino e masculino (n=24).....	57

## LISTA DE FIGURAS

1 -	Tipos de hemoglobinopatias frequentes.....	18
2 -	Representação esquemática da estrutura da hemoglobina A e do grupo heme.....	20
3 -	Representação esquemática das cadeias de polipeptídios que formam a globina.....	21
4 -	Representação esquemática dos clusters das cadeias alfa (abaixo) e beta (acima).....	22
5 -	Representação esquemática do padrão de desenvolvimento da expressão da hemoglobina. (A) “switch” da hemoglobina. (B) Sítios de hematopoiese. (C) Estrutura da hemoglobina. KLF1 e BCL11A são dois fatores de transcrição com papéis-chave na regulação de expressão da hemoglobina.....	23
6 -	Representação esquemática da formação de polímero de HbS e falcização.....	25
7 -	Representação esquemática da mutação genética em DNA e RNAm que resultam na substituição do ácido glutâmico por valina na estrutura primária da beta globina.....	27
8 -	Haplótipos da Hemoglobina S conforme predomínio geográfico e origem genética.....	29
9 -	Esquematização da reação de Fenton intraeritrocitária.....	30
10 -	Causas e fisiopatologia do estresse oxidativo na hemólise, coagulação, inflamação e ativação/dano endotelial resultando em crises vaso-oclusivas dolorosas e lesão isquêmica orgânica na DF.....	35
11 -	Complicações clínicas conforme a faixa etária.....	45
12 -	Representação esquemática da transmissão do gene de hemoglobina S...	62
13 -	Fisiopatologia e manifestações clínicas da anemia falciforme.....	63
14 -	Principais infecções bacterianas em pacientes falciformes segundo a etiologia e idade de maior acometimento.....	67

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS -	Organização Mundial de Saúde
TNF -	Necrose Tumor Factor
IL -	Interleucina
INF -	Interferon
DNA -	<i>Desoxirribonucleic acid</i>
Th -	<i>Células T helper</i>
Cu -	Cobre
Zn -	Zinco
SOD -	Superóxido dismutase
Hbs1L	Hbs1-like translational GTPase
MYB	Myeloblastose oncogene
BCL -	B-cell CLL/lymphoma
Xmn HBG2 -	Substituição C-T na posição -158 do gene da Hemoglobina gama 2
HBG2	Hemoglobin subunit gamma-2
GATA -	Fator de transcrição da sequencia de DNA GATA
FOG1 -	Fator de transcrição. Friend of GATA 1.
Mi2 $\beta$	Chromodomain Helicase DNA Binding Protein (CHD)
PHHF -	Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal
KLF-1 -	Kruppel-Like Factor 1.
HbF -	Hemoglobina Fetal
HbS -	Hemoglobina Falciforme
HbA2	<i>Hemoglobina Talassemia</i>
HbAS	<i>Hemoglobina Traço falciforme</i>
HbC	<i>Hemoglobina C</i>
HbAC	Hemoglobina <i>Traço C</i>
RNA <sub>m</sub>	Acido Ribonucleico Mensageiro
CAR	Republica Centro-Africana
MDA -	Malondialdeído
HuT -	<i>Human T</i>
NF- $\kappa$ B -	<i>Nuclear factor kappa B.</i>
HDL	<i>High dense lipoprotein</i>

$O_2^{\cdot-}$	Oxigênio
$O_2^{\cdot-}$	Radical superóxido
$HO_2^{\cdot}$	Radical hidropexila
$OH^{\cdot}$	Radical hidroxila
$H_2O_2$	Peróxido de hidrogênio
ROS	Reactive Oxygen Species
SIDA	<i>Síndrome de Imunodeficiência Adquirida</i>
$Fe^{2+}$	Íon ferroso
ON	Oxido Nitrico
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
RNS	Reactive Nitrogen Species
ETI	Endotelina 1
V CAM	Vascular cell adhesion protein
I CAM	Intercellular Adhesion Molecule
TSP	Trombospondina
OX NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
PS	fosfatidilserina
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
pH	Potencial Hidrogeniônico
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>

## LISTA DE SÍMBOLOS

pH -	Potencial Hidrogeniônico
mg -	Miligramma
dl -	Decilitro
mcg -	Micrograma
Kg -	Kilogramma
μmol -	Micromol

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
<b>2.1 Hemoglobinopatias</b> .....	18
2.1.1 Hemoglobina.....	19
2.1.1.1 Hemoglobina Fetal.....	22
2.1.1.2 Hemoglobina A2.....	24
2.1.1.3 Hemoglobina S.....	24
2.1.1.4 Hemoglobina C.....	26
2.1.2 Doença Falciforme.....	26
<b>2.2 Deficiência de zinco</b> .....	30
<b>2.3 Estresse oxidativo</b> .....	33
<b>2.4 Tratamento da Doença Falciforme</b> .....	36
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	38
<b>3.1 Objetivo Geral</b> .....	38
<b>3.2 Objetivos Específicos</b> .....	38
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	39
<b>4.1 Tipo de estudo</b> .....	39
<b>4.2 Sujeitos da pesquisa</b> .....	39
<b>4.3 Aspectos éticos</b> .....	39
<b>4.4 Coleta de dados</b> .....	40
<b>4.5 Avaliação laboratorial</b> .....	40
4.5.1 Dosagens das concentrações plasmáticas de TBARS.....	40
4.5.2 Dosagens das concentrações plasmáticas de Zinco.....	41
<b>4.6 Análise estatística</b> .....	42
<b>5 TRABALHOS PRODUZIDOS</b> .....	43
<b>5.1 Aspectos Clínicos da Doença Falciforme</b> .....	43
<b>5.2 Doença falciforme: concentração de TBARS e zinco em indivíduos tratados com hidroxiureia</b> .....	53
<b>5.3 Assistência ao paciente grave com doença falciforme na UTI</b> .....	61
<b>6.CONCLUSAO</b> .....	74
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	75

## 1 INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias abrangem um grupo heterogêneo de patologias caracterizadas por mutações genéticas que comprometem a formação da hemoglobina normal, sendo descritas mais de 1.000 mutações nos genes que codificam as cadeias globínicas alfa e beta. As hemoglobinopatias mais comuns no mundo, em ordem de frequência, são as talassemias, as doenças falciformes e a hemoglobinopatia C. (RUND, RACHMILEWITZ, 2005; BUNN, 1997).

A OMS estima que 270 milhões de pessoas possuam genes de hemoglobinas anormais dispersas pelo mundo, mas existem predomínios étnicos específicos para determinadas hemoglobinopatias. As doenças falciformes são frequentes na África subsaariana, na península arábica e na Índia. São também particularmente comuns em alguns países do continente americano. (FELIZ, SOUZA, RIBEIRO, 2010; RUND, RACHMILEWITZ, 2005).

No Brasil, pelo intenso movimento migratório proveniente da África, da Ásia, de populações mediterrâneas e pela miscigenação entre várias etnias, possibilitou-se uma grande dispersão das hemoglobinopatias, fato demonstrado por estudos que revelaram cerca de 10 milhões de pessoas portadoras de hemoglobinas anormais e nascimento anual no país de aproximadamente 3.000 crianças com homozigose para alguma hemoglobinopatia (ZAGO, COSTA, 1985; CANÇADO, JESUS, 2007).

A hemoglobina S resulta de uma mutação no gene da globina beta que passa a codificar uma hemoglobina com estrutura anormal. Outra hemoglobina cuja estrutura apresenta alteração e que está associada à Doença Falciforme é a hemoglobina C, também resultante de mutação no gene da globina beta e com herança autossômica recessiva. O diagnóstico dessas hemoglobinopatias é feito através da detecção de hemoglobinas quantitativa ou qualitativamente anormais (SAUNTHARARAJAH, VICHINSKY, 2013).

Na doença falciforme, a hemoglobina pode aderir a membrana do eritrócito e atuar como um reagente de Fenton, aumentando a produção de superóxidos e radical hidroxila e com liberação de xantina oxidase pelo fígado. O aumento de oxidantes e a liberação de hemoglobina no intravascular contribuem para o consumo

de óxido nítrico, resultando em instabilidade hemodinâmica e redução da capacidade antioxidante. (REPKA et al., 1991).

A doença falciforme é considerada uma doença inflamatória crônica uma vez que pacientes em crise álgica apresentam concentrações de TNF alfa e IL-6 maiores que os pacientes sem crise e, quando comparados com indivíduos sem doença falciforme, pacientes sem algia apresentam aumento de IL-1, IL-6 e INF-gama. (SENA, PEDROSA, 2005; NUR et al., 2011).

Como consequência da Doença Falciforme pode haver deficiência de zinco por hiperzincúria ou por alto turn over proteico decorrente de hemólise O zinco é um micronutriente que tem como ação a catálise de várias enzimas, a manutenção da integridade estrutural de proteínas e a regulação da expressão de genes. Os sintomas de deficiência de zinco são variados por causa do envolvimento do zinco em muitos processos metabólicos. Faz-se necessário para a atividade catalítica de aproximadamente 100 enzimas e tem seu papel na função imunológica, na síntese de proteínas, cicatrização de feridas, síntese de DNA e divisão celular, também é importante para o crescimento normal de fetos, crianças e adolescentes, além de influenciar os sentidos de paladar e odor (ZEMEL et al., 2002; RINK, KIRCHNER, 2000).

Como o organismo não apresenta um sistema de estoque de zinco torna-se necessária uma adequada ingestão diária desse elemento para manter as funções nas quais está envolvido. As dosagens das concentrações plasmáticas ou séricas são os testes mais comumente utilizados para avaliar a deficiência de zinco. (RINK, KIRCHNER, 2000).

É importante considerar os fatores de risco para deficiência de zinco, como por exemplo, ingestão inadequada, alcoolismo e doenças digestivas, assim como os sintomas de deficiência. A deficiência nutricional de zinco é comum em países em desenvolvimento e provoca suscetibilidade aumentada a uma variedade de patógenos por desequilíbrios entre as funções Th1 e Th2. (MACLEAN, CLEVELAND, PORTER, 2001).

As alterações fisiopatológicas decorrentes do processo de hemólise presente na Doença Falciforme relacionam-se ao excesso de hemoglobina livre que atua como catalisador nas reações de oxidação, a lesão tecidual desencadeada pelo processo recorrente de isquemia/reperfusão, o estado pró-inflamatório crônico e a elevada auto-oxidação da hemoglobina S (HEBBEL, 2013).

A Doença Falciforme predispõe a um maior estresse oxidativo e a déficit de zinco. O zinco pela sua ação antioxidante através de enzimas antioxidantes (Cu-Zn-SOD) aumenta a defesa do organismo contra infecções seria um importante fator no combate ao estresse oxidativo em pacientes com Doença Falciforme. A possível suplementação desse mineral nesses pacientes poderia lhes trazer algum benefício clínico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Hemoglobinopatias

A Doença Falciforme faz parte de um grande grupo de patologias denominadas hemoglobinopatias, que são doenças decorrentes de defeitos da hemoglobina. Mais de 1.000 diferentes mutações são relacionadas à hemoglobina humana e classificadas de acordo com o tipo de mutação (por exemplo, inserção, deleção, mudança de base), com a subunidade da globina afetada (por exemplo, cadeia alfa, cadeia beta) e pelo fenótipo clínico e hematológico (FIGURA 1) (HARDISON et al., 2001).

HEMOGLOBINOPATIAS
Afinidade ao oxigênio
Alta afinidade (eritrocitose familiar, hemoglobina Chesapeake)
Baixa afinidade (cianose familiar, hemoglobina Kansas)
Hemoglobinas instáveis (hemoglobina Köln)
Desordens Talassêmicas
β- talassemia
α- talassemia
Fenótipos talassêmicos (hemoglobinas Lepore, Constant Spring, E)
Síndromes Falciformes
HbSS
HbSC
HbβS
Solubilidade diminuída (hemoglobina C)
Meta hemoglobinas (metahemoglobinopatia congênita)

**FIGURA 1** – Tipos de hemoglobinopatias frequentes.

As hemoglobinopatias mais comuns no mundo, em ordem de frequência, são as talassemias, as doenças falciformes e a hemoglobinopatia C. Outros tipos de

hemoglobinopatias estão associados à presença de hemoglobinas denominadas instáveis ou de meta-hemoglobinas e são mais raras na população geral. Apesar de serem patologias cuja etiologia fundamenta-se na presença de defeitos na síntese da hemoglobina, apresentam variações epidemiológicas, clínicas e genéticas que as tornam doenças bastante distintas (RUND, RACHMILEWITZ, 2005; BUNN, 1997).

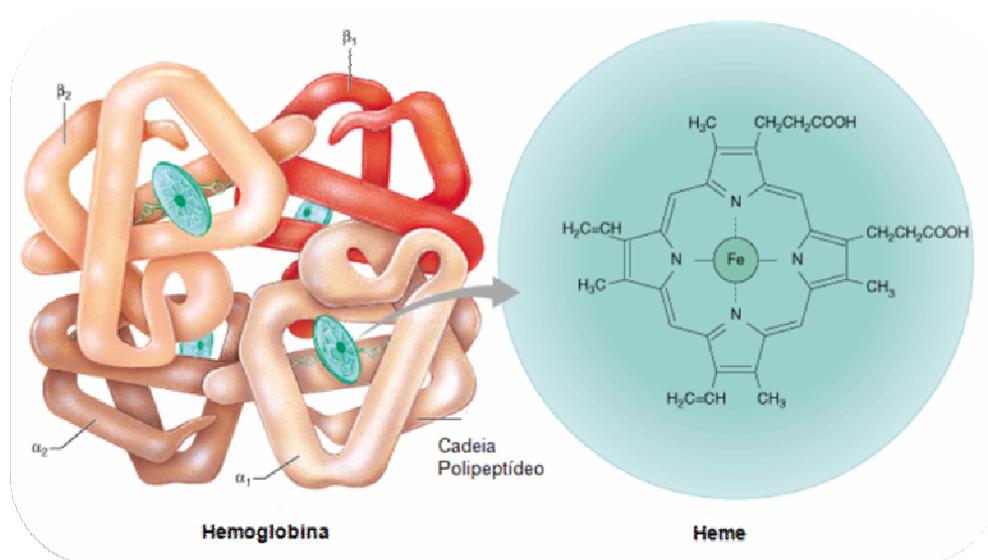
A OMS estima que 270 milhões de pessoas possuam genes de hemoglobinas anormais. Sua ocorrência é mundial, principalmente em decorrência de processos migratórios e de miscigenação entre os povos. No entanto, existem predomínios étnicos específicos para determinadas hemoglobinopatias. As doenças falciformes, por exemplo, são originadas na África subsaariana, na península arábica e na Índia, mas são particularmente comuns em vários países do continente americano pela formação populacional caracterizada pela imigração de diversos povos e etnias (FELIZ, SOUZA, RIBEIRO, 2010; RUND, RACHMILEWITZ, 2005).

No Brasil, devido ao intenso movimento migratório proveniente da África e de populações mediterrâneas e asiáticas, houve intensa miscigenação, o que possibilitou uma grande dispersão das hemoglobinopatias, fato demonstrado por estudos que revelam cerca de 10 milhões de pessoas portadoras de hemoglobinas anormais, além do nascimento anual no país, de aproximadamente 3.000 crianças com homozigose para alguma hemoglobinopatia. (ZAGO, COSTA, 1985; CANÇADO, JESUS, 2007).

As hemoglobinopatias, em especial a Doença Falciforme, são consideradas um problema de saúde pública e, a partir de 1996 com a Portaria nº 951 de 10 de maio, passaram a ser contempladas por programas governamentais direcionados à atenção integral aos doentes. O programa nacional de triagem neonatal para hemoglobinas anormais foi implantado a partir da publicação da Portaria nº 822 de 06 de junho de 2001 e em seguida foi publicada a Portaria 2.695 de 23 de dezembro de 2004 na qual foi definida um projeto piloto que precedeu o Programa Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias instituído pela Portaria nº 1018 de 01 de julho de 2005 (BRASIL, 2001; BRASIL, 2004; BRASIL, 2005).

### 2.1.1 Hemoglobina

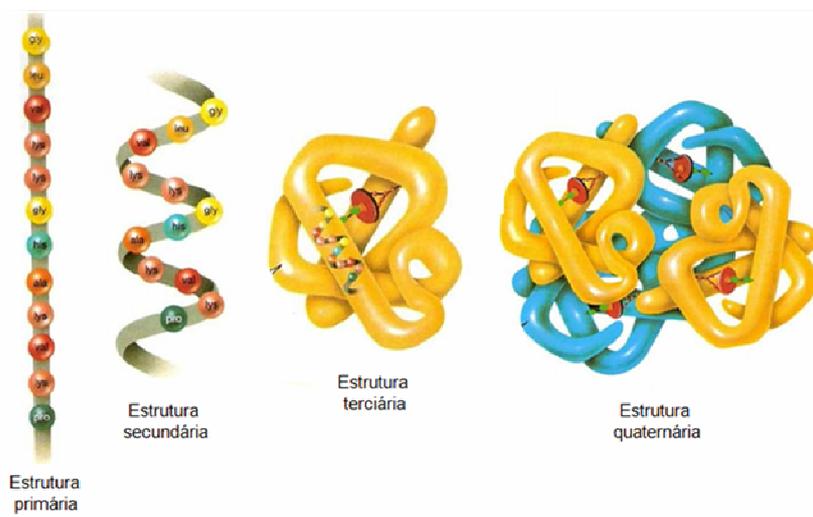
A hemoglobina é uma metaloproteína, encontrada normalmente dentro dos eritrócitos, responsável pelo transporte de oxigênio dos pulmões para os demais órgãos, através das moléculas heme presentes em sua estrutura. A hemoglobina consiste de quatro subunidades proteicas denominadas globinas com cada uma delas contendo um anel de porfirina que envolve um único íon de ferro, essa unidade recebe a denominação de heme. A hemoglobina não patológica é formada por duas globinas  $\alpha$ , duas globinas não  $\alpha$ , quatro moléculas heme e quatro íons ferro na forma  $\text{Fe}^{2+}$  (FIGURA 2) (PERUTZ, 1987; STEINBERG et al., 2013).



**FIGURA 2** – Representação esquemática da estrutura da hemoglobina A e do grupo heme.

Adaptado e traduzido: MARIEB, HOEHN 2008.

Cada globina é formada por uma cadeia de polipeptídeo cuja estrutura primária consiste em uma sequência linear de aminoácido que, por ação de forças não covalentes, adquirem uma conformação tridimensional helicoidal (estrutura secundária), dobrada (estrutura terciária) e organizada/ordenada de subunidades em uma proteína multi-subunidade (estrutura quaternária) (FIGURA 3). Essa conformação estrutural é a base da habilidade da hemoglobina em rapidamente ligar-se ao oxigênio nos pulmões, assim como, liberá-lo nos tecidos (RANNEY, SHARMA, 2001).



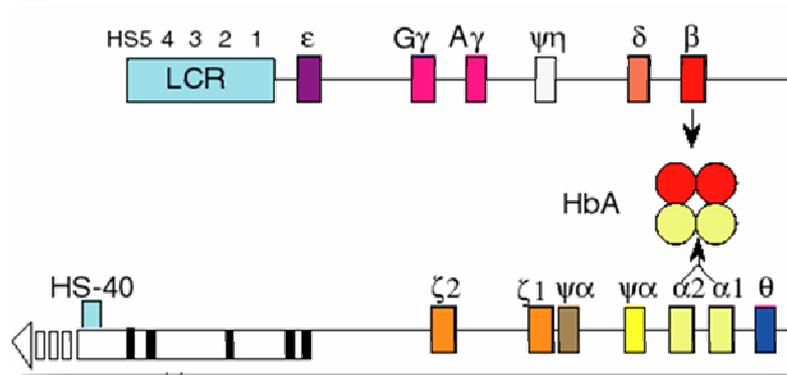
**FIGURA 3** – Representação esquemática das cadeias de polipeptídios que formam a globina.

Adaptado e traduzido: <http://www.asturnatura.com/articulos/proteinas/estructura-cuaternaria.php>, 2015.

As cadeias de globina são designadas por letras gregas utilizadas para denominar cada hemoglobina em particular. No adulto normal são encontradas três diferentes hemoglobinas. A hemoglobina A1, formada por duas cadeias  $\alpha$  e duas cadeias  $\beta$  ( $\alpha^2\beta^2$ ), é a hemoglobina predominante, presente em cerca de 95 a 98%, nos glóbulos vermelhos. Aproximadamente 2 a 3% dos eritrócitos são constituídos pela hemoglobina A2 ( $\alpha^2\delta^2$ ) e menos de 1% pela hemoglobina F ( $\alpha^2\gamma^2$ ). O predomínio dessas hemoglobinas difere normalmente de acordo com o período do desenvolvimento fetal, durante a fase de recém-nascido e no restante da vida. Dois genes codificam a produção das cadeias alfa e estão localizados no cromossomo 16, enquanto que para a codificação das demais cadeias os genes estão no cromossomo 11 (FIGURA 4) (RANNEY, SHARMA, 2001).

Defeitos relacionados à sequência linear da estrutura primária da hemoglobina interferem na conformação final da hemoglobina, tornando-a deficiente em sua função primordial que é o transporte de oxigênio, seja por defeito na afinidade ao oxigênio, seja na solubilidade da proteína final, na oxidação da hemoglobina e do ferro ou pela polimerização ou cristalização da hemoglobina. Outras hemoglobinopatias ocorrem por redução ou bloqueio da produção de alguma das

cadeias de globinas. Mutações nos genes da beta globina, como aqueles que codificam a doença falciforme ou a beta talassemia, tornam-se aparentes apenas após o "switch" da hemoglobina fetal ( $\alpha^2\gamma^2$ ) para hemoglobina A1 ( $\alpha^2\beta^2$ ). Essas mutações são compatíveis com a vida do feto e podem não se tornarem aparentes até a metade dos últimos meses do primeiro ano (STEINBERG et al., 2013).



**FIGURA 4** – Representação esquemática dos clusters das cadeias alfa (abaixo) e beta (acima).

Fonte: <http://globin.cse.psu.edu>

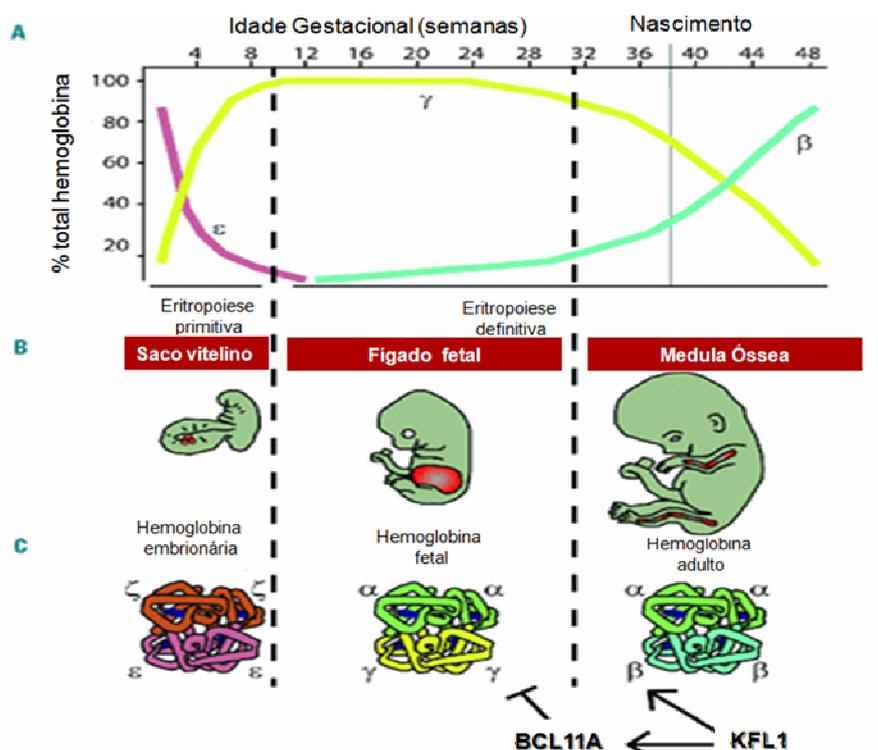
Na Doença Falciforme a mutação genética faz com que haja codificação da produção da hemoglobina S (FELIZ, SOUZA, RIBEIRO, 2010). A hemoglobina C é também uma hemoglobina cujo defeito se relaciona a alteração na sua estrutura e que também é resultante de mutação no gene da globina beta e com herança autossômica recessiva. O diagnóstico dessas hemoglobinopatias é feito através da detecção de hemoglobinas quantitativa ou qualitativamente anormais (SAUNTHARARAJAH, VICHINSKY, 2013)

#### 2.1.1.1 Hemoglobina Fetal

Após a oitava semana de gestação a hemoglobina fetal torna-se predominante no feto e suas concentrações continuam a aumentar até a metade da gestação. Depois, suas concentrações passam a diminuir progressivamente. Variações nos concentrações de hemoglobina fetal em adultos saudáveis, em indivíduos com

doença falciforme e talassemia e em alguns indivíduos com síndromes congênitas de falência medular estão associadas a três loci: Hbs1L-MYB no cromossomo 6q, BCL11A no cromossomo 2p e o Xmn1-HBG2 representando de hemoglobina  $\beta$  no cromossomo 11q (CANTÚ, PHILIPSEN, 2014).

A transição de hemoglobina fetal para hemoglobina A é controlada por um complexo multiproteico que inclui o BCL11A, GATA-1, FOG-1 e Mi2 $\beta$ . A PHHF, condição clínica em que a hemoglobina fetal permanece alta, tem sido atribuída a uma possível haploinsuficiência para KLF1. O “silenciamento” da BCL11A ou a falta de ligação ao gene da  $\delta$ -globina podem estar associados às concentrações aumentadas de hemoglobina fetal em indivíduos com talassemia e doença falciforme (FIGURA 5) (CANTÚ, PHILIPSEN, 2014).



**FIGURA 5** – Representação esquemática do padrão de desenvolvimento da expressão da hemoglobina. (A) “switch” da hemoglobina. (B) Sítios de hematopoiese. (C) Estrutura da hemoglobina. KLF1 e BCL11A são dois fatores de transcrição com papéis-chave na regulação de expressão da hemoglobina. Adaptado e traduzido de: CANTÚ, PHILIPSEN, 2014.

A hemoglobina fetal é um tetrâmero mais estável que a hemoglobina A. Dissocia-se em dímeros menos rapidamente, é resistente a perda de moléculas

heme e, mais ainda, à desnaturação por extremos de pH. Essa propriedade, de ser uma hemoglobina alkali-resistente, tem mostrado ser bastante útil para estimar sua presença em hemolisados. Em indivíduos adultos normais, apenas 0,1 a 7% dos eritrócitos contém alguma quantidade residual de HbF. Essas células, chamadas células F, contem em torno de 20% do total de hemoglobina presente nos eritrócitos. (BUNN, FORGET, 1986).

O aumento de HbF está associado a várias outras doenças hereditárias, como a .beta talassemia e a anemia aplástica congênita, e também a algumas doenças onco-hematológicas. O aumento das concentrações de HbF nos eritrócitos de indivíduos com Doença Falciforme reduz a tendência a polimerização da deoxi-hemoglobina da HbS (BUNN, 1997).

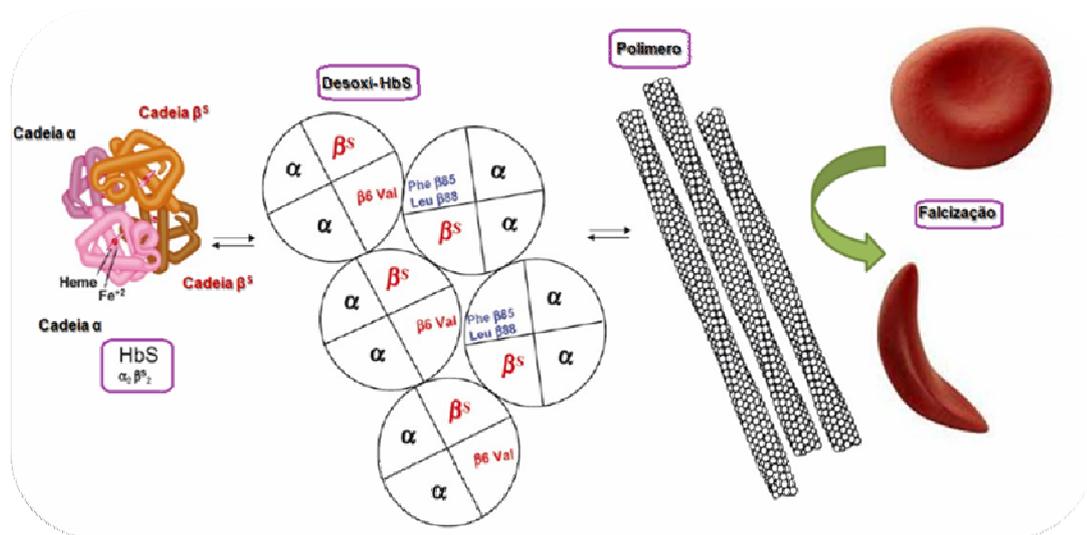
#### 2.1.1.2 Hemoglobina A2

Aproximadamente 2,5% da hemoglobina no eritrócito é a HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) Essa hemoglobina comporta-se funcionalmente como a hemoglobina A, no entanto, possui afinidade ao oxigênio e suscetibilidade a auto-oxidação a meta-hemoglobina discretamente maior e maior estabilidade térmica. A HbA2 está aumentada na beta-talassemia e diminuída na alfa-talassemia, na deficiência de ferro e nas anemias sideroblásticas. Assim como a HbF, também inibe a polimerização da HbS reduzindo gravidade da doença. (STEINBERG, 2013).

#### 2.1.1.3 Hemoglobina S

Como já dito anteriormente, a HbS é originada de uma mutação da cadeia da beta globina. Causa morbidade pela sua propensão a agregar-se em polímeros rígidos quando desoxigenada, causando a formação dos eritrócitos falciformes e oclusão da microcirculação. Os polímeros assumem forma semelhante a de uma corda alongada que vai se alinhando a outras dessas fibras, resultando em distorção do eritrócito, moldando-o à forma clássica de lua crescente ou de foice (FIGURA 6).

Com isso há uma redução importante na deformabilidade do eritrócito que é essencial para sua circulação pelos menores vasos sanguíneos (EATON, HOFRICHTER, 1990).



**FIGURA 6** – Representação esquemática da formação de polímero de HbS e falcização.

Adaptado e traduzido: <http://usmle.biochemistryformedics.com/answer-case-study-sickle-cell-disease-a-15-year-old-african-american-female-presents-to-the-emergency-room/> 2015

A polimerização ocorre por contato hidrofóbico entre a valina 6(A3) de uma das subunidades Hb das cadeias β com um sítio complementar, alanina 70(E14), fenilalanina 85(F1) e leucina 88(F4), de cadeia β de outra globina. Com isso, a hemoglobina passa de um estado solúvel para gel. Além da oxigenação, interferem no processo de polimerização, o pH, temperatura, forças iônicas, fosfatos orgânicos e a presença de outras hemoglobinas que não a HbS (NAGEL et al, 1980).

Predomina na África, no Oriente Médio, nos países mediterrâneos e entre algumas tribos da Índia, mas também é encontrado em países em que ocorreu (ou ocorre) migração de populações provenientes dessas regiões. A heterozigose HbAS está presente em 8 a 10% dos afro-americanos e em menor percentual nos descendentes de hispânicos. Pode também ocorrer em heterozigose com outras hemoglobinas ocasionando sintomatologia menos grave que na doença homozigótica HbSS (SAUNTHARARAJAH, VICHINSKY, 2013).

#### 2.1.1.4 Hemoglobina C

A hemoglobina C decorre de uma mutação na cadeia  $\beta$ . É menos solúvel que a hemoglobina A e forma cristais hexagonais ao invés dos longos polímeros da hemoglobina S. Tanto na forma heterozigótica quanto homozigótica, a HbC produz desidratação dos eritrócitos. Indivíduos com HbAC são fenotipicamente normais, enquanto aqueles com a doença, HbCC tem moderado grau de hemólise com esplenomegalia e são minimamente anêmicos. No esfregaço sanguíneo periférico dos homozigóticos, além da visualização dos cristais, visualizam-se numerosas células em alvo. Os indivíduos com HbCC não apresentam falcização de eritrócitos. (AGARWAL et al., 2000)

Essa mutação é frequente na África Ocidental e nas regiões para onde essas populações migraram. A presença dessa mutação não protege contra formas não complicadas de malária, mas pode proteger contra formas graves da doença (HIRSCH et al., 1985; FABRY et al., 1982; AGARWAL, et al., 2000).

#### 2.1.2 Doença Falciforme

A doença falciforme foi documentada pela primeira vez nos Estados Unidos em 1910 pelo médico B. Herrick, apesar de já ser uma doença previamente reconhecida na África há pelo menos 500 anos, mas com nomes diferentes por causa dos diferentes idiomas das várias tribos do continente. Essa primeira descrição ocorreu pela observação de sintomas associados a anemia e episódios dolorosos em um estudante de origem africana chamado Walter Clement Noel. O próprio Herrick cunhou o termo "forma de foice" ao descrever a aparência dos eritrócitos do paciente. No entanto, Herrick não confirmou tratar-se de uma patologia específica. Posteriormente diversos casos semelhantes foram descritos fortalecendo a hipótese de ser uma "nova" patologia e proporcionando descrição de dados clínicos e patológicos para melhor conhecimento da doença. (WINTER, 2010).

Em 1945, Linus Pauling foi o primeiro a lançar a hipótese de que a doença seria originada de uma anormalidade na molécula de hemoglobina. Em 1949, os

médicos Coronel E. A. Beet e Dr. James V. Neel publicaram artigos distintos concluindo que a doença falciforme seria hereditária e que pessoas com o traço da doença seriam heterozigotas (portadores ou AS) enquanto pessoas com a doença seriam homozigotas para hemoglobina S (SS). Em 1951, o químico Dr. Linus Pauling e o bioquímico Dr. Harvey Itano descobriram que a hemoglobina possuía uma estrutura química diferente nas pessoas com doença falciforme, sendo então definido por Pauling que se tratava de uma doença molecular. Em 1956, Vermon Ingram comprovou a substituição de aminoácido na doença (WINTER, 2010).

A mutação genética da doença falciforme ocorre no cromossomo 11, na posição 6, com a troca de timina por adenina, provocando mudança de aminoácido ácido glutâmico por valina (FIGURA 7) o que resulta em interação hidrofóbica com outra molécula de hemoglobina e consequente agregação em grandes polímeros (ZAGO, 2004).

BETA GLOBINA NORMAL												
DNA	T	G	A	G	G	A	C	T	C	C	T	C
RNA <sub>m</sub>	A	C	U	C	C	U	G	A	G	G	A	G
AMINOÁCIDO	TREONINA			PROLINA			ACIDO GLUTÂMICO			ACIDO GLUTÂMICO		

BETA GLOBINA MUTANTE												
DNA	T	G	A	G	G	A	C	A	C	C	T	C
RNA <sub>m</sub>	A	C	U	C	C	U	G	U	G	G	A	G
AMINOÁCIDO	TREONINA			PROLINA			VALINA			ACIDO GLUTÂMICO		

**FIGURA 7** - Representação esquemática da mutação genética em DNA e RNA<sub>m</sub> que resultam na substituição do ácido glutâmico por valina na estrutura primária da beta globina.

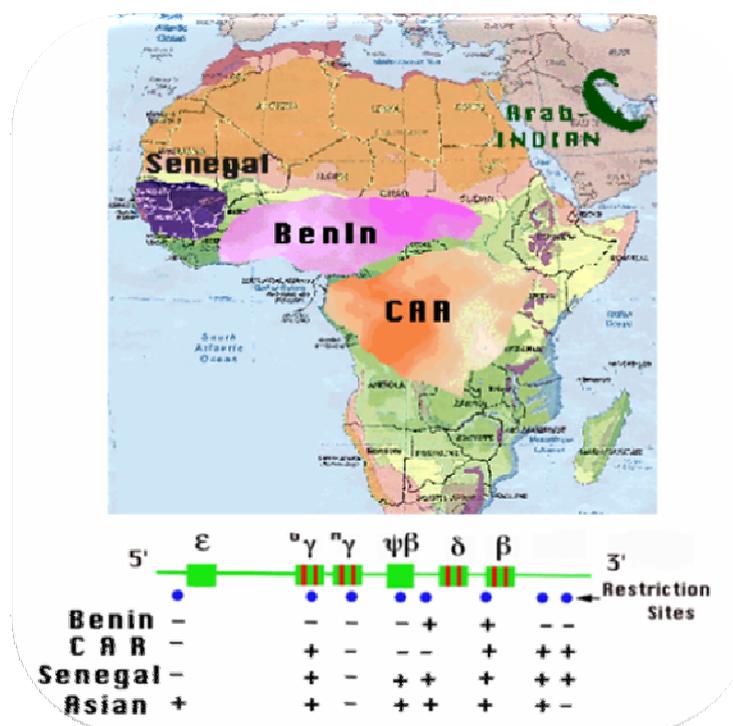
Adaptado e traduzido:  
<http://sgugenetics.pbworks.com/w/page/61172304/Pathophysiology%20of%20Sickle%20Cell%20Anemia>, 2014.

A doença falciforme compreende um grupo de patologias heterogêneas do ponto de vista genotípico, com manifestações clínicas e laboratoriais bastante variáveis. Do ponto de vista genotípico, abrange as hemoglobinopatias, que se caracterizam pela presença de hemoglobina S (Hb S) em homozigose ou em heterozigose com outras hemoglobinas anormais. Assim sendo, a doença falciforme

manifesta-se clinicamente em três principais síndromes clínicas: a anemia falciforme homozigótica, a S- $\beta$ -talassemia e a hemoglobinopatia SC. No entanto sabe-se que as manifestações clínicas não decorrem apenas da quantidade de Hb S que o indivíduo possui ou do tipo de hemoglobina anormal a que a Hb S está associada nas heterozigoses. Deve-se considerar a existência de um polimorfismo genético relacionado com os diferentes haplótipos da Hb S que propiciam a ocorrência de manifestações clínicas diversas mesmo nos indivíduos com anemia falciforme homozigótica, pois alguns haplótipos associam-se a concentrações de hemoglobina fetal (Hb F) mais elevados que outros (ZAGO, 2004).

Os haplótipos são padrões de sítios polimórficos que ocorrem nos alelos de qualquer cromossomo, sendo herdados, em pares ou em grupo, de um único progenitor. Na doença falciforme são distinguidos, através da alteração de reconhecimento desses sítios por enzimas de restrição, cinco haplótipos relacionados ao gene mutante da  $\beta$  globina e comuns à maioria dos indivíduos, mas há haplótipos menos comuns, os denominados atípicos. A caracterização dos haplótipos comuns foi realizada por investigação de grupos populacionais residentes em regiões geográficas específicas, dessa forma, são utilizados os termos Senegal, República Central da África (CAR ou Bantu), Camarões, Benin e Árabe-indiano para nomear esses haplótipos. A existência de haplótipos específicos em determinadas localizações geográficas sugerem que o gene mutante da  $\beta$  globina foi introduzido separadamente em cada uma dessas regiões (FIGURA 8). O haplótipo Senegal cursa com quadro clínico menos grave, enquanto o haplótipo CAR, com quadro mais grave. Estudos estão sendo realizados para definir a relação entre as diferentes associações de haplótipos e a gravidade da doença (STEINBERG et al., 2013; NAGEL et. al., 1980).

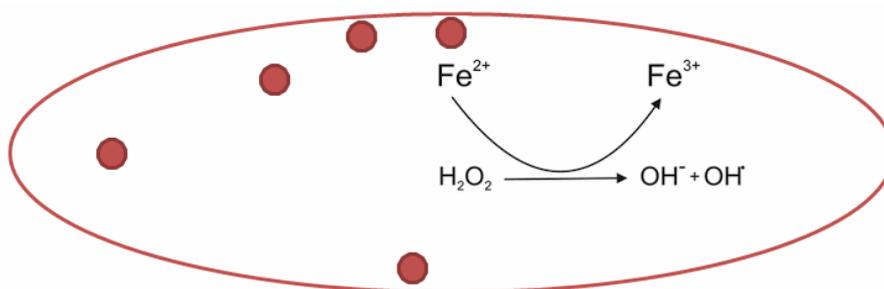
Episódios de dor, infecções e sintomas decorrentes de anemia são as manifestações clínicas mais frequentes nos indivíduos com doença falciforme que, periodicamente, por vários motivos, têm exacerbação do quadro patológico seja através de crises de falcização, aplasia, sequestro esplênico ou por hemólise aguda. As complicações clínicas da doença falciforme incluem risco aumentado de acidente vascular encefálico, alterações renais e oculares, lesões osteoarticulares, comprometimento do crescimento e desenvolvimento físico, priapismo, alterações cardíacas e pulmonares, colelitíase e úlcera de membros inferiores (ZAGO, 2004).



**FIGURA 8** – Haplótipos da Hemoglobina S conforme predomínio geográfico e origem genética.

Adaptado de: <http://xray.bmc.uu.se/Courses/Bke1/2000/Projects/SCanemia/> e [http://sickle.bwh.harvard.edu/sickle\\_heterogeniety.html](http://sickle.bwh.harvard.edu/sickle_heterogeniety.html) 2013

Na doença falciforme, a hemoglobina pode aderir à membrana do eritrócito e atuar como um reagente de Fenton (FIGURA 9), aumentando a produção de superóxidos e radical hidroxila e com liberação de xantina oxidase pelo fígado. O aumento de oxidantes e a liberação de hemoglobina no intravascular contribuem para o consumo de óxido nítrico, resultando em instabilidade hemodinâmica e redução da capacidade antioxidante. O MDA, produto da peroxidação lipídica que representa a oxidação de proteínas circulantes, é utilizado como marcador de estresse oxidativo nessas patologias. Para se proteger contra o dano oxidativo, o organismo utiliza mecanismos endógenos de defesa que são auxiliados por antioxidantes provenientes da dieta (PRASAD et al., 2007; REPKA, HEBBEL, 1991).



**FIGURA 9** – Esquemática da reação de Fenton intraeritrocitária.

A doença falciforme é considerada uma doença inflamatória crônica uma vez que pacientes em crise algica apresentam concentrações de TNF alfa e IL-6 maiores que os pacientes sem crise e, quando comparados com indivíduos sem doença falciforme, pacientes sem crise apresentam aumento de IL-1, IL-6 e INF-gama. Aumento de citocinas pró-inflamatórias TNF-alfa e IL-2 é encontrado na talassemia. É sabido que estresse oxidativo pode estimular resposta pró-inflamatória em ambas as doenças, mas estudos demonstram que as concentrações de MDA na talassemia são maiores do que na doença falciforme, já a maioria dos marcadores inflamatórios estão aumentados na doença falciforme o que, por outro lado, protegeria contra dano orgânico à sobrecarga de ferro (SENA, PEDROSA, 2005; NUR et al., 2011).

## 2.2 Deficiência de zinco

O zinco é um mineral que se faz necessário para o adequado crescimento e desenvolvimento físico, para a síntese de DNA, para a manutenção da função neurosensorial e para a imunidade. Está localizado no grupo IIb da Tabela Periódica e é considerado não tóxico para humanos. O corpo humano contém de 2 a 3 g de zinco, que pode ser encontrado no fígado, rins, pulmão, coração trato gastrointestinal e pâncreas, mas 90% do total estão restritos apenas a ossos e músculos (UNDERWOOD, 1977).

A deficiência nutricional de zinco foi descrita originalmente em 1961, com relato do caso de um jovem, habitante do Egito, que apresentava uma dieta com baixa bioviabilidade de zinco devido a uma alta ingestão de fitato dietético (PRASAD,

HALSTEAD, NADIMI, 1983). A recomendação de aporte dietética de zinco é de 11 mg/dia para homens e 8 mg/dia para mulheres. Para criança recomenda-se um pouco menos, de 2 a 9 mg/dia. Má nutrição e algumas doenças podem levar à privação de zinco, causando efeitos indesejáveis em vários sistemas orgânicos. A bioviabilidade adequada desse mineral é particularmente importante para o sistema imunológico. O zinco influencia na resposta linfocitária aos mitógenos e citocinas agindo de forma semelhante à timomodulina. Também está envolvido na sinalização leucocitária (NARKEWICZ et al., 1999; ROY et al., 1998; BHATNAGAR et al., 2012).

Os efeitos da deficiência de zinco podem estar presentes mesmo na ausência de índices laboratoriais anormais, assim é importante considerar os fatores de risco, como por exemplo, ingestão inadequada, alcoolismo e doenças digestivas, assim como os sintomas de deficiência. A deficiência nutricional de zinco é comum em países em desenvolvimento e provoca suscetibilidade aumentada a uma variedade de patógenos. A deficiência de zinco mostrou, em modelo humano experimental, causar desequilíbrio entre as funções Th1 e Th2, diminuição na produção de INF- $\gamma$  e IL-2 (produtos do Th1), enquanto que a produção de IL-4, IL-6 e IL-10 (produtos do Th2) não são afetadas. Essa deficiência reduz a atividade lítica das células natural killer e a porcentagem de precursores T citotóxicos (RINK, KIRCHNER, 2000). No HuT-78, uma linhagem celular Th0, a deficiência de zinco diminui a expressão gênica da timidina quinase, retarda o ciclo celular e diminui o crescimento celular. A expressão gênica de IL-2 e receptores para IL-2 (ambos  $\alpha$  e  $\beta$ ) e a ligação entre NF- $\kappa$ B ao DNA estão reduzidas pela deficiência de zinco em HuT-78. Nesses casos, a produção diminuída de IL-2 pode ser devida a uma diminuição da ativação de NF- $\kappa$ B e subsequente diminuição da expressão gênica de IL-2 e receptores para IL-2 (MACLEAN, CLEVELAND, PORTER, 2001).

Estudos in vitro demonstram que altas concentrações de zinco influenciam a função de células T por estimularem a secreção de citocinas pró-inflamatórias pelos monócitos. Ainda que o zinco seja redox inativo nos sistemas biológicos e ocorrer apenas como um cátion bivalente, há evidência científica de toxicidade ao zinco mediada principalmente por estresse oxidativo. A morte celular induzida pelo elemento está associada a concentrações aumentados de ROS (BHATNAGAR, et al. 2012; POWELL, 2000).

Manifestações clínicas de deficiência de zinco são encontradas principalmente em indivíduos com ingestão dietética deficiente, malabsorção, doença renal crônica

e síndromes consumptivas debilitantes. Os sintomas incluem retardo de crescimento (em crianças e adolescentes), hipogonadismo em homens, alterações em pele, redução de apetite, letargia mental, prejuízo na cicatrização de feridas, alterações de paladar, hipernamonemia, adaptação visual noturna anormal, anergia, atrofia tímica e comprometimento da imunidade celular. Em casos leves de deficiência podem ser observados apenas perda discreta de peso, oligospermia e hiperamonemia (PRASAD, 1985).

Deficiência de zinco pode ocorrer como consequência da Doença Falciforme seja por hiperzincúria, seja por alto turn over proteico decorrente de hemólise e/ou por baixa ingestão dietética (PRASAD et al., 1975; PRASAD, 2002, HYACINTH, GEE, HIBBERT, 2010). Deficiência de zinco pode ser observada em idosos, principalmente em países industrializados, tornando-os suscetíveis a doenças infecciosas (ZEMEL et al., 2002).

A frequência global da deficiência de zinco no mundo é superior a 20%. Em países em desenvolvimento pode afetar mais de dois bilhões de habitantes. Nos Estados Unidos, estima-se que apenas 42,5% dos idosos. Por causa dessa ampla ocorrência, a deficiência de zinco é um sério problema nutricional com grande impacto na saúde humana, muito mais que a intoxicação por excesso de zinco que é bem menos frequente (PRASAD, 2012; BROWN et al., 2004).

As fontes primárias de zinco dietético são os produtos de origem animal, como carne vermelha, frutos do mar, leite e cereais fortificados. Uma dieta equilibrada oferece uma fonte suficiente de zinco. A ingestão crônica de zinco acima de 100mg por dia pode associar-se a deficiência de cobre. A dosagem de zinco está disponível em vários laboratórios e concentrações plasmáticas abaixo de 60mcg/dl são consideradas baixas. (PRASAD, 2012)

Fatores dietéticos, intraluminais e sistêmicos influenciam a captação e o transporte celular desse mineral: forma química, interação com outros minerais, taninos, fitatos, infecção, hormônios, catabolismo e drogas. A deficiência de zinco, especialmente em pacientes com anemia falciforme, doença renal, doenças gastrintestinais crônicas, acrodermatite enteropática, pacientes com SIDA e crianças com diarreia, pode alterar os sistemas de defesa, favorecendo o aumento de infecções oportunistas e, conseqüentemente, da taxa de mortalidade. Curtos períodos de suplementação podem melhorar a defesa imunológica de pacientes com estas doenças (HAMBIDGE, 2000).

Os suplementos contêm diversas formas do elemento, incluindo gluconato, sulfato e acetato. A porcentagem de zinco elementar varia de acordo com a forma, por exemplo, sulfato de zinco contém aproximadamente 23% de zinco elementar. Pesquisas não determinaram quais as diferenças existentes entre as formas de apresentação em relação à absorção, biodisponibilidade ou tolerância. As principais consequências associadas à ingestão excessiva de suplementos de zinco incluem a supressão da resposta imune, a diminuição de HDL e a redução das concentrações de cobre plasmáticas. Estudo sobre os efeitos da sua suplementação prolongada sobre o sistema imunológico de adultos portadores de anemia falciforme demonstrou aumento de zinco nos leucócitos, granulócitos e na produção de IL-2, diminuição da incidência de infecções causadas por bactérias, do número de crises dolorosas e no número de internações (WALSH et al., 1994).

Aproximadamente 10 a 40% de zinco são absorvidos pelo intestino delgado. Essa absorção é inibida por fitatos e fibras dietéticas que se ligam ao zinco. Cerca de 0,5 a 1,0 mg/dia é secretado pela bile e excretado pelas fezes. Seu estoque primário ocorre nos rins e fígado na forma de metaloproteína. A ingestão aguda de 1 a 2g de sulfato de zinco produz náuseas e vômitos. Doses maiores podem causar necrose tubular renal ou nefrite intersticial. A dose de ingestão oral de zinco varia de 4 a 14 mg/dia (KING, 2006).

### **2.3 Estresse oxidativo**

Durante os processos metabólicos do organismo ocorrem reações químicas fisiológicas que desencadeiam a produção de radicais livres. Esses radicais livres são átomos ou moléculas altamente reativos, resultantes de reações de oxido-redução, cuja característica principal é a presença de elétrons em número ímpar na última camada eletrônica (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

A maioria desses agentes reativos patológicos é derivada do metabolismo do  $O_2$ , sendo denominadas espécies reativas do metabolismo do oxigênio, que origina intermediários reativos como os radicais superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), hidroperoxila ( $HO_2^{\cdot}$ ) e hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ), e o peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Em condições de normalidade, esses processos são finalizados dentro da mitocôndria onde ocorre a neutralização

da reatividade dessas substâncias pelo ganho de elétrons (KOURY, DONANGELO, 2003).

No entanto, mesmo consistindo em produtos fisiológicos, essas espécies reativas são passíveis de ação deletéria em todos os componentes celulares, sendo a membrana celular um dos principais alvos. Devido sua composição lipídica propicia a lipoperoxidação que, quando em excesso, acarreta alterações importantes na estrutura e permeabilidade celular com perda da seletividade na troca iônica, liberação do conteúdo de organelas, como as enzimas hidrolíticas dos lisossomas, e formação de produtos citotóxicos (FERREIRA, MATSUBARA, 1997).

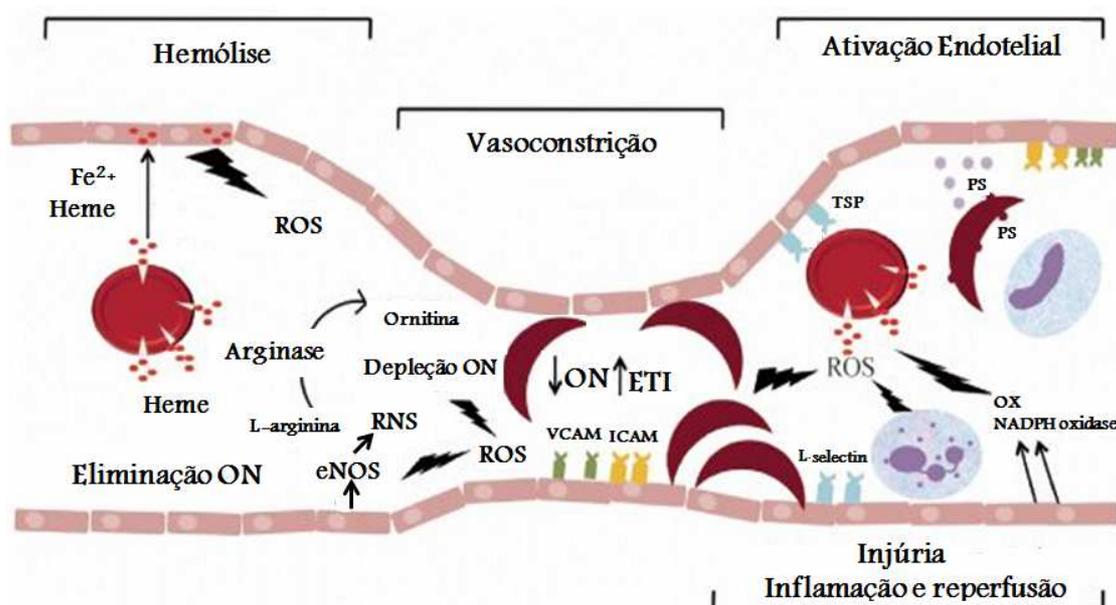
O controle dessas ações deletérias ocasionadas pelo excesso de substâncias reativas ocorre através do sistema de defesa antioxidante que age detoxificando a célula dos agentes tóxicos antes de ocorrer lesão ou reparando a lesão ocorrida. Os antioxidantes, substâncias presentes em menores concentrações que as do substrato oxidável, podem ser enzimáticos (superóxido dismutase, catalase, glutathione peroxidase) ou não enzimáticos (beta caroteno, ácido ascórbico, alfa tocoferol, cobre, zinco, magnésio, selênio, licopeno, esveratrol, catequinas, quercetinas, ácidos fenólicos e outros) (BARBOSA et al, 2010).

Os principais mecanismos envolvidos no estresse oxidativo associado à Doença Falciforme são o excesso de hemoglobina livre, que atua como catalisador nas reações de oxidação, a lesão tecidual desencadeada pelo processo recorrente de isquemia/reperfusão, o estado pró-inflamatório crônico e a elevada auto-oxidação da hemoglobina S. A hemoglobina livre associada ao ferro inativa o óxido nítrico, reduzindo sua biodisponibilidade e, com isso, limitando suas propriedades vasodilatadoras, antitrombóticas e anti-inflamatórias. A liberação do ferro na membrana plasmática das células endoteliais causa produção de ROS e ativação endotelial. Esse processo é regulado fisiologicamente pela haptoglobina, que depura o organismo da hemoglobina livre, mas está diminuída na doença falciforme. A célula endotelial também atua contraregulando a ferritina e a heme-oxidase conferindo certa proteção contra o ferro livre (NUR et al, 2011).

A hemólise intravascular decorrente do trauma entre vaso e eritrócito propicia a liberação de ferro e heme na circulação. O ferro é levado a ser depositado no endotélio que catalisará a produção de ROS. O heme livre recruta neutrófilos ao endotélio. Há liberação de arginase que depleta L-arginina e, conseqüentemente, ON com formação de ROS e RNS. A eliminação aumentada e a depleção de ON

levam ao predomínio de endotelina I. Há perda do efeito inibitório do ON na inflamação e expressão endotelial de moléculas VCAM, ICAM, p-selectinas e I-selectinas que recrutam polimorfonucleares e de trombospondina na qual o reticulócito adere via CD36. A célula falcizada expressa fosfatidilserina causando ativação plaquetária e fagocitose pelos macrófagos, contribuindo para a hemólise. Níveis de xantina oxidase são aumentadas durante reperfusão/injúria, aumentando a produção de ROS (FIGURA 10) (NUR et al, 2011).

Os produtos da peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA, C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), podem ser utilizados como indicadores da ação dos radicais livres no organismo (FERREIRA, MATSUBARA, 1997; DEL RIO, STEWART, PELLEGRINI, 2005). Os lipídios são as biomoléculas mais envolvidas no estresse oxidativo, dando origem a vários produtos secundários, dentre os quais, o MDA, um aldeído extremamente tóxico e principal marcador da peroxidação dos ácidos graxos. O MDA possui ação citotóxica, como por exemplo, pela formação de lesões ateroscleróticas, e genotóxica com ação direta no DNA, propiciando mutações genéticas. Encontra-se em concentrações elevadas em algumas patologias associadas ao estresse oxidativo (STEGHENS et al., 2001).



**FIGURA 10** – Causas e fisiopatologia do estresse oxidativo na hemólise, coagulação, inflamação e ativação/dano endotelial resultando em crises vaso-oclusivas dolorosas e lesão isquêmica orgânica na DF.

Adaptado e traduzido de: NUR, 2011

O método de dosagem de MDA na reação com o ácido tiobarbitúrico (TBA) é simples, sendo o produto detectado através de leitura espectrofotométrica na região do visível. Embora este método ainda seja amplamente utilizado, ele não é específico para detecção dos produtos de peroxidação lipídica, uma vez que quantifica a soma das diferentes substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, denominadas TBARS (YAGI, 1976; STEGHENS et al., 2001).

Os valores de TBARS incluem interferentes provenientes da reação do tiobarbitúrico com outras substâncias, como por exemplo, carboidratos e proteínas que estão presentes na amostra. Além disso, este método propicia geração *in vitro* de aldeídos devido às condições experimentais de incubação em temperatura elevada e em meio ácido (STEGHENS et al., 2001).

#### **2.4. Tratamento da Doença Falciforme**

O tratamento da doença falciforme baseia-se na prevenção de infecções, suporte transfusional, controle das dores aguda e crônica, uso de hidroxiureia e, mais raramente, transplante de medula óssea. Para prevenção de infecções preconiza-se vacinação ampla incluindo vacinação contra influenza, pneumococos, meningococos e hepatite B. Também é realizada a administração profilática de penicilina às crianças até, no mínimo, os cinco anos de idade. (BRASIL, 2015)

O suporte transfusional é essencial para o tratamento da anemia nesses pacientes. Frequentemente, utiliza-se transfusão de concentrado de hemácias quando as concentrações de hemoglobina estão abaixo de 7,0g/dl, no entanto, existem alguns eventos que indicam transfusão com níveis hematimétricos mais elevados, como no caso de priapismo, síndrome torácica aguda e acidente vascular encefálico. A dor é comum nesses pacientes e, por isso, é abordada com frequência nas chamadas crises dolorosas de falcização. Esses episódios agudos são tratados com analgésicos, antiinflamatórios, opióides e adjuvantes de acordo com a escada analgésica da OMS. (BRASIL, 2015)

Apesar do transplante alogênico de medula óssea ser considerado um tratamento curativo para a Doença Falciforme, no Brasil, O transplante de medula

óssea tem sido praticado apenas em centros de pesquisa, sendo reservado para casos específicos que preenchem critérios rígidos de elegibilidade. (BRASIL, 2015)

O medicamento mais amplamente recomendado para o tratamento da Doença Falciforme é a Hidroxiureia, droga sintetizada pela primeira vez em 1869, na Alemanha, por W.F.C Dressler e R. Stein e investigada como antineoplásico na década de 1960, por ser um antimetabolito que inibe seletivamente a redutase ribonucleosídeo difosfato impedindo que a célula saia da fase G1/S do ciclo celular (WEBER, 2015). Na década de 1980, verificou-se que o aumento de HbF reduzia os eventos clínicos da Doença Falciforme e que a hidroxiureia aumentaria os níveis de HbF (POWARS et al., 1984; PLATT et al., 1984).

Há evidências de efeitos benéficos do uso de Hidroxiureia na evolução clínica do indivíduo acometido pela doença e na diminuição de ferritina em modelo animal além do esperado pela simples redução das transfusões que é o fator essencial para a sobrecarga de ferro nesses indivíduos (ITÁLIA, COLAH, GHOSH, 2013).

Alguns estudos demonstram redução de estresse oxidativo pelo uso de hidroxiureia na Doença Falciforme. Ainda que essa ação possa ser secundária aos efeitos da droga na fisiopatologia da doença, melhorando as concentrações de hemoglobina fetal que protege o eritrócito da falcização e conseqüentemente da hemólise, é descrita ação direta da hidroxiureia na expressão de glutathione, um poderoso antioxidante, em células cancerígenas. (SILVA et al., 2013; CHO et al., 2010)

O aumento da hemoglobina fetal pelo uso da hidroxiureia é documentado em indivíduos que a utilizam na dose 15mg/Kg/dia a 35mg/Kg/dia por tempo prolongado de, no mínimo, 12 meses. (RODGERS et al.,1990; MAIER-REDELSPERGER et al., 1998). Os mecanismos de ação da hidroxiureia na Doença Falciforme ainda não estão totalmente esclarecidos. Ela reduz as taxas de crises vasooclusivas, a síndrome torácica aguda e a necessidade transfusional nesses indivíduos (CARACHE et al, 1997, MAIER-REDELSPERGER, et al., 1998). Além de aumentar a HbF, são reconhecidas as ações da hidroxiureia na redução da expressão de moléculas VCAM e no aumento da produção de óxido nítrico (GLADWIN et al., 2002)

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar as concentrações plasmáticas de TBARS e zinco em indivíduos com doença falciforme em uso de hidroxiureia.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- a). Revisar na literatura aspectos clínicos e laboratoriais da Doença Falciforme;
- b). Estimar o estresse oxidativo através de peroxidação lipídica pelo TBARS;
- c). Relacionar as concentrações plasmáticas de zinco em indivíduos com Doença Falciforme e grupo controle;
- d). Correlacionar valores de zinco com TBARS;
- e). Correlacionar valores de zinco e TBARS com sexo e idade;
- f). Correlacionar concentração de TBARS com valores de hemoglobina fetal.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1. Tipo de estudo**

Estudo descritivo em corte transversal realizado com indivíduos adultos com Doença Falciforme em dois centros de referência em Campo Grande (MS), de março de 2011 a dezembro de 2015.

### **4.2. Sujeitos da pesquisa**

Os critérios de inclusão foram: diagnóstico prévio de Doença Falciforme confirmado por HPLC e uso regular de hidroxiureia há mais de 12 meses. Os critérios de exclusão foram: outra hemoglobinopatia não associada à HbS, quadro clínico sugestivo de infecção no momento da coleta de sangue, indivíduos em crise aguda da doença no momento da coleta de sangue, transfusão a menos de 120 dias, acompanhamento ambulatorial irregular, persistência hereditária de hemoglobina fetal, idade inferior a 18 anos e gestantes. Para o grupo controle, no estudo de concentrações de zinco, foram alocados indivíduos não portadores de hemoglobinopatias, pareados por idade e sexo com o grupo caso.

### **4.3. Aspectos éticos**

Todos os indivíduos sujeitos da pesquisa aceitaram e assinaram Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a participação no estudo. A identificação dos mesmos ocorreu por numeração arábica de tubos e formulários de entrevistas, preservando a identidade dos sujeitos. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, de acordo com

a Resolução n 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde. O mesmo foi aprovado pelo CAAE 08484212.5.0000.0021 (ANEXO 1). O estudo foi aceito pelas comissões de ética dos Hospitais envolvidos na pesquisa. Não houve conflito de interesses do pesquisador.

#### **4.4. Coleta de dados**

Os dados, exame diagnóstico HPLC, idade, sexo, uso de hidroxiureia e dosagem de hemoglobina fetal, foram variáveis coletadas dos prontuários dos indivíduos estudados. Para obtenção de valores de TBARS e zinco foram coletadas amostras de sangue venoso, sendo os tubos identificados em numeração arábica de 01 a 24. O sangue venoso foi coletado à vácuo em tubos plásticos contendo heparina específicos para dosagens de elementos traço. Imediatamente após coleta, o sangue foi centrifugado para separação do plasma que foi congelado e armazenado a  $-30^{\circ}\text{C}$ . Ao final de todas as coletas foram realizadas espectrofotometria para zinco e reação com ácido tiobarbitúrico (TBARS).

#### **4.5. Análises laboratoriais**

##### **4.5.1 Dosagem das concentrações plasmáticas de TBARS**

A peroxidação lipídica das amostras foi realizada pela dosagem plasmática das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) através da utilização de um espectrofotômetro SP-22 (Biospectro). O método consiste na reação do malondialdeído e outros aldeídos com o ácido tiobarbitúrico (TBA) em pH baixo e temperatura elevada para constituir um complexo com absorção máxima em 535nm. São considerados valores normais concentrações de até 440ng/ml. (PERCÁRIO *et al.*, 1994)

Utilizou-se um volume de 1 ml do TBA (10 nM/l) adicionado a 0,5 ml da amostra. A solução padrão preparada constituía-se de 1 ml do TBA (10 nM/l) e 0,5 ml de MDA (20 nM/l). Para a leitura do branco no equipamento (zerar o equipamento) consideramos uma solução de 1 ml de TBA (10nM/l) e 0,5 ml de água. Todas as soluções foram aquecidas em banho Maria a 94°C por 1 hora e posteriormente resfriadas em água corrente por 5 minutos. Acrescentou 4 ml de álcool n-butírico em cada tubo como bloqueadores de reações. Os tubos foram agitados em Vortex para total extração do MDA para a fase orgânica do sistema, logo centrifugados a 2500 rpm por 10 minutos. Posteriormente após tais processos, a amostra é utilizada para a leitura no espectrofotômetro.

#### 4.5.2 Dosagem das concentrações plasmáticas de zinco

Uma das primeiras etapas para a realização das análises de elementos químicos através do ICP-OES é realizada coletando amostras de sangue em seringas de polipropileno e posteriormente condicionando-as em tubos a vácuo livres de metais (BD Vacutainer Systems-Becton, Dickinson & Co). O soro é separado e transferido para tubos desmineralizados Eppendorf através de centrifugação a 2500 rpm por 10 minutos, depois são armazenados a temperatura de -18°C, para posterior determinação do elemento zinco. A descontaminação de resíduos metálicos é realizada em todos materiais, plásticos e vidros imersos por 24 horas em solução de Extran 5% (Merck) em solução a 10% de ácido nítrico superpuro (Merck). Posteriormente, são lavadas com água ultra-pura (Milli-Q, Millipore, Bedford, E.U.A.) e secos a 40°C em uma mufla. Após o processo de digestão ácida a fim de remover os compostos orgânicos presentes, as amostras estão preparadas para a medição.

Uma solução padrão estoque multi-elementar de 100 mg/L contendo zinco (Zn), foi diluída para construção das curvas de calibração. Para as determinações do zinco foram construídas curvas de calibração contendo três pontos correspondentes as concentrações (mg/L) de 0 - 0,25 - 1,0 - 2,0. As concentrações de zinco no soro foram determinadas pelo método de espectrometria de emissão óptica com plasma acoplado-ICP-OES (Thermo Scientific – ICAP 6000 Series). Alíquotas de cada

amostra de soro foram diluídas com água ultra-pura com relação 1:5 para o zinco, logo a solução foi aspirada diretamente na chama por meio de capilar.

#### **4.6 Análise estatística**

Os dados foram organizados em planilha Excel e apresentados sob a forma de estatística descritiva. Para verificar a normalidade da distribuição em cada variável de estudo foi utilizado o Teste Shapiro-Wilk. Para comparação dos valores da idade, TBARS, HbF e zinco foram utilizados o Teste  $t$  ou o Teste Mann Whitney. Também foi calculada a correlação Pearson ou Spearman entre as variáveis de estudo. O nível de significância adotado foi de 5%. Foi utilizado o programa estatístico SPSS Versão 23.0 (IBM Corporation/Armonk/New York/USA).

## 5 TRABALHOS PRODUZIDOS

### 5.1 Aspectos Clínicos da Doença Falciforme

OLIVEIRA, E.C.L.; ARAUJO, O.M.R. Aspectos Clínicos da Doença Falciforme. In: IVO, M. L. **Hematologia – Um olhar sobre a Doença Falciforme**. p. 119-131, Campo Grande: UFMS, 2013.

ISBN 978-85-7613-449-7

A doença falciforme compreende um grupo de patologias heterogêneas do ponto de vista genotípico, com manifestações clínicas e laboratoriais bastante variáveis. Do ponto de vista genotípico, abrange as hemoglobinopatias, que se caracterizam pela presença de hemoglobina S (Hb S) em homozigose ou em heterozigose com outras hemoglobinas anormais. Assim sendo, a doença falciforme manifesta-se clinicamente em três principais síndromes clínicas: a anemia falciforme homozigótica, a S- $\beta$ -talassemia e a hemoglobinopatia SC. No entanto sabe-se que as manifestações clínicas não decorrem apenas da quantidade de Hb S que o indivíduo possui ou do tipo de hemoglobina anormal a que a Hb S está associada nas heterozigoses. Deve-se considerar a existência de um polimorfismo genético relacionado com os diferentes haplótipos da Hb S que propiciam a ocorrência de manifestações clínicas diversas mesmo nos indivíduos com anemia falciforme homozigótica, pois alguns haplótipos associam-se a concentrações de hemoglobina fetal (Hb F) mais elevados que outros (ZAGO, 2002; STEINBERG; EMBURY, 1986).

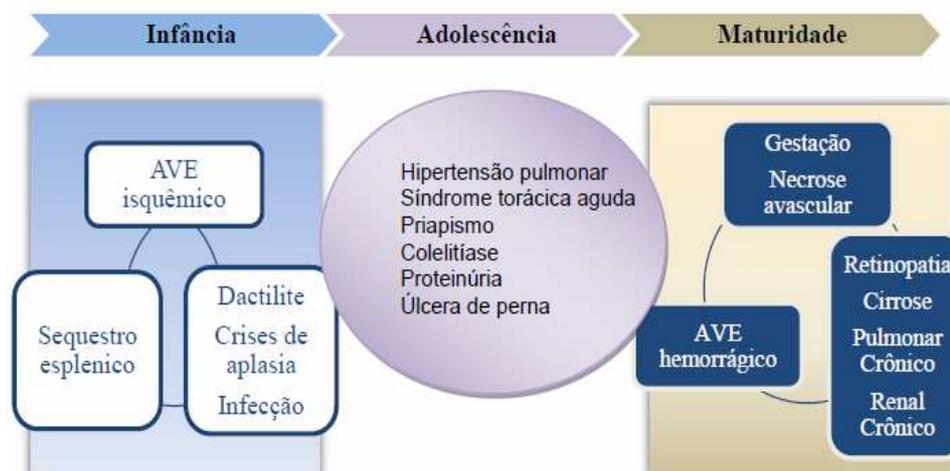
Os haplótipos são padrões de sítios polimórficos que ocorrem nos alelos de qualquer cromossomo, sendo herdados, em pares ou em grupo, de um único progenitor. Na doença falciforme são distinguidos, através da alteração de reconhecimento desses sítios por enzimas de restrição, cinco haplótipos relacionados ao gene mutante da  $\beta$  globina e comuns à maioria dos indivíduos, mas há haplótipos menos comuns, os denominados atípicos. A caracterização dos haplótipos comuns foi realizada por investigação de grupos populacionais residentes em regiões geográficas específicas, dessa forma, são utilizados os termos Senegal, República Central da África (CAR ou Bantu), Camarões, Benin e Árabe-indiano para

nomear esses haplótipos. A existência de haplótipos específicos em determinadas localizações geográficas sugerem que o gene mutante da  $\beta$  globina foi introduzido separadamente em cada uma dessas regiões. O haplótipo Senegal cursa com quadro clínico menos grave, enquanto o haplótipo CAR, com quadro mais grave. Estudos estão sendo realizados para definir a relação entre as diferentes associações de haplótipos e a gravidade da doença (STEINBERG, EMBURY, 1986; ONER et al., 1992; NAGEL et. al., 1991).

Os sintomas da doença ocorrem com mais frequência a partir do quarto mês de vida, período em que os concentrações de Hb F caem e já não são suficientemente altos para evitar a falcização das hemácias, e possuem apresentações variáveis conforme a faixa etária do paciente (FIGURA 1). Episódios de dor, infecções e sintomas decorrentes de anemia são as manifestações clínicas mais frequentes nos indivíduos com doença falciforme que, periodicamente, por vários motivos, têm exacerbação do quadro patológico seja através de crises de falcização, aplasia, sequestro esplênico ou por hemólise aguda. As complicações clínicas da doença falciforme incluem risco aumentado de acidente vascular encefálico, alterações renais e oculares, lesões osteoarticulares, comprometimento do crescimento e desenvolvimento físico, priapismo, alterações cardíacas e pulmonares, colelitíase e úlcera de membros inferiores (BENJAMIN, 2008; DOVER et al, 2003).

O sequestro esplênico caracteriza-se pela tríade composta por diminuição rápida nos concentrações basais de hemoglobina em 2g/dl ou mais, reticulocitose e aumento súbito do baço. A apresentação clínica instala-se abruptamente com sensação de mal-estar, palidez, dor abdominal, sudorese e sinais de choque hipovolêmico (NATHAN et al., 2003).

É mais frequente até o sexto ano de vida com mortalidade variando de 12% no primeiro episódio até 20% em episódios subsequentes (TOPLEY et al.,1981). Devido à anemia intensa, a transfusão de concentrado de hemácias e a expansão volêmica são as condutas mais adequadas para reversão do quadro. É recomendado manter os pacientes em esquema transfusional após o primeiro episódio, indicar esplenectomia para os pacientes maiores de dois anos com quadros graves que não responderam ao esquema de transfusão crônica, e orientar os pais a reconhecer a progressão dos sintomas e a palpar o aumento do baço para rápida detecção e abordagem dessa complicação aguda (BRUNIERA, 2007).



**FIGURA 1** – Complicações clínicas conforme a faixa etária. Adaptado de: BENJAMIN, 2008.

As crises de aplasia são complicações temporárias e relacionadas a quadro infeccioso. Cerca de 70 a 100% dos episódios são decorrentes de infecção por parvovírus B19. Os pacientes apresentam cansaço progressivo, dispneia, anemia grave, reticulopenia (<1%), podendo haver febre, sintomas de infecção respiratória superior ou gastrointestinal. Rash cutâneo, porém, não é comum. Na fase de convalescência há anemia grave com hiperreticulocitose. O diagnóstico pode ser confirmado com sorologia IgM positivo para parvovírus B19. Não há recorrência da doença em crianças. O parvovírus B19 também pode ocasionar necrose de medula óssea e glomerulonefrite em pacientes com doença falciforme (EICHHORN et al.,1999; WIERENGA et al, 1995). O tratamento é de suporte com hemotransfusão quando necessário (SERJEANT et al,1993).

A dactilite caracteriza-se por ser um tipo de comprometimento articular comum em crianças abaixo de sete anos, principalmente entre um e dois anos, ocorrendo devido a eventos vaso-oclusivos com infarto de metacarpos, metatarsos e falanges. Frequentemente, é a primeira manifestação da doença falciforme (JADAVJI, PROBER, 1985; KIM, MILLER, 2002). Apresenta-se clinicamente como edema simétrico doloroso em dorso de mãos e pés, de instalação aguda, envolvendo um ou mais dedos e que se resolve em duas semanas, período em que nova formação óssea e lesão lítica característica podem ser observadas radiologicamente (LONERGAN, CLINE, ABBONDANZO, 2001). Raramente pode envolver as epífises

levando a fusão óssea prematura e dedos curtos. O tratamento é o mesmo da crise dolorosa óssea que ocorre após os primeiros anos da infância (BABHULKAR, PANDE, BABHULKAR, 1995).

Com o crescimento, a medula óssea passa a localizar-se predominantemente em regiões justa-articulares de ossos longos, esterno, costela, pelve e coluna vertebral, que se tornam as principais localizações das dores ósseas decorrentes dos eventos vaso-oclusivos e infartos ósseos. Os principais fatores precipitantes das crises dolorosas ósseas são as infecções, a acidose, as grandes altitudes e a exposição ao frio. A intensidade da dor e sua duração são variáveis, assim como sua apresentação, que pode ser migratória ou não, simétrica ou assimétrica, podendo manifestar-se de forma leve, transitória e localizada, ou como dores lancinantes, generalizadas, que duram dias ou semanas. O tratamento consiste em hidratação e analgesia efetiva da dor. Sempre que possível, a identificação de fatores predisponentes, assim como a pesquisa e o tratamento das infecções associadas, são procedimentos obrigatórios (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

A osteonecrose ou necrose avascular é resultante de infartos com isquemia em articulações e epífises de ossos longos. A cabeça do fêmur é o local mais comum de ocorrência de osteonecrose, seguido de cabeça do úmero e joelho. A ocorrência em múltiplas articulações não é incomum.

A necrose isquêmica da cabeça de fêmur pode se dar na infância, mas é mais frequente no final da adolescência e em adultos jovens; e varia entre quadro assintomático e dor no quadril, que piora com a movimentação. Nas crianças a função articular é mantida, já nos adultos há redução do espaço articular com dor e limitação de movimentos. Quando diagnosticado precocemente, a abordagem terapêutica resume-se em sobrecarga articular, permitindo a cicatrização da lesão sem complicações. A dor é tratada sintomaticamente e, nos casos de sintomas persistentes e intensos, indica-se a colocação de prótese de quadril (ALMEIDA, ROBERTS, 2005).

Em até 10% das crianças com anemia falciforme ocorre comprometimento neurológico por acidente vascular encefálico (AVE), sendo o AVE isquêmico a principal complicação encefálica da doença falciforme (70 – 80% dos casos) decorrente de infarto em áreas irrigadas por grandes vasos progressivamente obstruídos pelas crises de falcização. Cerca de 30% dos pacientes podem

desenvolver uma extensa circulação colateral ao vaso ocluído que, em exames de imagem, mostra características de Moya Moya. Os infartos maiores podem evoluir para acidente vascular encefálico hemorrágico. Os sintomas mais comuns são hemiparesia, alterações da fala (afasia ou disfasia), convulsões e monoparesias (KIRKHAM, CHIR, DEBAUM, 2004).

Os fatores de risco para AVE isquêmico, mais frequente em crianças e idosos, são ataque isquêmico transitório prévio, baixas concentrações de hemoglobina, crise torácica recente e hipertensão. O AVE hemorrágico é mais frequente em adultos jovens e os principais fatores de risco são baixas concentrações de hemoglobina e alta contagem leucocitária. As recidivas após o primeiro episódio são mais frequentes nos três primeiros anos e, para preveni-los, os pacientes devem ser submetidos a esquema de transfusão crônica para manter a hemoglobina entre 10 e 11mg/dl, e diminuir a porcentagem de hemoglobina S para menos de 30%. A exsanguíneo transfusão é uma intervenção terapêutica que diminui a progressão da doença e proporciona melhora clínica. É importante a avaliação e seguimento de equipe médica que conte com neurologista e suporte de terapia intensiva. O uso do Doppler transcraniano para triagem de anormalidades nas taxas do fluxo arterial para o encéfalo deve ser combinado com uma terapêutica adequada com a finalidade de evitar o primeiro AVE (KIRKHAM, CHIR, DEBAUM, 2004; ADAMS, et al, 1998).

Aproximadamente metade dos pacientes apresenta, em algum momento da vida, a síndrome torácica aguda, sendo esta a maior causa de internação de pacientes com doença falciforme em centro de terapia intensiva. Os sintomas mais comuns são tosse, febre e dor torácica. No exame pulmonar, a ausculta pode revelar crepitações e sibilos, porém frequentemente o exame pode estar normal (TAYLOR, et al, 2004). O exame radiológico apresenta imagem de infiltrado alveolar pulmonar, que ocorre após crise dolorosa, infarto de costelas, infecção aguda, infarto de medula óssea e embolia gordurosa. É a causa mais comum de mortalidade e tende à reincidência, propiciando o desenvolvimento de hipertensão pulmonar. A hipertensão pulmonar tem uma prevalência de aproximadamente 30% em pacientes adultos com taxa de mortalidade variando de 40 a 50%. Vários fatores contribuem para sua ocorrência: a baixa biodisponibilidade de óxido nítrico, a asplenia, trombozes, doença pulmonar associada e sobrecarga de ferro. É recomendada a realização de ecocardiograma para triagem. A abordagem terapêutica baseia-se na

intensificação do tratamento da doença falciforme, uso de agentes específicos para reduzir pressão pulmonar e tratamento de fatores causais ou associados (HAYNES, KIRKPATRICK, 1993; LEE, ROSENZWEIG, CAIRO, 2007) .

O tratamento da síndrome torácica aguda implica hidratação adequada com rigoroso balanço hídrico e peso diário, a transfusão está indicada quando o hematócrito estiver abaixo de 30% e, em caso de hipoxemia, a oxigenioterapia é recomendada. O uso de broncodilatadores está indicado para reduzir a hiperreatividade brônquica presente em 13% dos pacientes. Os agentes infecciosos mais comumente relacionados com a síndrome torácica aguda são *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* e *pneumococo*, além de organismos virais. Indica-se, porém, terapia antibiótica empírica com cefalosporina de terceira ou quarta geração ou beta lactâmico, associada a macrolídeo devido às dificuldades de definição etiológica do microrganismo envolvido (BRUNETTA, et al,2010; LOGGETTO, et al, 1999).

As infecções são as complicações mais frequentes em indivíduos com anemia falciforme. O paciente com doença falciforme deve ser considerado um indivíduo imunossuprimido devido à ausência da função esplênica. A asplenia funcional é permanente após o sexto ou oitavo ano de vida, mas, mesmo antes disso, a imunidade fornecida pelo baço está comprometida devido aos frequentes microinfartos esplênicos. Há maior suscetibilidade a infecções por organismos encapsulados. O risco de infecção por pneumococo em crianças menores de cinco anos é de 30 a 100 vezes maior que em crianças sem doença falciforme (DI NUZZO, FONSECA, 2004). Infecções ósseas por *Staphilococcus* e *Pneumococcus* também ocorrem com frequência aumentada. Especialmente as crianças maiores e os adultos têm risco 25 vezes maior de desenvolver infecções por salmonelas. Assim sendo, a ocorrência de febre indica a necessidade de rápida avaliação clínica e laboratorial devido ao risco de óbito por septicemia. Em pacientes com toxemia deve-se prescrever antibioticoterapia empírica endovenosa. Apesar da redução do risco de transmissão de doenças virais por transfusão sanguínea e da redução da quantidade de hemocomponentes transfundidos com o advento do tratamento com hidroxiureia, há risco de transmissão de vírus, principalmente de hepatite B, hepatite C e HIV. A infecção crônica pelo vírus da hepatite C pode ser a principal causa de cirrose na doença falciforme (HASAN, 1996).

O aparelho urinário pode ser comprometido por alterações características e diversas. Os rins podem sofrer alterações glomerulares com dilatação dos glomérulos e alterações medulares devido à oclusão da vasa recta pela falcização, desencadeando hipostenúria, além de lesão dos túbulos renais e deposição de ferro. É frequente, em crianças, o aumento da taxa de filtração glomerular com progressiva redução da função renal com o decorrer do tempo. As manifestações clínicas mais comuns do comprometimento renal na doença falciforme são nictúria e poliúria. A hematúria pode ocorrer quando há necrose papilar por sucessivos microinfartos em pirâmides renais. Nos casos de proteinúria importante pode ocorrer quadro clínico de síndrome nefrótica com possível evolução para insuficiência renal crônica em 2/3 dos pacientes. A ocorrência de insuficiência renal aguda está relacionada com a desidratação nas crises de falcização (SAAD, 2002; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

A doença falciforme é o fator causal de 25% dos casos de priapismo, que é uma tumescência peniana prolongada acompanhada de dor, relacionada especificamente ao priapismo do tipo venoso. O aparecimento do priapismo ocorre com mais frequência nas idades de cinco a 13 anos e entre 21 e 29 anos. A abordagem terapêutica do priapismo tem urgência, já que pode evoluir para isquemia, trombose peniana, gangrena ou dano vascular que resulte em disfunção erétil ou impotência, principalmente quando ocorre em indivíduos adultos. O tratamento baseia-se em analgesia, hidratação endovenosa rápida e abordagem urológica que, em casos agudos até 24h de evolução, inicia-se com aspiração de sangue e injeção de fenilefedrina nos corpos cavernosos. Se houver falha nas medidas conservadoras, indica-se a cirurgia de *shunt* peniano para criar uma fístula interna entre os corpos esponjoso e cavernoso. Outras medidas podem auxiliar no tratamento, como transfusão sanguínea, exsanguíneo transfusão e oxigênio hiperbárico. Alguns autores indicam uso de análogos do GRH, andrógenos, finasterida e gabapentina no tratamento crônico profilático (FIGUEIREDO, 2002; CRANE, BENNETT, 2010).

As úlceras de membros inferiores são bastante reconhecidas como manifestação clínica da doença falciforme, sendo mais prevalentes acima dos 10 anos de idade e nos pacientes com genótipo SS. Vários fatores podem contribuir para sua patogênese, dentre elas obstrução mecânica por vaso-occlusão, insuficiência venosa, infecções bacterianas, excessiva vasoconstrição em resposta a

estímulo autonômico anormal, trombose local, diminuição da capacidade de oxigenação tecidual pela anemia, e diminuição da bioviabilidade do óxido nítrico. Essas úlceras ocorrem em regiões com pouca gordura subcutânea, com pele fina e com baixo fluxo sanguíneo, principalmente na região maleolar interna e na externa, assumindo, se tratadas tardiamente, toda a circunferência do calcanhar. São dolorosas, indolentes e com cicatrização lenta, o que demanda longo tempo de tratamento que inclui educação, proteção, controle de infecção, debridamento, analgesia, uso tópico de fator de crescimento derivado de plaquetas e, quando necessário, enxerto de pele. O uso de zinco oral pode trazer benefício no tratamento das úlceras. Principalmente nas feridas mais profundas, pode haver evolução para osteomielite, que deve ser investigada por ressonância nuclear magnética ou biópsia óssea (ALBERTO, COSTA, 2002; MINNITI, 2010).

As manifestações cardiovasculares na doença falciforme podem ser decorrentes de aumento do débito cardíaco, por alterações relacionadas à vaso-oclusão ou pela sobrecarga de ferro. Incluem disfunção tanto diastólica quanto sistólica de ambos os ventrículos, cardiomegalia e isquemia miocárdica (VOSKARIDOU, CHRISTOULAS, TERPOS, 2012). Também devido aos eventos vaso-oclusivos, ocorrem as alterações oculares, mais frequentes na retina onde os vasos periféricos são finos e mais suscetíveis à oclusão. Essas alterações periféricas da retina são mais frequentes nos pacientes com genótipo SC (BONANONI, 2002; NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. DIVISION OF BLOOD DISEASES AND RESEARCH, 2002). O acompanhamento regular com oftalmologista deve fazer parte do seguimento de pacientes com doença falciforme, pois o tratamento precoce pode prevenir a progressão de retinopatia e a cegueira (COSTA, 2004).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, R.J.; MCKIE, V.C.; BRAMBILLA, D. et al. Stroke prevention trial in sickle cell anemia. **Control Clin Trials**. 1998; 19 (1):110-29.

ALBERTO, F.L.; COSTA, F.F. Úlceras de membros inferiores. In: **Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2002; cap. XIII, p. 106-113.

ALMEIDA, A., ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. **Br J Haematol**. 2005; 129 (4): 482–490.

BABHULKAR, S.S., PANDE, K., BABHULKAR S. The hand-foot syndrome in sickle-cell haemoglobinopathy. **J Bone Joint Surg. Br.** 1995; 77 (2): 310–312.

BENJAMIN, L. Pain management in sickle cell disease: palliative care begins at birth? **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, 2008; 466-74.

BONANONI, M.T.B.C. Alterações oculares na doença falciforme. In: **Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2002; cap. XII, p. 98-105.

BRUNIERA, P. Crise de sequestro esplênico na doença falciforme **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** 2007; 29 (3): 259-261.

BRUNETTA, D.M.; CLÉ, D.V., HAES, T. M. et al. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. **Medicina (Ribeirão Preto)** 2010; 43(3): 231-7.

COSTA, F.F. Anemia Falciforme. In: ZAGO, M.A.; FALCÃO, R.P.; PASQUINI, R. **Hematologia: Fundamentos e prática**. São Paulo: Atheneu, 2004, cap. 30, 289-307.

CRANE, G M.; BENNETT Jr, N.E. Priapism in Sickle Cell Anemia: Emerging Mechanistic Understanding and Better Preventative Strategies Anemia. **Hindawi Publishing Corporation**, 2011, article ID 297364.

DI NUZZO, D.V.P.; FONSECA, S.F. Anemia falciforme e infecções **J. Pediatr.** 2004; 80 (5): 347-354.

DOVER, G.J.; PLATT, O.S. Sickle cell disease. In: NATHAN, D.J.; ORKIN, S.H.; GINSBURG, D.; et al. **Hematology of Infancy and Childhood**. 6ªed. Philadelphia, Pennsylvania. WB Saunders Company; 2003; p.790- 841.

EICHHORN, R.F.; BUURK, E.J.; BLOK, P. et al. Sickle cell-like crisis and bone marrow necrosis associated with parvovirus B19 infection and heterozygosity for haemoglobins S and E. **J Intern Med.** 1999; 245:103-106.

FIGUEIREDO, M.S. Situações de emergências. In: **Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2002; cap. VIII, p. 62-77.

HASAN, M.F.; MARSH, F.; POSNER, G. et al. Chronic hepatitis C in patients with sickle cell disease. **Am J Gastroenterol.** 1996; 91(6):1204-6.

HAYNES, J; KIRKPATRICK, M.B. The acute chest syndrome of sickle cell disease. **Am J Med Sci.** 1993; 305 (5):326-30.

JADAVJI, T.; PROBER, C.G. Dactylitis in a child with sickle cell trait. **Can Med Assoc J.** 1985; 132(7): 814–815.

KIM S.K., MILLER, J.H. Natural history and distribution of bone and bone marrow infarction in sickle hemoglobinopathies. **J Nucl Med.** 2002; 43 (7): 896–900.

KIRKHAM, F.J.; DEBAUN, M.R. Stroke in Children with Sickle Cell Disease. **Current Treatment Options in Neurology**. 2004; 6:357–375.

LEE, M.T.; ROSENZWEIG, E.B.; CAIRO, M.S. Pulmonary hypertension in sickle cell disease. **Clin Adv Hematol Oncol**. 2007; 5 (8): 645-53, 585.

LOGGETTO, S.R.; PELLEGRINI-BRAGA, J.A, COSTA-CARVALHO, B.T.et al. Alterações imunológicas em pacientes com anemia falciforme. **Rev Bras Alerg Immunopatol**. 1999; 22 (3): 77-82.

LONERGAN, G.J., CLINE, D.B., ABBONDANZO, S.L. Sickle cell anemia. **Radiographics**. 2001; 21: 971–994.

MINNITI, C.P., ECKMAN, J.; SEBASTIANINI, P. et al. Leg Ulcers in Sickle Cell Disease. **Am J Hematol**. 2010; 85(10): 831–833.

NAGEL, R.L.; ERLINGSSON, S.; FABRY, M.E. et. al. The Senegal DNA haplotype is associated with the amelioration of anemia in African-American sickle cell anemia patients. **Blood**, 1991; 77: 1371-1375.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE. DIVISION OF BLOOD DISEASES AND RESEARCH. **The Management of Sickle Cell Disease**. NIH Publication No. 02-2117, june 2002. Disponível em [www.nhlbi.nih.gov/health/prof/blood/sickle/index.htm](http://www.nhlbi.nih.gov/health/prof/blood/sickle/index.htm)

ONER, C.; DIMOVSKI, A.J.; OLIVIERI, N.F., et al. Beta S haplotypes in various world populations. **Hum Genetics**, 1992; 89:99-104.

SAAD, S.T.O. Alterações renais na doença falciforme. In: **Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2002; cap. X, p. 84-90.

SERJEANT, G.R.; SERJEANT, B.E.; THOMAS, P.W. et al. Human parvovirus infection in homozygous sickle cell disease. **Lancet**. 1993; 341:1237-1240.

STEINBERG, M.H; EMBURY, S.H. Alpha-thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. **Blood**, 1986; 68: 985.

TAYLOR, C., CARTER ,F., POULOSE, J. et al. Clinical presentation of acute chest syndrome in sickle cell disease. **Postgrad Med J**. 2004; 80:346–349.

TOPLEY, J.M.; ROGERS, D.W.; STEVENS, M.C.; SERJEANT, G.R. Acute splenic sequestration and hyperesplenism in the first five years in homozygous sickle cell disease. **Arch Dis Child**. 1981; 56 (10):765-9.

VOSKARIDOU, E.; CHRISTOULAS ,D.; TERPOS, E. Sickle-cell disease and the heart: review of the current literature. **Br J Haematol**. 2012; 157 (6):664-73.

WIERENGA, K.J.; PATTISON, J.R.; BRINK, N.et al. Glomerulonephritis after human parvovirus infection in homozygous sickle-cell disease. **Lancet**. 1995; 346:475-476.

ZAGO, M.A. Considerações Gerais. In: **Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 2002; cap. I, p. 08-12.

## 5.2 Doença Falciforme: Concentrações de TBARS e zinco em indivíduos tratados com hidroxiureia.

### RESUMO

**Objetivo:** Analisar as concentrações plasmáticas de TBARS e zinco em indivíduos com doença falciforme em uso de hidroxiureia. **Material e Métodos:** Corte transversal com 24 indivíduos entre 18 e 49 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico de doença falciforme e em tratamento regular com hidroxiureia. Realizadas dosagens plasmáticas de TBARS e Zinco por espectrofotometria. Para comparação das médias foi utilizado o Teste *t* ou Teste Mann Whitney, a normalidade foi verificada pelo Teste Shapiro-Wilk. Para as correlações, usado Teste de Pearson ou Spearman ao nível de significância de 5%. Utilizado programa estatístico SPSS Versão 23.0 (IBM Corporation/Armonk/New York/USA). **Resultados:** Os valores de zinco na Doença Falciforme variaram de 36,0 a 74,4mg/L, com média de  $50,1 \pm 9,5$ mg/L (DP), os de TBARS variaram de 2,46 a 21,97  $\mu$ mol, com média de  $9,92 \pm 6,18$   $\mu$ mol (DP). Houve forte correlação negativa entre TBARS e HbF ( $r = -0,82$ ). Houve moderada correlação entre idade em anos e zinco ( $r = 0,53$ ) **Conclusão:** Houve redução de concentrações plasmáticas de zinco em relação ao grupo controle na Doença Falciforme, persistência de marcadores de estresse oxidativo (TBARS) mesmo com o uso de hidroxiureia por período prolongado, quanto maior a hemoglobina fetal, menor o estresse oxidativo. **Descritores:** Doença Falciforme; Hidroxiureia; Zinco; Substâncias reativas com ácido tiobarbitúrico; Estresse oxidativo.

### ABSTRACT

**Objective:** To analyze TBARS and zinc plasmatic concentrations in sickle cell disease individuals using hydroxyurea. **Methods:** Cross sectional study with 24 individuals between 18 and 49 years, both sexes, diagnosed with sickle cell disease and in regular treatment with hydroxyurea. It was determined plasma levels of TBARS and Zinc by spectrophotometry. To compare the means it was performed the

t test or Mann-Whitney test, normality was verified by the Shapiro-Wilk test. For correlations, it was performed Pearson or Spearman test at a significance level of 5%. It was used SPSS version 23.0 (IBM Corporation / Armonk / New York / USA). Results Zinc values ranged from 36.0 to 74,4mg / L, with a mean of  $50.1 \pm 9,5$ mg / L (SD), TBARS ranged from 2.46 to 21.97  $\mu$ mol with average of  $9.92 \pm 6.18$   $\mu$ mol (DP). There was a strong negative correlation between TBARS and HbF ( $r = -0.82$ ). There was a moderate correlation between age in years and zinc ( $r = 0.53$ ). Conclusion: There was a reduction of plasma zinc concentrations in Sickle Cell Disease when compared with control group. Persistence of oxidative stress markers (TBARS) although hydroxyurea uses for a long period of time. The higher fetal hemoglobin, the lower oxidative stress.

**Keywords:** Sickle Cell Disease; Hydroxyurea; Zinc; Thiobarbituric acid reactive substances; Oxidative stress.

## INTRODUÇÃO

Na doença falciforme, a hemoglobina pode aderir-se a membrana do eritrócito e atuar como um reagente de Fenton, aumentando a produção de superóxidos e radical hidroxila e liberação de xantina oxidase pelo fígado. O aumento de oxidantes e a liberação de hemoglobina no intravascular contribuem para o consumo de óxido nítrico, resultando em instabilidade hemodinâmica e redução da capacidade antioxidante. Para se proteger contra o dano oxidativo, o organismo utiliza mecanismos endógenos de defesa que são auxiliados por antioxidantes provenientes da dieta. (PRASAD, 2007; REPKA, 1991)

O principal método de detecção da degradação e peroxidação da membrana lipídica consiste na leitura espectrofotométrica da reação com o ácido tiobarbitúrico, quantificando a soma das diferentes substâncias reativas denominadas TBARS que são encontradas em concentrações elevadas em algumas patologias associadas ao estresse oxidativo. Sua quantificação plasmática é bastante utilizada como indicador da ação dos radicais livres no organismo.. (POWELL, 2000).

O Zinco é reconhecido como substância antioxidante tanto em relação a seus efeitos agudos no estresse oxidativo, quanto a seus efeitos em longo prazo. Em curto prazo, o zinco protege radicais sulfidril de proteínas por ligação direta do zinco ao sulfidril, pela ligação a outro sítio proteico próximo ao grupo sulfidril ou por mudança conformacional por ligação em qualquer outro sítio proteico. Também em

curto prazo, protege contra a formação de OH advindo do  $H_2O_2$  pelo antagonismo a metais com atividade redox, como é o caso do cobre e ferro. Em longo prazo, seus efeitos envolvem a indução de outras substâncias com grande efeito oxidante como as metalotioninas. (POWELL, 2000).

O uso de hidroxiureia se justifica nos indivíduos com Doença Falciforme por ter efeito na produção de hemoglobina F. Essa hemoglobina atua de forma protetora contra a falcização dos eritrócitos, reduzindo os efeitos da vasooclusão e isquemia tecidual. Porém, alguns estudos demonstram também que a hidroxiureia pode ter ação antioxidante direta por inibir a peroxidação lipídica decorrente da formação de metahemoglobina (GLADWIN et al., 2002).

## **OBJETIVO**

Analisar as concentrações plasmáticas de TBARS e zinco em indivíduos com doença falciforme em uso de hidroxiureia.

## **MÉTODOS**

Estudo descritivo em corte transversal realizado com indivíduos adultos com Doença Falciforme em dois centros de referência em Campo Grande (MS), de março de 2011 a dezembro de 2015. Realizado com aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, de acordo com a Resolução n 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) do Ministério da Saúde. O estudo foi aceito pelas comissões de ética dos Hospitais envolvidos na pesquisa. Não houve conflito de interesses c. pesquisador.

Os dados, exame diagnóstico HPLC, idade, sexo, uso de hidroxiureia e dosagem de hemoglobina fetal, foram variáveis coletadas dos prontuários dos indivíduos estudados. Para obtenção de valores de TBARS e zinco foram coletadas amostras de sangue venoso, sendo os tubos identificados em numeração arábica de 01 a 24. O sangue venoso foi coletado à vácuo em tubos plásticos contendo heparina específicos para dosagens de elementos traço. Imediatamente após coleta, o sangue foi centrifugado para separação do plasma que foi congelado e armazenado a  $-30^{\circ}C$ . Ao final de todas as coletas foram realizadas espectrofotometria para zinco e reação com ácido tiobarbitúrico (TBARS).

A peroxidação lipídica das amostras foi realizada pela dosagem plasmática das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) através do da utilização de um

espectrofotômetro SP-22 (Biospectro). A dosagem de zinco foi realizada através do ICP-OES.

Os dados foram organizados em planilha Excel e apresentados sob a forma de estatística descritiva. Para verificar a normalidade da distribuição em cada variável de estudo foi utilizado o Teste Shapiro-Wilk. Para comparação dos valores da idade, TBARS, HbF e zinco foram utilizados o Teste *t* ou o Teste Mann Whitney. Também foi calculada a correlação Pearson ou Spearman entre as variáveis de estudo. O nível de significância adotado foi de 5%. Foi utilizado o programa estatístico SPSS Versão 23.0 (IBM Corporation/Armonk/New York/USA).

## RESULTADOS

O grupo caso é composto por 24 indivíduos em acompanhamento clínico ambulatorial com diagnóstico laboratorial (HPCL) de Doença Falciforme e em uso regular de Hidroxiuréia, na dose de 15 a 30mg/Kg, há no mínimo 12 meses. A faixa etária variou de 18 a 49 anos, sendo 15 do sexo feminino e 09 do sexo masculino. O grupo controle é formado por 47 indivíduos saudáveis com idade e sexo pareados ao grupo caso.

Os valores encontrados para zinco no grupo controle variaram de 80 a 175,0 mg/L, com média e desvio padrão (DP) de  $130,1 \pm 21,5$  mg/L, enquanto no grupo falciforme variaram de 36,0 a 74,4 mg/L, com média de  $50,1 \pm 9,5$  mg/L (DP). A média no grupo falciforme foi inferior ao grupo controle. Os valores de TBARS no grupo falciforme variaram de 2,46 a 21,97  $\mu$ mol, com média de  $9,92 \pm 6,18$   $\mu$ mol (DP). Em comparação à literatura em que são consideradas concentrações normais valores de 1,86 a 3,94  $\mu$ mol, foram encontrados resultados superiores nos indivíduos estudados. (TABELA 1)

Tabela 1 - Valor de zinco sérico em indivíduos com doença falciforme e grupo controle, Campo Grande - 2012.

Variáveis	Controle (n= 47)	Caso (n= 24)	<i>p</i>
Zinco	$130,1 \pm 21,5$ (mg/L)	$50,1 \pm 9,5$ (mg/L)	<0,001
TBARS	***	$9,92 \pm 6,18$ ( $\mu$ mol)	***

Nota: se  $\leq 0,05$  – diferença estatisticamente significativa. Teste t.

\*\*\* sem medição no grupo controle.

Ao comparar TBARS, zinco, HbF e idade, verificou-se que houve forte correlação ( $r=-0,82$ ) entre os valores do TBARS e HbF, a medida que aumentaram os valores do TBARS, diminuíram os valores do HbF. Houve moderada correlação ( $r= 0,53$ ) entre a idade em anos e os valores de Zn, a medida que aumentaram os anos de vida, aumentaram os valores de Zn.(TABELA 2)

Tabela 2 – Correlação entre variáveis de estudo (n=24).

Variáveis	Coefficiente	<i>p</i>	Teste
TBARS vs. Zn	0,06	0,777	Spearman
TBARS vs. HbF	-0,82	<b>&lt;0,001</b>	Spearman
TBARS vs.idade	0,22	0,291	Spearman
Idade vs. Zn	0,53	<b>0,008</b>	Pearson

Em relação ao total de pacientes (n=24), foram observados os seguintes valores (Média  $\pm$  Desvio Padrão) para idade (30,8  $\pm$  8,6) e HbF (18,1  $\pm$  9,1). Na comparação entre os gêneros masculino e feminino, os valores do TBARS no masculino foram superiores aos do sexo feminino ( $p < 0,001$ ) e os valores do HbF foram superiores nas mulheres ( $p=0,013$ ). Não houve diferença estatística na idade e para Zn entre homens e mulheres. (TABELA 3)

Tabela 3 – Estatística descritiva e comparação entre valores das variáveis de estudo entre os gêneros feminino e masculino (n=24).

Variáveis	Feminino (n=15)			Masculino (n=9)			<i>p</i>
	Média	DP	Med	Média	DP	Med	
Idade	31,5	7,8	32,0	29,8	10,3	28,0	* 0,653
Zn	52,7	9,5	54,8	45,8	8,3	44,8	* 0,085
TBARS	6,81	3,66	5,53	15,10	6,16	17,51	* <b>&lt;0,001</b>
HbF	21,3	10,1	16,2	12,8	3,0	11,6	** <b>0,013</b>

DP=desvio padrão; Med=mediana. \* Teste *t*. \*\* Teste Mann Whitney

## DISCUSSAO

Neste estudo, verificou-se redução estatisticamente significativa das concentrações de zinco em indivíduos com doença falciforme em relação ao grupo controle, confirmando achados da literatura (PRASAD, 1975; LEONARD, 1998; HASANATO, 2006).

A bioviabilidade adequada desse mineral é particularmente importante para o sistema imunológico. O zinco influencia na resposta linfocitária aos mitógenos e citocinas agindo de forma semelhante à timomodulina. Também está envolvido na sinalização leucocitária (NARKEWICZ et al., 1999; ROY et al., 1998; BHATNAGAR et al., 2012).

A deficiência de zinco, especialmente em pacientes com anemia falciforme, doença renal, doenças gastrintestinais crônicas, acrodermatite enteropática, pacientes com SIDA e crianças com diarreia, pode alterar os sistemas de defesa, favorecendo o aumento de infecções oportunistas e, conseqüentemente, da taxa de mortalidade. (HAMBIDGE, 2000).

Em modelo humano experimental, a deficiência de zinco mostrou causar desequilíbrio entre as funções Th1 e Th2, diminuição na produção de INF- $\gamma$  e IL-2 (produtos do Th1), enquanto que a produção de IL-4, IL-6 e IL-10 (produtos do Th2) não são afetadas. Essa deficiência reduz a atividade lítica das células natural killer e a porcentagem de precursores T citotóxicos. No HuT-78, uma linhagem celular Th0, a deficiência de zinco diminui a expressão gênica da timidina quinase, retarda o ciclo celular e diminui o crescimento celular. A expressão gênica de IL-2 e receptores para IL-2 (ambos  $\alpha$  e  $\beta$ ) e a ligação entre NF- $\kappa$ B ao DNA estão reduzidas pela deficiência de zinco em HuT-78. Nesses casos, a produção diminuída de IL-2 pode ser devida a uma diminuição da ativação de NF- $\kappa$ B e subsequente diminuição da expressão gênica de IL-2 e receptores para IL-2 (MACLEAN, CLEVELAND, PORTER, 2001).

Os valores de TBARS revelam estar aumentados semelhantemente a vários outros estudos que demonstram valores de  $2.28 \pm 0.66 \mu\text{mol/l}$  (THAKUR, 2011). Com isso, podemos verificar que há aumento de marcadores de estresse oxidativo em pacientes com Doença Falciforme. (DALLE-DONNE, et al., 2006)

Trabalhos demonstram que os homens apresentam concentrações de TBARS no plasma mais elevados que mulheres ( $0.60$  vs  $0.54 \mu\text{mol}$ ) (KNIGHT et al., 1987), dado confirmado em nosso estudo.

O TBARS mostra-se menor em indivíduos com maiores valores de HbF, podendo estar relacionado a fator protetor da hemoglobina F em relação ao estresse oxidativo nesses indivíduos. (TORRES, 2012). Os principais mecanismos envolvidos no estresse oxidativo associado à Doença Falciforme são o excesso de hemoglobina livre, que atua como catalisador nas reações de oxidação, a lesão tecidual

desencadeada pelo processo recorrente de isquemia/reperfusão, o estado pró-inflamatório crônico e a elevada auto-oxidação da hemoglobina S. A hemoglobina livre associada ao ferro inativa o óxido nítrico, reduzindo sua biodisponibilidade e, com isso, limitando suas propriedades vasodilatadoras, antitrombóticas e anti-inflamatórias. A liberação do ferro na membrana plasmática das células endoteliais causa produção de ROS e ativação endotelial. Esse processo é regulado fisiologicamente pela haptoglobina, que depura o organismo da hemoglobina livre, mas está diminuída na doença falciforme. A célula endotelial também atua contraregulando a ferritina e a heme-oxidase conferindo certa proteção contra o ferro livre (NUR et al, 2011).

## CONCLUSÃO

A presença de HbS confere a indivíduos com doença falciforme, mesmo em "steady state" e uso de hidroxiureia, predisposição a deficiência de zinco e estresse oxidativo. Sendo o Zinco um reconhecido antioxidante, sugere-se reposição de zinco para esses indivíduos com acompanhamento de efeitos clínicos e laboratoriais e inclusive sobre o estresse oxidativo através da monitorização de TBARS.

## REFERÊNCIAS

BHATNAGAR, S., WADHWA, N., ANEJA, S., LODHA, R., KABRA, S. K., NATCHU, U. C., SOMMERFELT, H., DUTTA, A. K., CHANDRA, J., RATH, B., SHARMA, M., SHARMA, V. K., KUMARI, M., STRAND, T. A. Zinc as adjunct treatment in infants aged between 7 and 120 days with probable serious bacterial infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 379, n. 9831, p. 2072-2078, 2012.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; COLOMBO, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.

GLADWIN, M. T.; SHELHAMER, J. H.; OGNIBENE, F.P.; PEASE-FYE, M. E.; NICHOLS, J. S.; LINK, B.; PATEL, D. B.; JANKOWSKI, M.A.; PANNELL, L. K.; SCHECHTER, A. N.; RODGERS, G. P. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 116,n. 2, p. 436–444, 2002.

HASANATO, R. M. W. Zinc and antioxidant vitamin deficiency in patients with severe sickle cell anemia. **Annals of Saudi Medicine**, v. 26, n.1, p. 17-21, 2006.

HAMBIDGE, M., Human Zinc Deficiency. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1344S-1349S, 2000.

KNIGHT, J. A.; SMITH, S. E.; KINDER, V. E.; ANSTALL, H. B. Reference intervals for plasma lipoperoxides: age-, sex-, and specimen-related variations. **Clinical Chemistry**, v. 33, p. 2289-2291, 1987.

LEONARD, M. B; ZEMEL, B. S.; KAWCHAK, D. A.; OHENE-FREMPONG, K.; VIRGINIA, V. Plasma zinc status, growth, and maturation in children with sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, v.132, n. 3, p. 467–471, 1998.

MACLEAN, K.H., CLEVELAND J.L., PORTER J.B., Cellular zinc content is a major determinant of iron chelator–induced apoptosis of thymocytes. **Blood: the journal of hematology**, New York, v. 98, n. 13, p. 3831-3839, 2001.

NARKEWICZ MR, KREBS N, KARRER F, ORBAN-ELLER, K., SOKOL, R. Correction of hypozincemia following liver transplantation in children is associated with reduced urinary zinc loss. **Hepatology**; v. 29, n 3, p. 830-833, 1999.

NUR, E., BIEMOND, B. J., OTTEN, H. M., BRANSJES, D. P., SHONOG, J. J. B. Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. **American Journal of Hematology**, New York, v. 86, n. 6, p. 484-489, 2011

POWELL, S. R.; The Antioxidant Properties of Zinc. **Journal of Nutrition**. v. 130, n. 5, p.1447S-1454S, 2000.

PRASAD, A. S.; SCHOOMAKER, E. B.; ORTEGA, J.; BREWER, G. J.; OBERLEAS, D.; OELSHLEGEL Jr., F. J. Zinc Deficiency in Sickle Cell Disease **Clinical Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 582-587, 1975.

PRASAD, A.S., BECK, F. W., BAO, B., FITZGERALD, J. T., SNELL, D. C., STEINBERG, J. .D, CARDOZO, L. J. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 85, n.83, p. 837-844, 2007.

REPKA, T., HEBBEL, R.P.; Hydroxyl Radical Formation by Sickle Erythrocyte Membranes: Role of Pathologic Iron Deposits and Cytoplasmic Reducing Agents. **Blood: the journal of hematology**, v. 15, n. 10, p. 2753-2758, 1991.

ROY, S. K., TOMKINS, A. M., MAHALANABIS, D., AKRAMUZZAMAN, S. M., HAIDER, R., BEHRENS, R. H., FUCHS, G. Impact of zinc supplementation on persistent diarrhoea in malnourished Bangladeshi children. **Acta Paediatrica**; v. 87, n. 12, p.1235-1239, 1998.

TORRES, L. S.; SILVA, D. G. H.; BELINI JUNIOR, E.; ALMEIDA, E. A.; LOBO, C. L. C.; CANÇADO, R. D.; RUIZ, M. A.; BONINI-DOMINGOS, C. R. The influence of hydroxyurea on oxidative stress in sickle cell anemia, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34,n. 6, p.421-425, 2012.

THAKUR A. S.; KHAN, Y.; LITTARRU, G. P. TBARS level in socioeconomical poor rural sickle cell patients of Bilaspur zone of Chhattisgarh state. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 3, p 141-145, 2011.

### 5.3 Assistência ao paciente grave com doença falciforme na UTI

ARAUJO, O. M.R.; IVO, M.L.; OLIVEIRA, E. C. L. Assistência ao paciente grave com doença falciforme na UTI. In: VIANA, R. A. P. P. **Enfermagem em Terapia Intensiva – Práticas Baseadas em Evidências**, p.497-504, Atheneu, 2013.

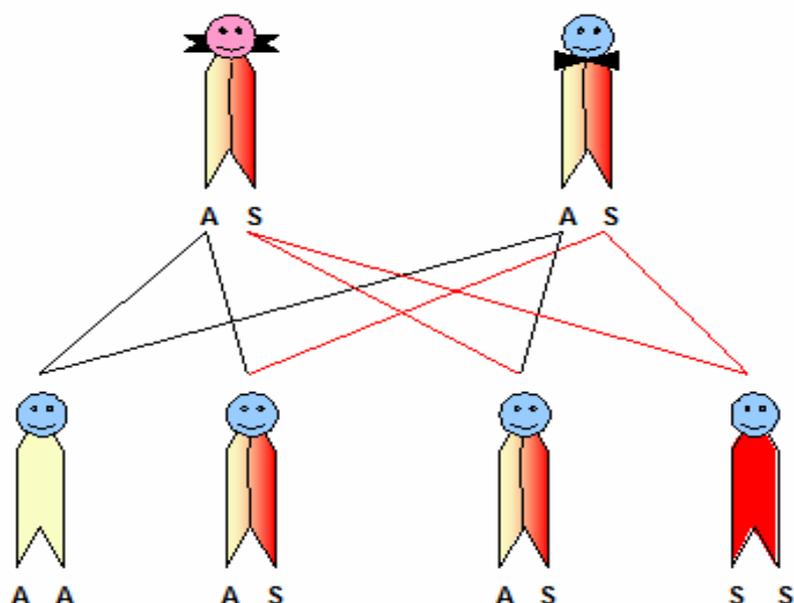
ISBN 978-85-388-0250-1

#### INTRODUÇÃO

A doença falciforme é um termo genérico atribuído a um grupo de afecção hereditária, com predomínio da hemoglobina S (Hb S) e faz parte das doenças genéticas de maior frequência na população humana. A Hb S pode ser encontrada no estado heterozigoto (traço falciforme) considerado assintomático, sem doença e no estado homozigoto (hemoglobinopatia SS, ou anemia falciforme), ou ainda em associações com outras alterações da hemoglobina S, S  $\beta$  Talassemia, hemoglobinopatia SC, SD e outras. Neste grupo, a forma mais grave da doença é a anemia falciforme <sup>1, 2, 3</sup>.

As variantes de hemoglobinas são herdadas como autossômicas codominantes e 95% delas representam substituição de um aminoácido da cadeia de globina, resultando na troca de uma única base no códon (código dos aminoácidos dados pela sequência de três bases nitrogenadas do DNA), correspondente ao gene da globina. Os padrões de herança são evidenciados pelas variantes da cadeia beta; trata-se de um único gene desta cadeia que é herdado de cada genitor <sup>4</sup>.

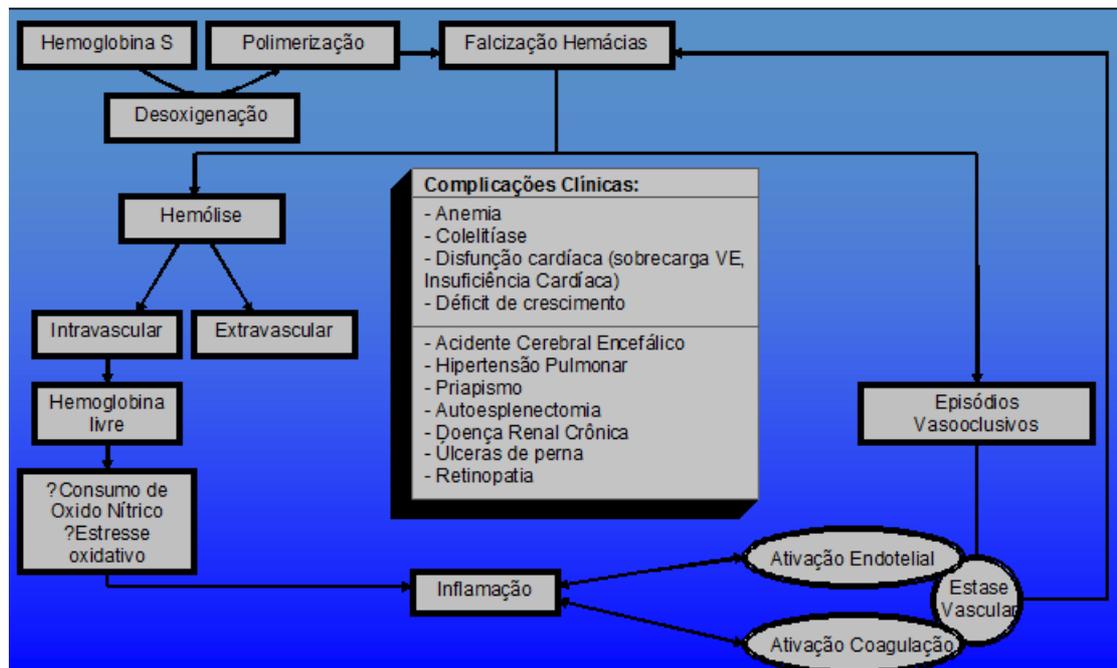
Conforme a genética Mendeliana Clássica, se ambos os genitores, são heterozigotos para a cadeia beta variante tipo S, os filhos têm 50% de probabilidade de serem heterozigotos (traço falciforme), 25% de serem normais (Hb A) e 25% de terem anemia falciforme (Hb SS)<sup>5</sup>. O esquema (Fig.1) ilustra estas probabilidades de herança genética na descendência.



**Figura 1** – Representação esquemática da transmissão do gene de hemoglobina S.

### FISIOPATOLOGIA E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A doença falciforme decorre de uma alteração de um gene estrutural levando à produção de uma hemoglobina anômala– a hemoglobina S (Hb S), ao invés da hemoglobina normal denominada hemoglobina A (Hb A). As alterações estruturais dependem da extensão do processo mutacional e dos locais em que estes ocorrem<sup>6</sup>. O processo consiste numa mutação no gene da beta globina envolvendo a troca de uma única base nitrogenada – a adenina pela timina – no códon do DNA. Disto resulta a substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da cadeia beta com consequente modificação físico-química da molécula da hemoglobina. Esta substituição culmina com um evento conhecido como falcização, que é a mudança da forma normal da hemácia para a forma de foice, resultando em alterações da reologia dos glóbulos vermelhos e da membrana eritrocitária<sup>7,8</sup>. Essas alterações moleculares que ocorrem durante o processo fisiopatológico estão esquematizadas na Figura 2.



**Figura 2-** Fisiopatologia e manifestações clínicas da anemia falciforme

De acordo com o esquema apresentado (Fig.2), a Hb S ao sofrer desoxigenação, polimeriza resultando em alterações na morfologia e função do eritrócito, que passa a exibir a forma de foice e encurtando sua vida útil, ocorrendo hemólise e vasooclusão devido a essas alterações. A hemólise reduz a meia vida do eritrócito e pode ser extravascular e intravascular. A liberação de hemoglobina no plasma decorrente da hemólise intravascular acarreta em consumo de Óxido Nítrico (NO) com redução da sua biodisponibilidade e em estresse oxidativo. O afoijamento das hemácias resulta em episódios vasooclusivos que constituem em eventos caracterizados por obstrução do fluxo sanguíneo, levando a estase vascular com consequente ativação da célula endotelial, da coagulação e indução de estado inflamatório crônico. Esses eventos estão interrelacionados e sofrem retroalimentação associada à circulação de citocinas inflamatórias<sup>9</sup>.

A ativação endotelial contribui com a indução da expressão de moléculas de adesão que propiciam a formação de agregados compostos por eritrócitos e leucócitos, reduzindo ainda mais o fluxo sanguíneo. A redução da bioviabilidade do NO promove vasoconstrição e ativação de moléculas de adesão<sup>9,10</sup>.

Esse processo fisiopatológico determina as manifestações clínicas apresentadas pelo paciente. A anemia hemolítica tende a ser grave, levando a comprometimento da função cardíaca, evidenciada por desenvolvimento de Insuficiência Cardíaca Congestiva. Verifica-se ocorrência de cálculos biliares com grande frequência, déficit de crescimento e astenia<sup>11,12</sup>. Os episódios vasooclusivos, manifestam-se pela ocorrência de crises dolorosas, priapismo, acidente vascular encefálico isquêmico, hipertensão pulmonar, doença renal crônica, retinopatia, úlcera de perna e autoesplenectomia que torna o paciente imunossuprimido, susceptível a infecções por *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonellas*, *Staphylococcus áureos* e outras bactérias com envoltório de polissacarídeos<sup>13</sup>.

#### DIAGNÓSTICO DA DOENÇA FALCIFORME

O diagnóstico da doença falciforme requer técnicas eletroforéticas, hemograma e dosagens da hemoglobina Fetal. Em casos de associação da Hb S com variantes de hemoglobinas a utilização de técnicas eletroforéticas alcalina e ácida é essencial<sup>14</sup>.

Os programas de triagem neonatal são muito utilizados em estudos populacionais<sup>15</sup>. As metodologias mais utilizadas são: por focalização isoelétrica (IEF), para detecção de hemoglobinas variantes e a cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) que fornece dados quantitativos de quase todas as hemoglobinas variantes<sup>6</sup>. Outros exames complementares podem ser necessários para o diagnóstico diferencial das diferentes formas da doença, tais como, a dosagem de Hb A2 e Hb Fetal como também a realização do estudo familiar e as técnicas moleculares<sup>8</sup>.

O diagnóstico e o tratamento precoce da doença falciforme aumentam a sobrevida e a qualidade de vida dos seus portadores, diminuindo suas sequelas e atenuando suas complicações<sup>16</sup>.

#### TERAPÊUTICA NA DOENÇA FALCIFORME

No tratamento para doença falciforme, medidas gerais e preventivas são fundamentais para minimizar as consequências da anemia crônica, crises de falcização e as infecções. Essas medidas se constituem em triagem neonatal precoce para o diagnóstico, treinamento dos cuidadores e do enfermo, para o

enfrentamento da doença e acompanhamento regular multidisciplinar com protocolos padronizados de atendimento<sup>17</sup>.

A terapêutica recomendada é a suplementação com ácido fólico (5mg/dia), profilaxia com penicilina para infecções, principalmente em crianças até cinco anos, manutenção de boa alimentação e hidratação, dentre outras. Em casos indicados são instituídas três formas de terapia: transfusão crônica, hidroxiureia (HU) e transplante de medula óssea (TMO)<sup>18</sup>.

## PRINCIPAIS COMPLICAÇÕES DO PACIENTE GRAVE COM DOENÇA FALCIFORME

### CONDUTAS E ASSISTÊNCIA

A conduta inicial em pacientes com doença falciforme deve focar o tratamento de crises álgicas e detecção de complicações que requerem terapia específica. Infecção, desidratação, Síndrome Torácica Aguda (febre, taquipnéia, dor torácica, hipóxia e sinais de Insuficiência respiratória aguda), anemia grave, eventos neurológicos (infarto ou hemorragia cerebral, ataque isquêmico transitório, convulsão) e priapismo, são complicações clínicas que indicam gravidade e necessidade de admissão hospitalar e por vezes indicação de tratamento intensivo. As crises álgicas merecem atenção especial por ser o fenômeno mais frequente das internações hospitalares<sup>19</sup>.

O paciente grave com anemia falciforme, ao ser internado em uma Unidade de Terapia Intensiva (UTI), necessita de cuidados especiais devido à suscetibilidade a novas complicações. O ideal é que desde a admissão na unidade, as condutas dos profissionais de saúde ocorram simultaneamente entre os membros da equipe.

- Crises Álgicas

A dor é resultante da obstrução dos capilares sanguíneos devido ao afoçamento das hemácias, podendo ocorrer após episódios infecciosos. Ela se manifesta de forma subjetiva, representando um fator complicante para o seu tratamento, pois já há comprovação da correlação entre a dor persistente e o maior risco de morte súbita<sup>20</sup>.

A dor sendo um quadro subjetivo deve ser sempre valorizada pela equipe de saúde. No paciente com doença falciforme apresenta-se na forma de crises agudas

com início súbito, com intensidade frequentemente intensa, podendo vivenciar dor crônica de baixa intensidade entre os episódios de crises de falcização<sup>21</sup>.

O quadro álgico pode ser desencadeado devido ao frio, infecções, acidose, altitude e outros. A manifestação clínica ocorre com maior frequência, no tórax (vértebras), abdome e nas extremidades, podendo vir acompanhado de febre e sinais flogísticos na área afetada. Os ossos mais acometidos são úmero, tíbia e fêmur, porém, enfatiza-se que o infarto ósseo pode ocorrer em qualquer parte do organismo, inclusive nos ossos da face, que poderá manifestar a oftalmoplegia e ptose palpebral<sup>20</sup>.

Compete a cada profissional da equipe multidisciplinar, realizar histórico cuidadoso enfocando aspectos referentes às informações sobre a causa que possa ter desencadeado a dor, principalmente infecções e aos medicamentos utilizados no domicílio. Ao aplicar o protocolo para tratamento da dor na UTI, a abordagem individual deve ser destacada e utilizar se possível, a escala analógica ao avaliar a intensidade desta.

Na admissão, os exames solicitados devem ser realizados imediatamente, especificamente, hemograma, reticulócitos e demais exames de acordo com a clínica do paciente. Nos casos de febre e dor torácica, torna-se imprescindível, a realização de hemocultura, Rx de tórax e oximetria de pulso, para prevenir complicações pulmonares, que é a maior causa de mortalidade<sup>20</sup>.

A abordagem farmacológica da dor é influenciada pela história individual de cada paciente e a escolha da analgesia deve seguir o nível da escada analgésica em que o paciente se apresenta. Este deve ser monitorado regularmente quanto à eficácia da analgesia e suas complicações, sendo os opióides utilizados nas dores intensas, na forma intravenosa, intramuscular ou subcutânea. Podem ser administradas de forma contínua, intermitente ou a combinação de ambos pela equipe de enfermagem ou por meio de sistema de analgesia controlada pelo paciente (PCA), que deve ser utilizado se houver protocolo local e familiarização do uso. Medicamentos adjuvantes como sedativos e ansiolíticos podem ser utilizados em pacientes agitados, não substituindo, no entanto, a analgesia adequada<sup>19</sup>.

Durante o uso de opióides, o enfermeiro juntamente com a equipe multidisciplinar, deve estar atento para os efeitos adversos. Registrar sintomas de náuseas e vômitos no início do tratamento com estes medicamentos; sinais de sobredose (sonolência e sedação) que podem antecipar a depressão respiratória e

em casos de constipação intestinal intervir com laxantes prescritos, administração de ingesta hídrica e dieta não constipante<sup>20</sup>.

- Infecção

Os pacientes falciformes possuem risco aumentado de infecções por *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae B*, *Meningococcus* e *Salmonellas*, devido asplenia funcional, defeitos de complemento e de opsonização. Antibióticos de amplo espectro devem ser utilizados em pacientes com febre ou outras razões suspeitas de infecção. A escolha depende das padronizações locais determinadas pelos serviços de Infecção hospitalar, no entanto, devem prever cobertura para os patógenos mais prováveis. A Figura 3 apresenta as principais infecções bacterianas em pacientes falciformes segundo a etiologia e idade de maior acometimento<sup>19, 22</sup>.

Patógeno	Tipo de infecção	Idade preferencial
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia	< 5 anos
	Meningite	
<i>Haemophilus influenzae b</i>	Pneumonia	< 5 anos
	Meningite	
<i>Escherichia coli</i>	Infecção urinária	> 10 anos
		principalmente > 20 anos
<i>Salmonella spp</i>	Osteomielite	Incidência aumenta com a idade
	Pneumonia	
	Abscesso esplênico	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Pneumonia	-
<i>Klebsiella spp</i>	Infecção urinária	> 10 anos
		principalmente > 20 anos

Figura 3 – Principais infecções bacterianas em pacientes falciformes segundo a etiologia e idade de maior acometimento<sup>19,22</sup>.

No adulto, em caso de febre persistente acima de 38<sup>0</sup>C, não se deve pensar somente em crise vasooclusiva, pois as infecções mais comuns são aquelas provocadas por outros patógenos encontrados na população em geral. As infecções afetam órgãos já acometidos, tais como, pulmões, rins e ossos<sup>23</sup>.

O paciente com doença falciforme, internado em UTI, deve ser prevenido às complicações pulmonares, ligadas principalmente à terapêutica respiratória, como assistência ventilatória e outros procedimentos invasivos. Considerando a UTI uma unidade de alto risco de infecção, medidas para evitar transmissão horizontal de

microrganismos e controle de infecções, associado às precauções padrão, devem ser rigidamente observadas pela equipe multidisciplinar.

- Desidratação

Os pacientes com doença falciforme, desde a infância desenvolvem alteração renal caracterizada por hipostenúria o que propicia maior tendência a desidratação. A desidratação aumenta a viscosidade sanguínea e acarreta acidose, facilitando a falcização. Assim, a instalação de hidratação venosa é indicada para equilíbrio hídrico e infusão de medicação analgésica. Portanto, o balanço hídrico deve ser monitorado em todos os pacientes, a fim de prevenir a hiper-hidratação, devido o risco da sobrecarga cardíaca<sup>19, 20</sup>.

O aporte hídrico recomendado é SGI/FS na proporção 4:1. A solução fisiológica como hidratante único não é indicada, devido ao aumento do volume plasmático, resultando em complicações, como a sobrecarga volêmica e também o aumento da osmolaridade plasmática, levando a desidratação e conseqüentemente, a falcização<sup>23</sup>.

- Síndrome Torácica Aguda (STA)

Denomina-se STA, o acometimento pulmonar agudo, acompanhado de tosse, febre, prostração e dor torácica, com alterações radiológicas, apresentado condensações lobulares. É uma complicação grave, principal causa de morte em portadores de doença falciforme com fisiopatologia ainda indefinida. Seu quadro clínico se assemelha a Pneumonia, podendo estar associado a esta e a embolia pulmonar<sup>22,23</sup>.

Seu manejo deve ser agressivo com instituição imediata de antibioticoterapia empírica (para Chlamydia ou Mycoplasma), oxigenoterapia, reposição adequada de fluidos, evitando-se sobrecarga hídrica e edema pulmonar. Para prevenção de atelectasias e controle da dor a fisioterapia respiratória deve ser instituída. A redução da concentração de Hb S é feita por meio de hemotransfusão e /ou exsanguíneo- transfusão<sup>22</sup>.

Em relação aos exames solicitados, além dos indicados para as crises álgicas, deve ser realizada a gasometria arterial. Em caso de hipóxia ( $\text{PaO}_2 < 70$  mmHg), a oxigenoterapia é indicada e de acordo com a clínica do paciente, podendo ainda ser instituída a intubação endotraqueal e ventilação mecânica. Quanto a

terapia analgésica, a equipe multiprofissional deve estar alerta ao risco de depressão respiratória, hipofunção e atelectasia nestes pacientes<sup>23</sup>.

- Anemia Grave

A transfusão sanguínea objetiva não apenas a correção das concentrações de hemoglobina e hematócrito do paciente, ela diminui a Hb S por diluição e supressão relativa da eritropoiese, reduzindo efeitos decorrentes da anemia e evitando complicações da falcização. Deve-se considerar a necessidade desses efeitos sem incorrer no aumento excessivo da viscosidade sanguínea, não devendo alcançar concentrações de Hb superior a 11g/dL. Pacientes com anemia falciforme podem ter exacerbação da anemia devido, sequestro esplênico e crise aplástica pelo parvovirus B 19, no entanto, transfusões sanguíneas são indicadas no tratamento dos acidente vascular cerebral, síndrome torácica aguda, preparo pré-operatório, hipertensão pulmonar, insuficiência cardíaca congestiva, priapismo e gestação. Os hemocomponentes devem ser selecionados, recomenda-se o uso de componentes leucorreduzidas e fenotipados para grupos sanguíneos ABO, Rh (C,D, E, c, e) e Kell<sup>24</sup>.

Como a maior parte do volume de oxigênio é transportada para os tecidos em combinação com a hemoglobina, na anemia grave, o conteúdo de oxigênio é reduzido. Para prevenção de hipoxemia, a gasometria arterial e oxigenoterapia devem ser instituídas, impondo observação e assistência intensiva em relação a esta complicação<sup>2</sup>.

Compete ainda à equipe multiprofissional, estar atenta em relação a utilização de filtros para leucócitos durante as transfusões, prevenir a hipervolemia e a hemossiderose (nível de ferritina não deve ultrapassar a 1.500µg/ml). Neste caso atentar para a terapia quelante com desferroxamina<sup>23</sup>.

- Eventos Neurológicos

Vários quadros neurológicos são descritos na anemia falciforme (coma, convulsões, cefaléias, paralisia de nervos cranianos e múltiplos aneurismas cerebrais. Os acidentes cerebrovasculares são uma das complicações mais graves da anemia falciforme, ocorrendo por obstrução de grandes vasos como: carótidas e artéria cerebral média. A incidência de acidente cerebrovascular isquêmico é maior em crianças e pacientes mais velhos, enquanto que o acidente vascular hemorrágico é mais incidente de 20 a 29 anos<sup>25</sup>.

No tratamento do episódio agudo deve se realizar uma avaliação neurológica imediata com monitoramento cuidadoso do processo e desenvolvimento dos sintomas neurológicos. Considerar para esta avaliação, um perfil ou padrão neurológico (nível de consciência/orientação/respostas relacionadas aos pares de nervos cranianos, avaliação sensorial, motora, reflexos e sinais vitais. As manifestações são focais, podendo incluir, hemiparesia, hemiplegia, déficit no campo visual e afasia<sup>2</sup>. A solicitação da tomografia computadorizada do crânio e ressonância magnética se disponível, é imprescindível. O tratamento tem a finalidade de interromper a evolução da doença, através da redução da HbS para menos de 30%. Iniciar a exsanguíneo- transfusão e estabelecer o regime de transfusão nos pacientes com hemorragia subaracnóidea. Impõe-se à equipe multiprofissional, observação e a assistência intensiva durante estes tratamentos<sup>22</sup>.

- Priapismo

Ereção peniana involuntária de etiologia desconhecida se apresentando em três formas clínicas<sup>23</sup>:

- Ereção dolorosa curta, reversível, repetitiva, com entumescimento que ocorre no espaço de horas. Não prejudica a função sexual, desde que os episódios sejam resolvidos.
- Ereção dolorosa prolongada, que não desintumesce no espaço de horas. Pode durar dias e semanas e poderá trazer impotência parcial ou completa.
- Ereção persistente, indolor do pênis, com endurecimento que pode persistir por semana a anos. Ocorre após um ataque demorado sendo associado a impotência completa ou parcial

No priapismo agudo e prolongado, o tratamento inclui hidratação endovenosa rigorosa, uso de analgésicos potentes e se necessário, realizar sondagem vesical para promover o esvaziamento da bexiga. Reduzir Hb S para menos de 30%, por meio de exsanguíneo- transfusão, enquanto mantem o hematócrito abaixo d 45%, por meio de transfusão após seis horas do início do evento. Compete a equipe multiprofissional, observação e a assistência intensiva durante estes tratamentos e uma postura profissional e ética, respeitando sua privacidade para evitar constrangimentos<sup>23, 2</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para uma conduta e assistência eficaz em Unidade de Terapia Intensiva (UTI), a portadores de doença falciforme, impõe a formação de uma equipe multidisciplinar em saúde, constituídos por enfermeiros, médicos, assistentes sociais, fisioterapeutas, psicólogos e nutricionistas. É imprescindível que o enfermeiro como profissional atuante desta equipe, tenha conhecimento dos princípios fisiopatológicos básicos do paciente grave com doença falciforme para intervir de forma adequada. Além disso, sugere-se a aplicação de uma metodologia sistematizada no atendimento das necessidades deste paciente, privilegiando uma abordagem individual e que respeite a sua singularidade.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- 1- Naoum, PC, Naoum, FA. Doença das células falciformes, São Paulo: Savier, 2004.
- 2- Ivo, ML. Modelo de adaptação de Roy e a sua aplicação através do processo de enfermagem, a portadores de anemia falciforme. Campo Grande, MS, Ed. UFMS, 2007.
- 3- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de educação em saúde. Linha do cuidado em doença falciforme. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada, 2 v. Brasília: 2009.
- 4- Jandl, JH. Abnormal hemoglobins and hemoglobinopathies. In: Jandl, JH. Blood: pathophysiology. Boston, Blackwell Scientific: 182- 95, 1991.
- 5- Ivo, ML, Carvalho, EC. Modos adaptativos e o paciente portador de síndrome falciforme. In: Ivo, ML, Nunes CB, Zaleski, EGF, Barbosa, MAM, Pádua, ARP. Dimensões do processo de cuidar em enfermagem. Campo Grande- MS, Ed. UFMS: 281- 322, 2004.
- 6- Zamaro, PJA, Bonini-Domingos, CR. Hemoglobinas variantes. Contribuição para o estudo dos defeitos moleculares da hemoglobina humana na população brasileira. São José do Rio Preto- SP, Editora HN, 2010.
- 7- Gualandro, SFM. Fisiopatologia das doenças falciformes. In: Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 12-19, 2001.
- 8- Ferraz, MH, Murao, M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. Rev. bras. hematol. hemoter., 29 (3): 218-222, 2007.

- 9- Conran, N, Franco- Pentead, CF, Costa, FF. Newer aspects of the pathophysiology of sickle cell disease vaso- occlusion. *Hemoglobin.*, 33 (1): 1-16, 2009.
- 10- Zago, MA, Pinto, ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev. bras. hematol. hemoter.*; 29 (3): 207-214, 2007.
- 11- Carneiro, J, Murad, Y. Crescimento e desenvolvimento. In: Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 77-82, 2001.
- 12- Costa, FF. Síndrome hemolítica. Fisiopatologia e clínica. Classificação. In: Zago, MA, Falcão, RP, Pasquini,R. *Hematologia Fundamentos e prática*, 1 ed. São Paulo, Atheneu: cap. 25, 241- 268, 2004.
- 13- Costa, FF. Anemia falciforme. In: Zago, MA, Falcão, RP, Pasquini,R. *Hematologia Fundamentos e prática*, 1 ed. São Paulo, Atheneu: cap. 30, 289- 307, 2004.
- 14- Bonini-Domingos, CR. Diagnóstico laboratorial das doenças falciformes em neonatos e após sexto mês de vida. In: Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 19-27, 2001.
- 15- Brasil, Ministério da Saúde. Portaria GM/MS nº 822, de 06 de junho de 2001. Institui, no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Triagem Neonatal/PNTN. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, p.33, col. 2, 7 jun. 2001.
- 16- Holsbach, DR, Salazar, EAVM, Ivo, ML, Araujo, OMR, Sakamoto, TM. Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007. *Acta Paul Enferm.*; 23(1): 119- 124, 2010.
- 17- Braga, JAP. Medidas gerais no tratamento das doenças falciformes. *Rev. bras.hematol. hemoter.* 29 (3): 233-238, 2007.
- 18- Saad,STO. Medidas gerais para tratamento das doenças falciformes. In: Manual de diagnóstico e tratamento da doença falciforme. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, 41- 51, 2001.
- 19- Rees, DC, Olujongbe, AD, Parker, NE, Stephens, AD, Telfer, P, Wright, J. Guidelines for the management of the acute painful crisis in sickle cell disease. *British journal of haematology*,120: 744-752, 2003.
- 20- Lobo,C, Marra, VN, Silva, RMG. Crises dolorosas na doença falciforme. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 29 (3): 247-258,2007.
- 21- Patt, RB, Ellison, NM. Pain Management. In: Beutler, E, Lichtman, MA, Coller, BS, Kipps, TJ, Seligsohn, U. *Williams Hematology*, 6<sup>th</sup>.McGraw-Hill: 261-268, 2001.

22- Vicari,P, Figueiredo, MS. Síndromes falciformes. In: Figueiredo, MS Kerbauy, J, Lourenço, DM. Guias de medicina ambulatorial e hospitalar da UNIFESP- EPM Hematologia, 1 ed.,São Paulo, Manole: 115-124, 2011.

23- Carache, S, Lubin, B, Reid, CD. Management and Therapy of sickle cell disease. Maryland, National Institutes of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute, NIH, Publication n. 95-2117, 1995

24- Gilli, SCO, Paula, EVD, Saad, STO, Costa, FC. Transfusão em anemia falciforme e talassemia. In: Junqueira, PC, Hamerschlak, N, Rosenblit, J. Hemoterapia Clínica, 1ed. São Paulo, Roca: 187-216, 2009.

25- Beutler, E. The Sickle cell diseases and related disorders. In: Beutler, E, Lichtman, MA, Coller, BS, Kipps, TJ, Seligsohn, U. Williams Hematology, 6<sup>th</sup>.McGraw-Hill: 581- 605, 2001.

## 6 CONCLUSÃO

Os achados clínicos da Doença Falciforme variam conforme a idade do indivíduo, iniciando frequentemente após o sexto mês de vida com a redução progressiva da hemoglobina fetal. Na infância apresenta-se com dactilite, AVE isquêmico, aplasia de medula, sequestro esplênico e infecção. Na fase adulta, são comuns a necrose avascular, o AVE hemorrágico, a retinopatia, cirrose, doença renal e doença pulmonar. Os eventos agudos mais graves e frequentes são graves e, podem necessitar de tratamento em UTI. A gravidade varia conforme os diferentes haplótipos e as concentrações de HbS e HbF. Está presente na doença a anemia associada a aumento de reticulócitos, bilirrubina indireta e desidrogenase láctica. Invariavelmente, ocorre aumento de ferritina e ferro sérico devido transfusões sanguíneas recorrentes.

Na Doença Falciforme ocorre estresse oxidativo demonstrado pelo aumento de TBARS. Há redução estatisticamente significativa de zinco em relação ao grupo controle. Não houve correlação entre valores de zinco e TBARS, nem entre TBARS e idade e sexo. No entanto, mais anos de vida, maiores foram os valores de zinco com correlação moderada.

A correlação entre TBARS e HbF mostra que quanto menor a HbF maior é o estresse oxidativo

## REFERÊNCIAS

AGARWAL, A., GUINDO, A., CISSOKO, Y., TAYLOR, J. G., COULIBALY, D., KONÉ, A., KAYENTAO, K., DJIMDE, A., PLOWE, C. V., DOUMBO, O., WELLEMS, T. E., DIALLO, D. Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. **Blood**; n. 96, v. 7, p. 2358-2363, 2000.

ALSULTAN, A. I.; SEIF, M. A.; AMIN, T. T.; NABOLI, M.; ALSULIMA; A. M. Relationship between oxidative stress, ferritin and insulin resistance in sickle cell disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, v.14, p. 527-538, 2010.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R./ BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, ago. 2010.

BAO, B.; PRASAD, A. S.; BECK, F. W.; SNELL, D.; SUNEJA, A.; SARKAR, F. H.; DOSHI, N.; FITZGERALD, J. T.; SWERDLOW, P. Zinc supplementation decreases oxidative stress, incidence of infection, and generation of inflammatory cytokines in sickle cell disease patients. **Translational Research**, v. 152, n. 2, p 67-80, 2008.

BONNEFONT, D.; LEGRAND, A.; PEYNET, J.; EMERIT, J.; DELATTRE, J.; GALLI A. Distribution of thiobarbituric acid-reactive substances in lipoproteins and proteins in serum. **Clinical Chemistry**, v.35, p. 2054-2058, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados. **Doença falciforme: diretrizes básicas da linha de cuidado / Sickle cell disease: the foundation of basic care. Livrotab., Brasília; Ministério da Saúde; 80 p, 2015.**

BRASIL, Portaria nº 822 de 06 de junho de 2001. **Institui o Programa Nacional de Triagem Neonatal - PNTN**. Diário Oficial da União, 07 jun. 2001, Seção I.

BRASIL, Portaria 2.695 de 23 de dezembro de 2004. **Institui o Projeto Piloto do Programa Nacional de Atenção Integral aos Portadores de Hemoglobinopatias, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 24 dez. 2004, Seção I.

BRASIL, Portaria 2.695 de 23 de dezembro de 2004. **Institui o Projeto Piloto do Programa Nacional de Atenção Integral aos Portadores de Hemoglobinopatias, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 24 dez. 2004, Seção I.

BRASIL, Portaria nº 1018 de 01 de julho de 2005. **Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Atenção Integral as Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias**. Diário Oficial da União, 02 jul. 2005, Seção I.

BHATNAGAR, S., WADHWA, N., ANEJA, S., LODHA, R., KABRA, S. K., NATCHU, U. C., SOMMERFELT, H., DUTTA, A. K., CHANDRA, J., RATH, B., SHARMA, M., SHARMA, V. K., KUMARI, M., STRAND, T. A. Zinc as adjunct treatment in infants aged between 7 and 120 days with probable serious bacterial infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 379, n. 9831, p. 2072-2078, 2012.

BROWN, K. H., RIVERA, J. A. BHUTTA Z, GIBSON RS, KING JC, LÖNNERDAL B, RUEL MT, SANDTRÖM B, WASANTWISUT E, HOTZ C. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document: Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 25, s. 2, p. S99-S203, 2004.

BUNN H. F, Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 337, n. 11, p. 762-769, 1997.

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

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p 204-206, 2007.

CANTÚ I.; PHILIPSEN, S. Flicking The Switch: Adult Hemoglobin Expression In Erythroid Cells Derived From Cord Blood And Human Induced Pluripotent Stem Cells. **Haematologica**, v. 99, p. 1647-1649, 2014.

CHARACHE, S. Mechanism of action of hydroxyurea in the management of sickle cell anemia in adults. **Seminars in Hematology**, v. 34, p. 15–21.

CHO, C. S. ; KATO, G. J. ; YANG, S. H.; BAE, S. W.; LEE, J. S. ; GLADWIN, M. T.; RHEE, S. G. Hydroxyurea-induced expression of glutathione peroxidase 1 in red blood cells of individuals with sickle cell anemia. **Antioxidant and Redox Signaling**, v. 13, n. 1,p 1-11, jul, 2010.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; COLOMBO, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.

DASGUPTA, T.; FABRY, M. E.; KAUL, D. K. Antisickling property of fetal hemoglobin enhances nitric oxide bioavailability and ameliorates organ oxidative stress in transgenic-knockout sickle mice. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, n. 2, p. 394-402, 2010.

EATON, W. A., HOFRICHTER, J. Sickle cell hemoglobin polymerization. **Advances in Protein Chemistry**; Amsterdã, v. 40, p. 63-279, 1990.

EL-SAADANI, M.; ESTERBAUER, H.; EL-SAYED, M.; NASSAR, Y.; JIIRGENS, G. A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent. **Journal of Lipid Research**, v. 30, p. 627-630,1989.

FABRY M. E., KAUL D. K., RAVENTOS-SUAREZ C., CHANG, H., NAGEL, R. L., SC erythrocytes have an abnormally high intracellular hemoglobin concentration. Pathophysiological consequences. **The Journal of Clinical Investigation**, n. 70, v. 6, p. 1315-1319, 1982.

FELIZ, A. A., SOUZA, H. M., RIBEIRO, S. B. F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 3, p.203-208, 2010.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, mar. 1997.

GLADWIN, M. T.; SHELHAMER, J. H.; OGNIBENE, F.P.; PEASE-FYE, M. E.; NICHOLS, J. S.; LINK, B.; PATEL, D. B.; JANKOWSKI, M.A.; PANNELL, L. K.; SCHECHTER, A. N.; RODGERS, G. P. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 116,n. 2, p. 436–444, 2002.

HARDISON, R. C., CHUI, D. H., RIEMER, C., GIARDINE, B., LEHVÄSLAIHO, H., WAJCMAN, H., MILLER, W. Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server. **Hemoglobin**; v. 25, p.183-193, 2001.

HAMBIDGE, M., Human Zinc Deficiency. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1344S-1349S, 2000.

HASANATO, R. M. W. Zinc and antioxidant vitamin deficiency in patients with severe sickle cell anemia. **Annals of Saudi Medicine**, v. 26, n.1, p. 17-21, 2006.

HEBBEL, R. P. Pathobiology of Sickle Cell Disease. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013, p.536-547.

HIRSCH, R. E., RAVENTOS-SUAREZ, C., OLSON J. A., NAGEL R. L. Ligand state of intraerythrocytic circulating hbc crystals in homozygote cc patients. **Blood**. n. 66, v 4, p. 775-777, 1985.

HOVING, E. B.; LAING, C.; RUTGERS, H. M.; TEELER, M.; van DOORMAAL, J. J.; MUSKIET, F. A. J. Optimized determination of malondialdehyde in plasmalipid extracts using 1,3-diethyl-2-thiobarbituric acid: influence of detection method and relations with lipids and fatty acids in plasma from healthy adults. **Clinica Chimica Acta**, v.208, p. 63-76, 1992.

HYACINTH, H. I.; GEE, B. E.; HIBBERT, J. M. The Role of Nutrition in Sickle Cell Disease. **Nutrition and Metabolic Insights**,.v.3, p. 57-67, 2010.

ITALIA, K.; COLAH, R.; GHOSH K.; Hydroxyurea Could Be a Good Clinically Relevant Iron Chelator. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12,: e82928. doi:10.1371/journal.pone.0082928, jul, 2013.

KING J. C., COUSINS R. J. Zinc. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; p. 271-285, 2006.

KNIGHT, J. A.; SMITH, S. E.; KINDER, V. E.; ANSTALL, H. B. Reference intervals for plasma lipoperoxides: age-, sex-, and specimen-related variations. **Clinical Chemistry**, v. 33, p. 2289-2291, 1987.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, dez. 2003.

LEFÈVRE, G.; BELJEAN-LEYMARIE, M.; BEYERLE, F.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; CRISTOL, J. P.; THÉRON, P.; TORREILLES, J. Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances. **Annales de Biologie Clinique**, v. 56, n. 3, p. 305-319, 1998.

LEONARD, M. B.; ZEMEL, B. S.; KAWCHAK, D. A.; OHENE-FREMPONG, K.; VIRGINIA, V. Plasma zinc status, growth, and maturation in children with sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, v.132, n. 3, p. 467-471, 1998.

LONDERO D.; GRECO, P.L. Automated high-performance liquid chromatographic separation with spectrofluorometric detection of a malondialdehydethiobarbituric acid adduct in plasma. **Journal of Chromatography A**, v.729, p.207-210, 1996.

MACLEAN, K.H., CLEVELAND J.L., PORTER J.B., Cellular zinc content is a major determinant of iron chelator-induced apoptosis of thymocytes. **Blood: the journal of hematology**, New York, v. 98, n. 13, p. 3831-3839, 2001.

MAIER-REDELSPERGER, M.; DE MONTALEMBERT, M.; FLAHAULT, A.; NEONATO, M. G.; DUCROCQ, R.; MASSON, M. P.; GIROT, R.; ELION, J. Fetal hemoglobin and F-cell responses to long-term hydroxyurea treatment in young sickle cell patients. The French Study Group on Sickle Cell Disease. **Blood**, v. 91, n. 12, p. 4472-4479, 1998.

MAO, J.; ZHANG, H.; LUO, J.; LI, L.; ZHAO, R.; ZHANG, R.; LIU, G. New method for HPLC separation and fluorescence detection of malonaldehyde in normal human plasma. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.832, n.1, p.103-108, 2006.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. Anatomia e Fisiologia. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008

NAGEL, R. L., JOHNSON, J., BOOKCHIN, R. M., GAREL, M. C., ROSA, J., SCHILIRO, G., WAJCMAN, H., LABIE, D., MOO-PENN, W., CASTRO, O. Beta-chain contact sites in the haemoglobin S polymer. **Nature**, Nova York, v. 283, n. 5750, p. 283-287, 1980.

NARKEWICZ MR, KREBS N, KARRER F, ORBAN-ELLER, K., SOKOL, R. Correction of hypozincemia following liver transplantation in children is associated with reduced urinary zinc loss. **Hepatology**; v. 29, n 3, p. 830-833, 1999.

NASSER, A. L. M.; DOURADO, G. K.; MANJATE, D. A.; CARLOS, I. Z.; CESAR, T. B. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Revista de Ciências Farmacológicas Básicas e Aplicadas**, v. 32, n. 2p. 275-279, 2011.

NUR, E., BIEMOND, B. J., OTTEN, H. M., BRANSJES, D. P., SHONOG, J. J. B. Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. **American Journal of Hematology**, New York, v. 86, n. 6, p. 484-489, 2011.

PERCÁRIO S., VITAL A.C.C., JABLONKA F. **Dosagem do malondialdeído**. Newslab. v. 2, n. 6, p. 46-50, 1994.

PERUTZ, M. F. Molecular anatomy, physiology, and pathology of hemoglobin. In: **The Molecular Basis of Blood Disorders**, Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, et al. (Eds), WB Saunders: Philadelphia 1987. p.127.

PILZ, J.; MEINEKE, I.; GLEITER, C. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by highperformance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.742, p.315-325, 2000.

PLATT, O. S.; ORKIN, S. H.; DOVER, G.; BEARDSLEY, G. P.; MILLER, B; NATHAN, D. G. Hydroxyurea enhances fetal hemoglobin production in sickle cell anemia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 74, n. 2, p 652-656, 1984.

PRASAD, A. S. J. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. v. 26, n. 2-3, p. 66-69, 2012.

PRASAD, A.S., BECK, F. W., BAO, B., FITZGERALD, J. T., SNELL, D. C., STEINBERG, J. .D, CARDOZO, L. J. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 85, n.83, p. 837-844, 2007.

PRASAD, A. S. Zinc deficiency in patients with sickle cell disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 2, p 181-182, 2002

PRASAD, A. S. Clinical manifestations of zinc deficiency. **Annual Revision of Nutrition**, v.5, p 341-363, 1985.

PRASAD, A. S., HALSTED, J. A., NADIMI, M. Nutrition Classics – The American Journal of Medicine: Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. **Nutrition Review**, v. 41, n. 7, p. 220-223, jul. 1983

PRASAD, A. S.; SCHOOMAKER, E.B.; ORTEGA, J.; BREWER, G. J.; OBERLEAS, D.; OELSHLEGEL JR, F.J. Zinc Deficiency in Sickle Cell Disease. **Clinical chemistry**, v. 21, n. 4,1975.

POWELL, S. R.; The Antioxidant Properties of Zinc. **Journal of Nutrition**. v. 130, n. 5, p.1447S-1454S, 2000.

POWARS, D. R.; WEISS, J. N.; CHAN, L. S.; SCHROEDER, W. A. Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle cell anemia? **Blood**, v. 63, n. 4, p. 921-926, 1984.

RANNEY, H. M., SHARMA, V. Structure and function of hemoglobin. In: BEUTLER, E., LICHTMAN, M. A., COLLER, B.S., KIPPS, SELINSOHN, U. **Williams Hematology**. 6 ed. New York: MacGraw-Hill; 2001. p. 345-353.

REPKA, T., HEBBEL, R.P.; Hydroxyl Radical Formation by Sickle Erythrocyte Membranes: Role of Pathologic Iron Deposits and Cytoplasmic Reducing Agents. **Blood: the journal of hematology**, v. 15, n. 10, p. 2753-2758,1991.

RICHARD, M. J; GUIRAUD, P.; MEO, J.; FAVIER, A. High-performance liquid chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in biological materials (plasma and human cells) using a commercially available reagent. **Journal of Chromatography**, v.557, p. 9-18, 1992.

RINK, L., KIRCHNER H.; Zinc-Altered Immune Function and Cytokine Production. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1407S-1411S, 2000.

RODGERS, G. P.; DOVER, G. J.; UYESAKA, N.; NOGUCHI, C. T.; SCHECHTER, A. N.; NIENHUIS, A. W. Hematologic responses of patients with sickle cell disease to treatment with hydroxyurea. **New England Journal of Medicine**, v. 322, p.1037-1045, 1990.

ROY, S. K., TOMKINS, A. M., MAHALANABIS, D., AKRAMUZZAMAN, S. M., HAIDER, R., BEHRENS, R. H., FUCHS, G. Impact of zinc supplementation on persistent diarrhoea in malnourished Bangladeshi children. **Acta Paediatrica**; v. 87, n. 12, p.1235-1239, 1998.

RUND, D., RACHMILEWITZ E., B- Talassemia. **New England Journal of Medicine**, Boston, v.353, n. 11, p.1135-1146, 2005.

SAUNTHARARAJAH, Y., VICHINSKY, E. P. Sickle Cell Disease: Clinical Features and Management. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013. p. 548-572.

SENA, K. C. M.; PEDROSA L. F. C.; Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 251-259, 2005.

SILVA, D. G.; BELINI JUNIOR, E.; CARROCINI, G. C.; TORRES, L.; RICCI JÚNIOR, O.; LOBO, C. L; BONINI-DOMINGOS, C. R.; ALMEIDA, E. A. Genetic and biochemical markers of hydroxyurea therapeutic response in sickle cell anemia. **BMC Medical Genetics**, v. 14, n.108, 2013.

SIM, A. S.; SALONIKAS, C.; NAIDOO, D.; WILCKEN, D. E. L. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.785, p.337-344, 2003.

STEINBERG, M.H., BENZ, E. J., ADEWOYE, A. H., EBERT, B. L. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013. p.406-417.

STEGHENS, J.P.; KAPPEL, A.L.V.; DENIS, I.;COLLOMBEL, C. Diaminonaphtalene, a new highly specific reagent for HPLC-UV measurement of total and free malondialdehyde in human plasma or serum. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.2, p.242-249, 2001.

THAKUR A. S.; KHAN, Y.; LITTARRU, G. P. TBARS level in socioeconomical poor rural sickle cell patients of Bilaspur zone of Chhattisgarh state. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 3, p 141-145, 2011.

TORRES, L. S.; SILVA, D. G. H.; BELINI JUNIOR, E.; ALMEIDA, E. A.; LOBO, C. L. C.; CANÇADO, R. D.; RUIZ, M. A.; BONINI-DOMINGOS, C. R. The influence of hydroxyurea on oxidative stress in sickle cell anemia, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34,n. 6, p.421-425, 2012

UNDERWOOD, E. J. **Trace elements in human and animal nutrition**. 4 ed. Elsevier Science & Technology, New York. 1977

WALSH, C.T.; SANDSTEAD, H. H.; PRASAD, A. S.; NEWBERNE, P. M.; FRAKER, P. J. Zinc: Health Effects and Research Priorities for the 1990s. **Environmental Health Perspective**, Triangle Park, v. 120, n. 2, p. 5-46, 1994.

WASOWICZ, W.; NÈVE, J.; PERETZ, A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. **Clinical Chemistry**, v. 39, n12, p. 2522-2526, dec., 1993.

WEBER, G. F. **Molecular Therapies of Cancer**. Ohio. Springer, 2015, p. 102.

WINTER, W. P. **A Brief History of Sickle Cell Disease** [on line]. [acesso em 21 de abril de 2010]. Disponível em: <http://www.sicklecell.howard.edu/ABriefHistoryofSickleCellDisease.htm>

YAGI, K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. **Biochemichal Medicine**, n.15, p.212-216, 1976.

ZAGO, M.A., COSTA, F.F. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v, 79, n. 3, p. 385-388, 1985.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática.**  
- São Paulo: Editora Atheneu, 2004

ZEMEL, B. S.; KAWCHAK, D. A.; FUNG, E. B.; OHENE-FREMPONG, K.;  
STALLINGS, V. A. Effect of zinc supplementation on growth and body composition in  
children with sickle cell disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 75, p. 300-  
307, 2002.

## APÊNDICES

## **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

### **Pesquisa: Estresse oxidativo, inflamação e efetividade da suplementação de zinco em pacientes com sobrecarga de ferro associada à doença falciforme e talassemia.**

Nós estamos lhe convidando a participar de nossa pesquisa sobre Doença Falciforme e Talassemia. Quem decide se quer participar ou não é você. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte aos responsáveis pela pesquisa qualquer dúvida que você tiver. Esta pesquisa é conduzida por Éveny Cristine Luna de Oliveira.

**Porque faremos esta pesquisa?** Sabemos que indivíduos com Doença Falciforme e Talassemia têm de zinco diminuído e ferro aumentado no corpo o que interfere em vários aspectos da sua saúde. Queremos avaliar como se apresentam esses aspectos em alguns pacientes e verificar quais são os efeitos da reposição de zinco sobre os sintomas dessas doenças.

**Quem está sendo chamado a participar da pesquisa?** Estimamos que participem deste estudo em torno de 160 pessoas voluntárias que não estejam fazendo uso de suplementos vitamínicos que contenham zinco, que não possuam câncer ou reumatismo e que tenham diagnóstico confirmado e estejam em tratamento regular para Doença Falciforme e/ou Talassemia no Hospital Universitário ou no Hospital Regional.

**O que solicitaremos à você?** 1°. Que você seja avaliado(a) seis vezes durante o período da pesquisa; 2°. Que lhe seja coletado sangue de veia (30 ml) e urina, a cada avaliação, para realizar os exames de estudo do zinco, sendo que não será realizado nenhum estudo genético ou armazenamento desse material para pesquisas futuras; 3°. Que você tome duas doses ao dia de um medicamento contendo zinco ou um medicamento que não contenha zinco (placebo), a escolha pelo tipo de medicamento disponibilizado para você ocorrerá através de sorteio simples, sendo que apenas saberemos se você tomou zinco ou placebo quando terminar a pesquisa; 4°. Que nos seja autorizado estudar seu prontuário médico para verificar resultados de exames.

**Quanto tempo levará a pesquisa?** No máximo dez meses. Mas você estará livre para deixar a pesquisa quando quiser sem que haja nenhum prejuízo para seu

atendimento/tratamento. Se for verificado efeito superior do zinco em relação ao uso do placebo a pesquisa será interrompida para estender os benefícios a todos os pacientes.

**Que benefícios eu vou ter?** Podem ocorrer ou não benefícios decorrentes do uso do zinco como, por exemplo, melhora do apetite, redução das internações, redução das dores, que poderemos informar melhor após a realização deste estudo. Será possível saber se você tem valores de zinco e cobre baixos ou altos e, caso alguma alteração nos exames seja detectada, realizaremos um relatório para que a alteração seja informada ao médico que o(a) acompanha. No caso de necessidade de comparecimento ao hospital em dias que não coincidam com os dias de consulta regular, se houver solicitação, compensaremos o gasto com transporte público urbano para o(a) paciente e um(a) acompanhante.

**Que prejuízos ou efeitos adversos podem ocorrer comigo?** Você não terá prejuízos com essa pesquisa. Possíveis eventos indesejáveis pelo uso do zinco são raros, mas devem ser informados ao pesquisador por telefone ou no dia da consulta para avaliação clínica e conduta. Em caso de evento indesejável será preenchido relatório específico para encaminhamento às autoridades sanitárias e ao Comitê de Ética para documentação legal do fato. Podem ocorrer: enjoo, dor no estômago, azia e, mais raramente, febre, dor de garganta, aftas e fraqueza. Em decorrência da coleta de sangue da veia, pode haver desconforto leve e surgimento de alguma mancha roxa no local se não houver cuidados pós-coleta.

**Quem poderá ver meus registros?** Para realização da pesquisa será necessário checar alguns dados no seu prontuário, porém sua identidade será mantida em sigilo. A menos que requerido por lei, somente a pesquisadora, os médicos hematologistas que o assistem, o Comitê de Ética e os inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) poderão ter acesso a informações individuais.

**Em caso de dúvida, a quem devo chamar?** Para perguntas referentes à pesquisa ligue para: Évely Cristine Luna de Oliveira (67) 9912-1376. Para perguntas sobre seus direitos como participante voluntário da pesquisa ligue para o Comitê de Ética da UFMS, telefone: (67) 3345-7187, ou para o Hospital Regional de Mato Grosso do

Sul - HRMS na Diretoria de Ensino, Pesquisa e Qualidade Institucional, Comissão de Ética em Pesquisa, telefone: (67) 3378-2909 e 3378-2766.

Declaro que li e entendi este formulário de consentimento e que todas as minhas dúvidas foram esclarecidas, aceitando ser voluntário e tomar parte nesta pesquisa.



**Assinatura ou impressão dactiloscópica do voluntário:**

Assinatura: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Telefone fixo: \_\_\_\_\_ Telefone celular: \_\_\_\_\_

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

\_\_\_\_\_  
**Assinatura do(a) pesquisador(a) responsável**

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

## Sobrevida e mortalidade em usuários e não usuários de hidroxiureia com doença falciforme

Olinda Maria Rodrigues de Araujo<sup>1</sup>  
Maria Lúcia Ivo<sup>2</sup>  
Marcos Antonio Ferreira Júnior<sup>3</sup>  
Elenir Rose Jardim Cury Pontes<sup>2</sup>  
Ieda Maria Gonçalves Pacce Bispo<sup>4</sup>  
Eveny Cristine Luna de Oliveira<sup>5</sup>

**Objetivo:** estimar a sobrevida, mortalidade e causa de morte em usuários ou não de hidroxiureia com doença falciforme. **Método:** coorte retrospectiva de 1980 a 2010, de pacientes internados em dois hospitais públicos brasileiros. Determinou-se a probabilidade de sobrevida com Kaplan-Meier, cálculos de sobrevida (SPSS versão 10.0), comparação entre curvas de sobrevida e método Log Rank. Nível de significância  $p=0,05$ . **Resultados:** de 63 pacientes, 87% estavam com anemia falciforme, sendo 39 em uso de hidroxiureia, com média de idade na instituição do fármaco de  $20,0 \pm 10,0$  anos e dosagem média de  $17,37 \pm 5,4$  a  $20,94 \pm 7,2$  mg/kg/dia, elevando a hemoglobina fetal. Na comparação de usuários e não usuários de hidroxiureia, a curva de sobrevida foi maior nos usuários ( $p=0,014$ ). Ocorreram 10 óbitos, com idade média de 28,1 anos, tendo como causa principal a Insuficiência Respiratória Aguda. **Conclusão:** a curva de sobrevida é maior nos usuários de hidroxiureia. Os resultados apontam a importância do enfermeiro incorporar avanços terapêuticos da hidroxiureia em suas ações assistenciais.

**Descritores:** Sobrevida; Mortalidade; Hemoglobina Falciforme; Hidroxiureia; Enfermagem.

<sup>1</sup> PhD, Professor Adjunto, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>2</sup> PhD, Professor Associado, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

<sup>3</sup> PhD, Professor Adjunto, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil.

<sup>4</sup> MSc, Enfermeira, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas, MS, Brasil.

<sup>5</sup> Doutoranda, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil. Médica, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS, Brasil.

Correspondência:

Olinda Maria Rodrigues de Araujo  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Unidade XII - Curso de Enfermagem  
Avenida Senador Felinto Müller, s/n. Caixa Postal nº 549  
Cidade Universitária  
CEP: 79070-900, Campo Grande, MS, Brasil  
E-mail: olinda\_araujo@yahoo.com.br

Copyright © 2015 Revista Latino-Americana de Enfermagem  
Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Licença Creative Commons Atribuição-Não Comercial (CC BY-NC).  
Esta licença permite que outros distribuam, editem, adaptem e criem obras não comerciais e, apesar de suas obras novas deverem créditos a você e ser não comerciais, não precisam ser licenciadas nos mesmos termos.

## Introdução

A Doença Falciforme (DF) é um termo genérico atribuído a um grupo de doenças hereditárias, com predomínio da hemoglobina S, fazendo parte das doenças genéticas de maior frequência na população humana<sup>(1)</sup>. O quadro clínico caracteriza-se por dois processos fisiopatológicos chaves da anemia falciforme: hemólise e vaso-oclusão<sup>(2)</sup>. Tais processos ocorrem a partir do primeiro ano de vida e, com o passar dos anos, devido à cronicidade da doença, a gravidade se acentua, lesionando diversos tecidos e órgãos<sup>(3)</sup>.

Atualmente, avanços no tratamento e estudos de sobrevida com pacientes falciformes demonstram que a expectativa de vida vem melhorando consideravelmente<sup>(4)</sup>. Entre as opções terapêuticas disponíveis, além do transplante de medula óssea e transfusão crônica, destaca-se a hidroxiureia (HU)<sup>(5)</sup>, cuja ação pode aumentar os níveis de hemoglobina fetal, melhorando a severidade clínica e os parâmetros hematológicos, além de reduzir as taxas de morbimortalidade da doença, com aumento da sobrevida<sup>(6-7)</sup>.

Nesse sentido, destaca-se o estudo realizado nos Estados Unidos e no Canadá com pacientes participantes do MSH (The Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia), que permitiu analisar o impacto do uso da HU sobre a mortalidade, sendo registrada pelos pesquisadores uma redução de 40% na mortalidade ( $p=0,04$ ) entre usuários do medicamento, em nove anos de acompanhamento<sup>(8)</sup>.

Frente à gravidade da DF e tendo em vista a carência de publicações de enfermagem nessa temática<sup>(3-9)</sup>, especificamente com HU, compete ao enfermeiro conhecer os avanços dessa terapêutica, que vem contribuindo para a redução da mortalidade e consequente aumento da sobrevida dessa clientela. Evidências publicadas têm demonstrado que a principal abordagem terapêutica na anemia falciforme é tentar alterar a produção da hemoglobina S para hemoglobina fetal. O que resulta em menor grau de anemia hemolítica grave e menos sintomas<sup>(10)</sup>. Além disso, esse fármaco demonstrou impacto na sobrevida<sup>(11)</sup>.

Como contribuição, este estudo visa trazer subsídios ao enfermeiro para sua atuação na vigilância em saúde ao paciente com doença falciforme, desde a orientação sobre o fármaco até o monitoramento da estratégia de autoadministração da HU pelo paciente. Assim, o objetivo deste estudo foi estimar a sobrevida,

mortalidade e causa de morte em usuários ou não de hidroxiureia com doença falciforme.

## Método

Trata-se de um estudo de coorte, com coleta de dados retrospectiva, envolvendo pacientes com diagnóstico de doença falciforme atendidos em dois hospitais públicos do estado de Mato Grosso do Sul, entre 1980 e 2010.

A coleta de dados foi realizada nos Serviços de Arquivo Médico (SAME) dos referidos hospitais, entre novembro de 2010 e outubro de 2011, por meio de consulta aos prontuários de pacientes com hemoglobinopatias atendidos nos Serviços de Hematologia. Foram incluídos 63 pacientes, de todas as idades, com diagnóstico médico de doença falciforme, confirmado por eletroforese de hemoglobina, e que se enquadraram nos critérios de inclusão. Foram excluídos aqueles que apresentavam outras hemoglobinopatias e traço falciforme.

A coleta dos dados foi realizada por uma das pesquisadoras do estudo, por meio de um instrumento contendo as seguintes variáveis: caracterização da amostra (diagnóstico médico, sexo e idade); sobrevida (data do diagnóstico, tempo de acompanhamento após admissão no serviço, desfecho óbito e abandono); uso ou não de hidroxiureia (dosagem inicial e final, idade no momento da indicação do fármaco e níveis de hemoglobina fetal antes e após o uso de HU); mortalidade (sexo, idade, genótipo, número de óbitos e suas causas).

Os dados foram organizados em planilha Excel®, e as medidas descritivas calculadas com o uso do programa SAS (Statistical Analysis System) para Windows, versão 9.0. Para determinação da probabilidade de sobrevida foi utilizado o método de Kaplan-Meier, considerado como marco inicial a data do diagnóstico médico confirmado e, como encerramento, óbito ou abandono. Os cálculos de sobrevida foram realizados com uso do software SPSS (Statistic Package for Social Sciences), versão 10.0 e, para comparação entre as curvas de sobrevida, foi utilizado o método de Log Rank. O nível de significância considerado para o estudo foi de 0,05. Para comparação do tempo de uso de HU entre os sexos, foi utilizado o Teste de Mann Whitney.

O estudo foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, protocolo nº 1.822/2010.

## Resultados

Os 63 pacientes com DF incluídos nesta coorte retrospectiva foram acompanhados durante 30 anos, de 1980 a 2010. Destes, 55 (87,3%) apresentavam anemia falciforme, seguidos por oito com hemoglobinopatia SC, que são heterozigotos compostos, sendo 38 (60,3%) do sexo feminino e 25 (39,7%) masculino, com idade entre 5 e 63 anos. Enfatiza-se que os oito casos de hemoglobinopatia SC encontrados no período pesquisado foram incluídos no estudo devido à sobrevida na DF, no grupo dos não usuários de hidroxiureia. Dos 63 pacientes, 39 utilizavam HU, sendo que a média de exposição foi de seis anos. No momento da indicação do fármaco, a média de idade foi de  $20,0 \pm 10,0$  anos. A dosagem média inicial de HU foi de  $17,37 \pm 5,4$  mg/kg/dia e, ao final do período investigado,  $20,94 \pm 7,2$  mg/kg/dia.

Com relação à hemoglobina fetal antes do uso de HU, obteve-se a média de  $7,73 \pm 5,1$  e, após o uso houve aumento significativo para  $14,31 \pm 7,4$ ,  $p < 0,001$ .

A probabilidade acumulada de sobrevida foi calculada a partir do total de pacientes em estudo ( $n=63$ ), dentre os quais, 48 encontravam-se em acompanhamento no serviço (76,2%), 10 foram a óbito (15,8%) e cinco abandonaram o tratamento na instituição (8%). O tempo zero (inicial) foi considerado o momento do diagnóstico, e o encerramento, o abandono ou óbito. A Tabela 1 descreve os dados encontrados de sobrevida global, organizados por sexo e estabelece se houve ou não diferença entre os dois grupos. Com 24 meses (dois anos), a probabilidade acumulada de sobrevida foi de 74%; com 48 meses (quatro anos), de 61%; com 120 meses (dez anos), 42%; com 240 meses (vinte anos), 31%; e com 480 meses (quarenta anos), 25%. Entre homens e mulheres não houve diferença estatisticamente significativa (Log Rank=0,114). Ao estabelecer a sobrevida global por sexo, constata-se uma discreta curva de sobrevida maior nas mulheres nos primeiros dois anos de vida, que inverte-se em seguida, até o encerramento (Figura 1).

Tabela 1 - Probabilidade acumulada de sobrevida global dos pacientes com doença falciforme, segundo sexo, em dois hospitais públicos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, entre 1980 e 2010 (N= 63)

Tempo de acompanhamento (meses)	Probabilidade acumulada de sobrevida (N=63)	Probabilidade acumulada de sobrevida		Log Rank p
		Masculino (N=25)	Feminino (N=38)	
24	0,74	0,70	0,84	0,114
48	0,61	0,64	0,58	
120	0,42	0,50	0,38	
240	0,31	0,31	0,32	
480	0,25	-	0,26	

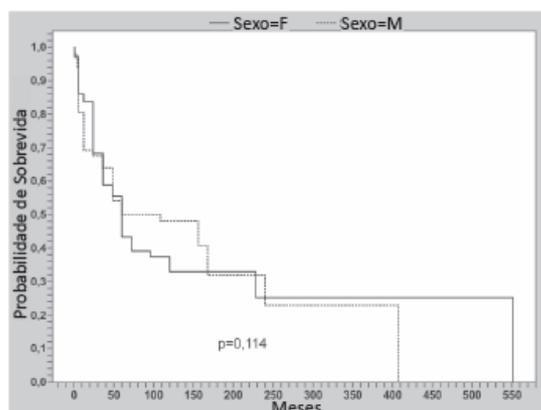


Figura 1 - Curva de probabilidade estimada de sobrevida, segundo o sexo, em dois hospitais públicos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, entre 1980 e 2010 (n=63)

Ao analisar os pacientes de acordo com uso ou não de HU, os resultados mostram que, com 24 meses (dois anos), a probabilidade acumulada de sobrevida foi de 70% para os usuários de HU, comparados com 50% dos não usuários; com 48 meses (quatro anos), 62% para os usuários de HU e de 34% para os não usuários; com 120 meses (dez anos), 40% para os usuários de HU, comparados com 20% para os não usuários; com 240 meses (vinte anos), 32% para os usuários de HU, comparados com 8% dos não usuários; e com 480 meses (quarenta anos), 8% de sobrevida apenas no caso dos pacientes sem uso da medicação. Entre os dois grupos houve diferença estatisticamente significativa (Log Rank=0,014) (Tabela 2). Percebe-se na Figura 2 sobrevida maior dos usuários do fármaco.

Tabela 2 - Probabilidade acumulada de sobrevida dos pacientes com doença falciforme; comparação entre os que fazem (N=39) e os que não fazem uso de hidroxiureia (N=24), em dois hospitais públicos do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, entre 1980 e 2010

Tempo de acompanhamento (meses)	Probabilidade acumulada de sobrevida com uso de hidroxiureia (N=39)	Probabilidade acumulada de sobrevida sem uso de hidroxiureia (N=24)	Log Rank p
24	0,70	0,50	0,014
48	0,62	0,34	
120	0,40	0,20	
240	0,32	0,08	
480	-	0,08	

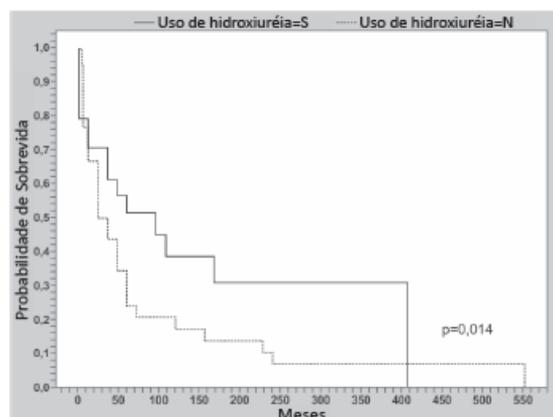


Figura 2 - Curva de probabilidade estimada de sobrevida comparativa, segundo uso ou não de hidroxiureia, em dois hospitais públicos do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil, entre 1980 e 2010 (n=63)

Ao comparar o tempo de uso de HU entre os sexos, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=0,285$  - Teste Mann Whitney), sendo que, no sexo feminino (n=25) a média foi de  $6,5 \pm 3,2$  anos e masculino (n=14) com média de  $5,3 \pm 3,1$  anos.

Dos 10 óbitos ocorridos durante as internações, oito eram do sexo feminino e dois do masculino, com variação entre 17 e 42 anos e média de idade geral de 28,1 anos. Destes, oito possuíam genótipo Hb SS (anemia falciforme) e dois Hb SC (heterozigotos compostos).

Na comparação do grupo de usuários e não usuários de HU, cabe destacar que, dentre os 10 casos de óbitos, oito eram mulheres (cinco em uso) e dois homens (um em uso), na faixa etária entre 17 e 28 anos, com média de 19,9 anos. A média de uso de HU entre os seis óbitos foi de 5,2 anos. A maioria (60%) dos 10 óbitos ocorreu em pacientes não usuários de HU e naqueles com menos de cinco anos de uso.

As causas de morte foram: Insuficiência Respiratória Aguda (IRpA) (40%), Falência Múltipla de Órgãos (20%), Choque Cardiogênico (20%), Acidente Vascular Encefálico (AVE) (10%) e Choque Séptico (10%).

## Discussão

Esta coorte retrospectiva com observação de 30 anos evidencia que, na comparação do grupo de usuários e não usuários de HU, a curva de sobrevida foi maior nos usuários do fármaco, cuja média foi de seis anos de uso, sem associação entre tempo de uso e sobrevida entre os sexos. Estes resultados corroboram o estudo do MSH, que acompanhou indivíduos com anemia falciforme ao longo de 17,5 anos e observou que a maior exposição à HU parece ter melhorado a sobrevida<sup>(12)</sup>.

Na casuística investigada neste estudo há o predomínio de mulheres adultas e portadoras de Hb SS. Estes resultados são similares aos do estudo epidemiológico desenvolvido em Uberaba/MG, com 47 pacientes falciformes, que reportou um maior número de mulheres (59,6%)<sup>(13)</sup>. Não foi encontrada justificativa plausível para o predomínio do sexo feminino, pois a doença falciforme é genética e não tem relação com o sexo.

Com relação à idade média da indicação ao fármaco, na segunda década de vida, e à variação da dosagem da HU prescrita, obteve-se uma resposta adequada de HU, evidenciada pelo aumento dos níveis da hemoglobina fetal. Este resultado demonstra a efetividade dessa terapêutica, respaldado pelos estudos que investigaram os efeitos da HU na anemia falciforme<sup>(10-14)</sup>.

A probabilidade acumulada de sobrevida global encontrada neste estudo aponta a falta de significância estatística na comparação com pacientes do sexo masculino e feminino (Log Rank=0,114). No entanto, a curva de sobrevida mostrou que nos primeiros dois anos

de vida, as mulheres apresentaram maior probabilidade de sobrevida que os homens. Já em um estudo de coorte na Jamaica, com 290 óbitos dentre 3.301 pacientes, foi detectada diferença estatística entre os sexos, com maior sobrevida nos pacientes do sexo feminino (58,5 anos), quando comparados com os do sexo masculino (53 anos)<sup>(15)</sup>.

Neste estudo, a diferença estatisticamente significativa atribuída à comparação do grupo de usuários e não usuários de hidroxiureia assinala uma curva de sobrevida maior dos usuários do fármaco. A casuística observada mostra a exposição à HU durante seis anos, em média. Estes resultados evidenciam os benefícios esperados por meio da sua ação, dentre os quais, a diminuição dos episódios agudos, do número de transfusões sanguíneas e de hospitalizações, resultando em maior sobrevida e melhora do bem-estar e da qualidade de vida<sup>(6)</sup>.

Corroborar esses achados o estudo prospectivo realizado em Atenas, na Grécia, com objetivo de avaliar a eficácia da HU, em que o período de seguimento médio foi de oito anos para os usuários de HU e cinco para não usuários. Resultados mostraram que a HU reduziu a frequência de graves crises dolorosas, as transfusões, as internações hospitalares e a incidência de síndrome torácica aguda. A probabilidade de 10 anos de sobrevida foi de 86% e 65%, respectivamente, para os pacientes em uso e os não usuários de HU<sup>(16)</sup>.

Um estudo com crianças e adultos jovens para avaliar a eficácia e toxicidade da HU, em longo prazo, demonstrou que em pacientes com, no mínimo, cinco anos de acompanhamento houve diferença significativa na diminuição do número e dos dias de hospitalizações ao longo do tratamento, quando comparados com período anterior ao uso da terapia com HU. A probabilidade de não sofrer qualquer evento ou crise vaso-oclusiva requerendo hospitalização durante os cinco anos de tratamento foi de 47%, quando comparada com o período anterior ao tratamento (55%)<sup>(17)</sup>.

No presente estudo, a comparação do tempo de uso de HU entre os sexos não houve significância estatística. Este resultado é semelhante ao do estudo retrospectivo desenvolvido na Geórgia, em que o sexo não influenciou a sobrevida dos 226 pacientes usuários de HU<sup>(7)</sup>.

Os resultados mostraram o registro de 87,3% dos pacientes com Hb SS; 12,7% com Hb SC; e óbitos em faixa etária jovem. Estes achados confirmam os descritos na literatura, ressaltando que a anemia falciforme (Hb SS), estado homocigótico para hemoglobina S, representa o

genótipo mais comum, com a apresentação clínica mais grave da doença<sup>(18)</sup>. Dessa forma, merece destaque o estudo holandês que, ao analisar as causas de morte em pacientes com doença falciforme, entre 1985 e 2007, detectou que dentre 298 crianças, 189 (63%) eram Hb SS<sup>(19)</sup>.

O presente estudo verificou a ocorrência de mortalidade na segunda década de vida. Estes achados assemelham-se aos do estudo desenvolvido em Minas Gerais (N=151 pacientes), entre 1998 e 2007, no qual, em 11 óbitos, a média de idade foi de 33,5 anos, sugerindo que no Brasil, o doente falciforme falece precocemente e, portanto não se espera a existência de uma população idosa dos acometidos pela doença<sup>(20)</sup>. Nesse sentido, vale ressaltar que cerca de 88,9% (56) encontravam-se entre 5 e 40 anos, com exceção de um paciente com 63 anos.

Chama a atenção nesta investigação, a ausência de óbitos em pacientes com DF na faixa etária de 5 a 12 anos, o que difere da literatura<sup>(5,21)</sup>. Um possível fator limitante do presente estudo é o fato de ser retrospectivo em prontuários, dificultando a identificação de registro de óbitos nesta faixa etária, por falta de informatização nas décadas anteriores.

Cabe destacar que, a partir da implantação do Programa de Triagem Neonatal no Estado de Mato Grosso do Sul<sup>(22)</sup>, não houve registro de óbitos em crianças com DF, representando um aumento na expectativa de vida. Outro aspecto a ser enfatizado diz respeito ao diagnóstico precoce, favorecendo a instituição de medidas preventivas de tratamento, propiciando resultados positivos sobre a morbimortalidade e maior chance de sobrevida das crianças<sup>(23)</sup>.

Entre os 10 óbitos ocorridos neste estudo, chamam atenção as sete ocorrências verificadas na faixa etária entre 17 e 28 anos, com média de idade de 19,9 anos. Estes achados reportam ao estudo que aponta como possíveis fatores que contribuem para a baixa idade de óbito: o diagnóstico tardio, a falta de orientação à família frente aos primeiros sinais de complicações, as medidas preventivas contra infecções, o atendimento médico pouco eficaz durante as intercorrências clínicas e o fornecimento irregular de medicamentos por meio de um programa governamental<sup>(24)</sup>.

Em relação aos genótipos, foram registrados oito óbitos com Hb SS e dois Hb SC, com média de idade de 26,7 a 33,5 anos, respectivamente. Estes resultados são respaldados pelo estudo de coorte na análise de sobrevida em pacientes com doença falciforme, onde constatou-se que, aqueles com fenótipo SC sobreviveram

por mais tempo, quando comparados com os do fenótipo SS. A sobrevida nos pacientes com Hb SS foi de 42 a 48 anos e, nos pacientes com Hb SC, de 60 a 68 anos<sup>(4)</sup>.

Outro aspecto a ser considerado neste estudo é que a maioria (60%) dos 10 óbitos ocorreu em pacientes não usuários de HU e com menos de cinco anos de uso. Em um estudo randomizado do MSH, 87,1% dos 31 óbitos ocorreram em pacientes inseridos nas categorias de "nunca expostos à HU" e "com menos de cinco anos de uso"<sup>(12)</sup>.

Quanto às causas de morte, a Insuficiência Respiratória Aguda foi responsável por quatro dos 10 óbitos, em consequência de pneumonia. A Falência de Múltiplos Órgãos ocorreu em dois, relacionados à infecção/seps; e o choque séptico foi responsável por um, devido à sepse. Portanto, a infecção foi a complicação principal para os óbitos neste estudo, resultado semelhante a outros achados sobre mortalidade em doença falciforme<sup>(20-21)</sup>.

Dentre os 10 óbitos registrados, o choque cardiogênico foi a causa de dois, devido à Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC); e o AVE foi responsável por um.

Essas complicações comprometem diretamente a função de órgãos vitais e estão associadas a risco de vida, com predominância ou limitadas a uma faixa etária. A ICC é uma manifestação tipicamente tardia, exigindo longa evolução da lesão tissular para se manifestar, enquanto que o AVE pode ser evidenciado em uma faixa etária muito jovem<sup>(25)</sup>.

Neste estudo, um dos óbitos relacionados ao Choque Cardiogênico ocorreu aos 17 anos de idade, enquanto que o outro, causado pelo AVE, aconteceu aos 26 anos. Estes resultados diferem do estudo de morbimortalidade em doença falciforme que, ao analisar as causas de morte, registrou um caso de óbito com Choque Cardiogênico aos 34 anos e um AVE aos seis anos de idade<sup>(20)</sup>. Essas diferenças de resultados são confirmadas pela literatura, ao mencionar que os mecanismos subjacentes à predominância etária nem sempre estão presentes<sup>(25)</sup>.

Nesta pesquisa houve fatores limitantes para análise de algumas variáveis, decorrentes do caráter observacional do estudo, no entanto, sem prejuízo aos objetivos estabelecidos.

## Conclusão

Neste estudo, demonstrou-se a efetividade do uso da HU em uma coorte retrospectiva, com média de seis anos de exposição ao fármaco.

Na comparação do grupo de usuários e não usuários de HU, a curva de sobrevida é maior nos usuários da medicação, sem associação entre tempo de uso e sobrevida entre os sexos.

A comparação do grupo de usuários e não usuários de HU mostra a ocorrência de 10 casos de óbitos, sendo oito mulheres (cinco em uso) e dois homens (um em uso). Do total de óbitos, sete são Hb SS, na faixa etária entre 17 e 28 anos.

A causa mais frequente de óbito foi IRpA, seguida de Falência de Múltiplos Órgãos e Choque Cardiogênico.

Como relevância, este estudo traz evidências científicas quanto aos avanços da terapêutica com HU na DF, a serem incorporados pelo enfermeiro em sua prática assistencial. Essas ações podem facilitar a acessibilidade dessa clientela aos diferentes níveis de atenção, bem como a medicamentos, especificamente hidroxuureia, visando a redução da mortalidade e o aumento da sobrevida do paciente com doença falciforme.

## Referências

1. Ferraz MHC, Murao M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):218-22.
2. Booth C, Inusa B, Okaro SK. Infection in sickle cell disease: A review. *Int J Infect Dis.* 2010;14(1):e2-e12.
3. Ivo ML, Carvalho EC. Nursing care to patients with sickle cell disease in the light of Roy's model. *Rev. Latino-Am. Enfermagem.* 2003;11(2):192-8.
4. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease – life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med* 1994;330: 1639-44.
5. Braga JAP. Medidas gerais no tratamento das doenças falciformes. *Rev Bras Hematol Hemot.* 2007;29(3):233-8.
6. Silva-Pinto AC, Angulo IL, Brunetta DM, Neves FIR, Bassi SC, Santis GC, et al. Clinical and hematological effects of hydroxyurea therapy in sickle cell patients: a single-center experience in Brazil. *São Paulo Med J.* 2013;131(4):238-43.
7. Bakanay SM, Dainer E, Clair B, Adekile A, Daitch L, Wells L, et al. Mortality in sickle cell patients on hydroxyurea therapy. *Blood.* 2005;105(2):545-7.
8. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia – risks and benefits up to 9 years of treatment. *JAMA* 2003;289(13):1645-51.

9. Kikuchi BA. Assistência de enfermagem na doença falciforme nos serviços de atenção básica. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):331-8.
10. Platt OS. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *N Engl J Med.* 2008;358 (13):1362-9.
11. Ware RE, Aygun B. Advances in the use of hydroxyurea. *Hematology Am Soc Hematol Educ Prog.* 2009;2009(1):62-9.
12. Steinberg MH, Carthy WF, Castro O, Ballas SK, Armstrong FD, Smith W, et al. The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: A 17.5 year follow-up. *Am J Hematol.* 2010;85(6):403-8.
13. Felix AA, Souza HM, Ribeiro SBF. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010;32(3):203-8.
14. Charache S, Dover GJ, Moore RD, Eckert S, Ballas SK, Koshy M, et al. Hydroxyurea: effects on hemoglobin F production in patients with sickle cell anemia. *Blood.* 1992;79 (10):2555-65.
15. Wierenga KJ, Hambleton IR, Lewis NA. Survival estimates for patients with homozygous Sickle-Cell Disease in Jamaica: a clinic-based population study. *Lancet.* 2001;357(9257): 680-3.
16. Voskaridou E, Christoulas D, Bilalis A, Plata E, Varvagiannis K, Stamatopoulos G, et al. The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes: results of a 17-year, single-center trial (LaSHS). *Blood.* 2010;115(12):2354-63.
17. Ferster A, Tahriri P, Vermylen C, Sturbois G, Corazza K, Fondu P, et al. Five years of experience with hydroxyurea in children and young adults with sickle cell disease. *Blood.* 2001;97(11):3628-32.
18. Carvalho-Neto A, Land M, Fleury M. Aspectos clínico-laboratoriais de crianças com doença falciforme. *RBAC.* 2011;43(2):148-51.
19. Van der Plas EM, Van den Tweel XW, Geskus RB, Heijboer H, Biemond BJ, Peters M, et al. Mortality and causes of death in children with sickle cell disease in the Netherlands, before the introduction of neonatal screening. *Br J Haematol.* 2011;155(1):106-10.
20. Martins PRJ, Moraes-Souza H, Silveira TB. Morbimortalidade em doença falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2010;32(5):378-83.
21. Fernandes APPC, Januário JN, Cangussu CB, Macedo DL, Viana MB. Mortalidade de crianças com doença falciforme: um estudo de base populacional. *J Pediatría (Rio de Janeiro)* 2010;86(4):279-84.
22. Araujo OMR, Ivo ML, Barbieri AR, Correa-Filho RAC, Pontes ERJC, Botelho CAO. Scope and efficiency of the newborn screening program in identifying hemoglobin S. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014;36(1):14-8.
23. Leikin SL, Gallagher D, Kinney TR, Sloane D, Klug P, Rida W. Mortality in children and adolescents with sickle cell disease. *Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Pediatrics.* 1989;84(3):500-8.
24. Loureiro MM, Rozenfeld S. Epidemiologia de internações por doença falciforme no Brasil. *Rev Saúde Pública.* 2005;39(6):943- 9.
25. Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007;29(3):207-14.

Recebido: 11.7.2013

Aceito: 24.11.2014

ANEXOS



**LEGENDA:**

(\*) **Apreciação**

PQ = Projeto Original de Centro Coordenador	POp = Projeto Original de Centro Participante	POc = Projeto Original de Centro Coparticipante
E = Emenda de Centro Coordenador	Ep = Emenda de Centro Participante	Ec = Emenda de Centro Coparticipante
N = Notificação de Centro Coordenador	Np = Notificação de Centro Participante	

(\*) **Formação do CAAE**

Ano de submissão do Projeto						Tipo do centro			Código do Comitê que está analisando o projeto										
n	n	n	n	n	n	a	a	.	dv	.	t	x	x	x	.	i	i	i	i
Sequencial para todos os Projetos submetidos para apreciação						Dígito verificador			Sequencial quando estudo possui Centro(s) Participante(s) e/ou Coparticipante(s)				Código do Comitê que está analisando o projeto						

[Voltar](#)

