



**FIOCRUZ**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE E MEDICINA**  
**INVESTIGATIVA**

**JOSÉ PEREIRA DE MOURA NETO**

**DIVERSIDADE FENOTÍPICA E INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NA**  
**REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS (LCR) DO GENE DA *GLOBINA BETA* NA**  
**ANEMIA FALCIFORME**

**TESE DE DOUTORADO**

**Salvador - Bahia – Brasil**

**2010**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
CENTRO DE PESQUISAS GONÇALO MONIZ**

**Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia em Saúde e Medicina  
Investigativa**

**DIVERSIDADE FENOTÍPICA E INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS NA  
REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS (LCR) DO GENE DA *GLOBINA BETA* NA  
ANEMIA FALCIFORME**

**JOSÉ PEREIRA DE MOURA NETO**

**ORIENTADOR: MARILDA DE SOUZA GONÇALVES**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação Em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa para a obtenção do grau de Mestre ou Doutor.

**Salvador - Bahia – Brasil**

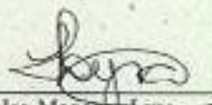
**2010**

"DIVERSIDADE FENOTÍPICA E INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS GÊNICOS NA REGIÃO  
CONTROLADORA DO LÓCUS (LCR) DO GENE DA *GLOBINA BETA* NA ANEMIA FALCIFORME"

JOSÉ PEREIRA DE MOURA NETO

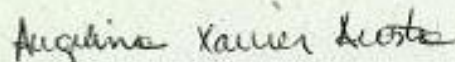
FOLHA DE APROVAÇÃO

COMISSÃO EXAMINADORA



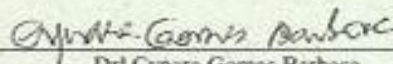
---

Dr<sup>a</sup> Isa Menezes Lyra  
Professor Adjunto  
FTC



---

Dr<sup>a</sup> Angelina Xavier Acosta  
Professor Adjunto  
UFBA



---

Dr<sup>a</sup> Cynara Gomes Barbosa  
Pesquisador Visitante  
CPqGM/FIOCRUZ

## **GADUZÃO**

Primeiramente, gostaria de agradecer ao nosso **GADUZÃO**, meu **ET** preferido pelas chances, força, prestígio, sorte, gana, destreza, atitude, esperança, educação, coragem honestidade e todas as possibilidades a mim colocadas e expressadas sem problemáticas. Obrigado pela sua inserção e predisposição constantes em todas as revisões de minha alma. Obrigado principalmente pela rebeldia no contexto mais humano da expressão.

## **A PROF. DRA. MARILDA DE SOUZA GONÇALVES**

Em minha vida, achei que buscar um ideal com vigor, destreza, sensatez, coerência e dedicação, seria suficiente para grandes conquistas. Descobri que apesar de grande esforço e persistência, nada seria possível se alguém não estiver ao seu lado ajudando, guiando, ensinando, instruindo, suando, brigando, aprendendo, acompanhando, rindo e chorando nos momentos que se obriga a crescer intelectualmente, profissionalmente e pessoalmente.

A você Dra. **Marilda de Souza Gonçalves**, minha querida Professora, ETERNA ORIENTADORA e para sempre SEGUNDA MÃE, agradecer é pouco por tudo que fez nas decisões e escolhas em minha vida. Exteriorizar meus sentimentos de alegria por tê-la em minha vida com este exemplo de PESSOA DE GARRA, HUMILDADE, DISCIPLINA E ESPIRITO DE SOLIDARIEDADE, só me fez ser e crescer muito feliz, comedido de tentar me espelhar sempre em seus atos e deveres.

Tenha certeza de minha eterna devoção e gratidão.  
Meu muito Obrigado por me instruir em todas minhas conquistas e vitórias.

## À MINHA FAMÍLIA

Minha mãe **Violeta Abi-Ali**; Meu Pai **Rivaldo Pereira**;  
Irmãs **Leonor Eliza e Marlene Abi-Ali**; Irmãos **Marcos Mendes, Edvaldo Abi-Ali, Rivaldo Pereira, Edson Abi-Ali e André Abi-Ali**; Sobrinhos **Matheus Aquino e Pedro Mourão**; Afilhados **Felipe Mourão e Abraão Abi-Ali**;  
Sobrinha **Mariana Aquino**; Cunhado **Geraldo Mourão**;  
Cunhada **Karina Amorim** e àqueles que ainda virão.

Distância... traduzida na linguagem coloquial, medida da separação de dois pontos. Para mim, a distância foi meu crescimento da mesma forma que o vento faz ao fogo, apagando o menor e inflamando o maior.

Esta TESE dedico a todos vocês que foram para mim o vento que sempre inflamou minha força, o entusiasmo, a dedicação, a transparência, a paciência, o esforço, o preparo, a busca, o amor, a paz, a esperança, a honestidade, a dignidade, a retidão, o incentivo, a aprendizagem, a humildade, a sabedoria e meu sucesso.

Portanto, esta TESE também é de vocês.

Amo vocês!

## **AOS MEUS AMIGOS, COMPANHEIROS E COLEGAS DE ESTUDO, TRABALHO E EDUCAÇÃO.**

Eis que nesta página expresso meus sinceros agradecimentos a muitos e tantos adorados familiares, amigos e colegas – tanto aos ‘antigos’ e queridos quanto aos que se revelaram ao longo desse tempo.

Imagino o risco de não dar conta desse ‘muitíssimo obrigado’ como é merecido, devido à dificuldade de exprimir a beleza de toda energia e impulsos que foram chegando. Devido a tudo isso, devo destacar além da formalidade, o sentido da verdadeira rede de dedicação e solidariedade e muito esforço e afeto.

Iniciando esta percepção, afirmo que esta não foi uma caminhada leve e breve, mas um longo percurso onde o fim estava não tão perto, principalmente pelas sempre intercorrências pessoais e no trabalho de toda grandeza, que ao mesmo tempo em que se atropelavam, também se manifestavam.

Lógico que estes pequenos percalços, de longe atrapalharam ou dificultaram o trajeto, mas posso afirmar que aumentaram tendência do esforço e do brilho. E, ao invés de me deterem, impulsionaram-me com mais força, dedicação, humildade e trabalho.

Se a escolha e desafio pareciam ser enormes, as motivações eram bem maiores, multiplicadas às ideias de atos generosos que fizeram possível a transformação dos momentos de quase angústia e sofrimento em uma escalada fácil, limpa e margeada de convicções, alegrias e destreza irrefutáveis.

Uma escalada com ventos brandos, cujo nome esperança foi a base e a busca de todos saberes, possibilidades, tarefas e buscas em atenção mais integral à promoção de uma melhor saúde, estabilidade e uma melhor atenção à pessoas quer foram imprescindíveis para tornar este sonho uma realidade. Obrigado aos portadores da Anemia Falciforme que aceitaram fazer parte integral e a base para a realização deste trabalho. Meu primeiro muito Obrigado!

Dessa forma, dando continuidade a este longo caminho percorrido, dedico algumas palavras para àqueles que fizeram e fazem parte direta ou indiretamente ou, ainda, pelo simples fato de terem passado em minha vida.

- Novamente a minha **Família**, pedestal maior do meu sucesso.
- À minha avó de saudosa memória, **Verônica Gonçalves Damasceno Abi-Ali**, que com seu simples olhar, deduzia-me a realizar as melhores escolhas e caminhos.
- Tendo a consciência de ser impossível colocar em um alista todos aqueles que de alguma forma me acrescentaram ideias, ajudas, conhecimentos e essências à forma de se colocar no mundo e nele atuar - particularmente em minha área de saúde e Análises Clínicas, - necessito expressar meu grande agradecimento pela convivência e aprendizagem de pessoas como:
  - Aos técnicos dos laboratórios da FF-UFBA pela constante presença e vontade de ajudar na viabilização da parte prática deste estudo.
  - Ao Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz e aos docentes que nos acompanharam nos anos desta jornada e pelo entusiasmo, pelo espaço para a descoberta, e pelo saber largamente dispensado.
  - Aos amigos da HEMOBA, Bárbara, **Val e Sandra** pela coleta das amostras de sangue; **Denise e Magali** no serviço social; a **Eliana e Dora, Valdenice, Marcos, Mary, Thais**, sempre dispostos a resgatar os prontuários médico-hospitalares dos pacientes.
  - À direção da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia pela participação neste projeto.
  - As médicas hematologistas e pediatras da HEMOBA, **Dra. Isa Lyra, Dra. Ângela Zanette**, pela atenção, empenho e suporte clínico na execução deste trabalho;



- Aos pacientes e familiares, pela confiança e humildade de aceitarem participar deste trabalho, na tentativa de compreendermos a doença falciforme.
- Aos pais ou responsáveis pelos recém-nascidos pela participação neste estudo.
- À equipe do Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM) do CPqGM pelas alegrias, trabalhos em conjunto, leituras, brigas, risos... Aos colegas **Elisângela Vitória Adorno, Fábio David Couto, Cynara Gomes Barbosa, Cyntia Cajado, Marcus Vinicius Dourado, Mari Inês Oliveira e Magda Seixas.**
- Aos especiais amigos **Bruno Veloso Cerqueira, Renato Santos Leal e Wendell Vilas Boas**, sempre presentes no auxílio necessário prático e teórico deste estudo.
- A **Ana Fiscina e Adelvany Araújo** pela organização das referências e da ficha catalográfica.
- Aos amigos dos diversos setores do CPqGM/FIOCRUZ.
- À Plataforma de Sequenciamento da FIOCRUZ, em nome de **Silvana Souza da Paz** na ajuda com a análise das sequências gênicas;
- As Fontes de Financiamento: **FAPESB, CAPES e CNPq;**

*Sou o que sou porque vivo  
da minha maneira...  
Você procurando respostas  
olhando para o espaço,  
e eu tão ocupado vivendo...  
Eu não me pergunto,  
Eu faço!*

***Raul Seixas***

## RESUMO

Os indivíduos com anemia falciforme (AF) possuem perfil clínico heterogêneo em função de fatores variados que contribuem para a modulação da doença, como a concentração de hemoglobina fetal (HbF), presença de haplótipos (HAPLO) ligados ao grupo de genes da globina *beta S*, talassemia alfa (TA) e mutações em genes específicos, como as localizadas nos sítios hipersensíveis a ação da DNase I na região controladora do locus da globina beta (LCR). O objetivo do presente estudo foi identificar subfenótipos da anemia falciforme a partir do estudo de marcadores biológicos associados aos seus portadores. As determinações hematológicas, bioquímicas e sorológicas foram realizadas na Faculdade de Farmácia da UFBA pelo uso de Kits diagnósticos e métodos automatizados. O padrão de hemoglobina foi analisado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC), os haplo por PCR-RFLP e a TA por PCR. As sequências do HS-LCR foram amplificadas através da PCR e sequenciadas no ABI Prism 3100 *DNA Sequencer*. As análises estatísticas foram realizadas nos programas *EPI INFO* versão 6.04, *SPSS* versão 18.0 e o *Prism* versão 5.0. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos para as análises realizadas. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisas do CPqGM-FIOCRUZ. Foram investigados 2223 indivíduos com AF, com idade entre 1-50 anos e média de 20,86 ( $\pm 11,06$ ) anos, sendo 50,70% mulheres. Valores significativos foram encontrados para os dados hematológicos e bioquímicos entre os sexos para contagem global de linfócitos nos homens ( $6414,85 \pm 3940,70 \times 10^6/L$ ) e mulheres ( $5597,81 \pm 2744,24 \times 10^6/L$ ),  $p = 0,003$  e a contagem de reticulócitos entre os homens ( $7,01 \pm 4,66$ ) e mulheres ( $7,74 \pm 5,89$ ),  $p = 0,043$ ; o colesterol de baixa densidade (LDL-c), a aspartato e alanina aminotransferases, respectivamente com  $p = 0,009$ ,  $p = 0,029$ ,  $p = 0,038$  para homens e mulheres. Ao correlacionarmos eventos clínicos entre homens e mulheres, verificamos que a STA possui razão de prevalência de 1,89 para os homens (IC: 1,52-2,36,  $p < 0,001$ ) e de 1,59 (IC: 1,06-2,39,  $p = 0,023$ ) para a ocorrência de hospitalizações nesse mesmo sexo. A talassemia alfa foi realizada em 820 pacientes com 196 (23,90%) heterozigotos e 21 (2,6%) homozigotos. O total de 1872 cromossomos beta S foram estudados, sendo que os mais frequentes foram os haplótipos CAR/CAR (20,0%); Ben/Ben (25,8%) e CAR/Ben (44,2%). A correlação entre TA e dados hematológicos demonstraram resultados significativos para hemácias (Hm) ( $p = 0,004$ ), volume corpuscular médio (VCM) ( $p = 0,015$ ), hemoglobina corpuscular média (HCM) ( $p = 0,006$ ) e plaquetas ( $p = 0,016$ ) e no perfil lipídico com triglicerídeos ( $p = 0,001$ ). A consulta retrospectiva aos prontuários de acompanhamento ambulatorial de 1799 pacientes com AF demonstrou que 1368 pacientes (76,04%)

apresentaram pelo menos um evento vaso-oclusivo e 1475 (81,98%) tiveram pelo menos uma internação. Destes 856 (47,6%) apresentaram crise álgica; 1268 (70,5%) crises vaso-oclusivas; 115 (6,4%) Síndrome torácica aguda (STA); 53 (2,9%) dor abdominal e 24 (1,3%) dos 924 homens apresentaram priapismo. Novecentos e dezesseis (52,3%) pacientes realizaram pelo menos uma transfusão sanguínea nos dois últimos anos. O registro de infecção foi frequente em 638 (43,5%) pacientes, sendo a pneumonia a causa mais frequente, com 347 (23,6%) relatos. Cento e quinze (6,4%) pacientes foram acometidos por pelo menos um evento de AVC e 111 (6,2%) por úlcera maleolar. Quando estratificamos a idade para menor de 21 anos, a ocorrência de dactilite (síndrome mão) foi descrita em 3,5% (40) e de sequestro esplênico em 14,3% (163) nos 1141 pacientes pediátricos. A associação entre dados hematológicos, bioquímicos e o histórico dos eventos clínicos demonstraram associação nos níveis de proteínas totais e histórico de alterações ósseas ( $p= 0,029$ ); contagem global de monócitos e colelitíase ( $p= 0,017$ ); creatinina sérica e dactilite; bilirrubina direta e necrose avascular ( $p= 0,022$ ); dosagem da ALT e retinopatia ( $p= 0,010$ ); contagem global de eosinófilos e basófilos e sequestro hepatoesplênico ( $p=0,006$  e  $p=0,033$ , respectivamente). As análises multivariadas de regressão logística binária demonstraram que os eventos de AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações são cerca de duas vezes mais frequentes nos homens com AF com associação dependente do sinergismo entre HAPLO e TA. Pacientes com haplótipo CAR e portadores da talassemia alfa foram mais propensos à ocorrência desses eventos clínicos, enquanto o genótipo Ben foi protetor. A presença da talassemia alfa em pacientes com haplótipo CAR influenciou o aumento de 2,3 vezes nos pacientes com contagem de reticulócitos acima de 5%. A ausência da talassemia alfa influenciou de maneira protetora para eventos de sequestro esplênico quando associadas a concentrações de HbF maiores que 6%. As análises para STA demonstraram que os genótipos HAPLO e TA com o sexo são fatores que influenciam diretamente para a ocorrência deste evento. Para os eventos de úlcera maleolar, verificamos que a concentração da HbF é um fator de risco importante, influenciando na frequência entre os sexos a depender da presença ou não da TA, HAPLO e a contagem de reticulócitos. Do total de 1379 pacientes com AF, 52% (717) receberam pelo menos uma transfusão sanguínea nos últimos dois anos. Ao investigarmos a soroprevalência em nosso grupo de pacientes com AF, encontramos 267 (19,4%) pacientes positivos. Se analisarmos que a soroprevalência positiva ocorreu devido ao uso de transfusões sanguíneas e que apenas 717 (52,5%) dos pacientes com AF receberam transfusão, então este percentual elevaria a prevalência para 37,23%. As soroprevalências positivas encontradas em nosso estudo em ordem de frequência foram VHC, HTLV-I/II, VHB, doença de Chagas e sífilis. O

total de 164 pacientes com AF foi estudado para cada sítio HS-LCR (HS2 a 4). O sequenciamento gênico demonstrou a presença de polimorfismos já anteriormente descritos e localizados no sítio HS2-LCR, sendo o -10951 T>G, -10920 T>G, -10905 A>G, -10725 G>A, -10623\_10570del (AT) e -10390 A>T. Tendo como base os nossos resultados, concluímos que a realização do presente estudo e principalmente com a casuística composta por um N amostral elevado, contribuiu para confirmar a importância do estabelecimento de fatores de prognóstico na AF, além de contribuir para o estabelecimento de subfenótipos da doença.

## ABSTRAT

Sickle cell anemia (SCA) patients have clinical profile exceptionally heterogeneous. A number of prognostic factors for the occurrence of unfavorable outcomes and serious conditions from SCA have been described that are frequently associated with the levels of fetal hemoglobin (HbF); beta S-globin gene cluster haplotypes (HAPLO), alpha thalassemia 2<sup>3.7 kb</sup> (AT) and polymorphisms in the sequences located at sites hypersensitive to DNase I action in the control region of beta globin locus (LCR-HS1-5). The aim of this study was to identify subphenotypes of SCA patients by biological markers associated with their carriers. Hematological, biochemical and serological data were analyzed in the College of Pharmacy-UFBA by diagnostic kits and automated machines. The hemoglobin profile was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC), the haplo by PCR-RFLP and AT by PCR. The LCR sequences were amplified by PCR and its products were analyzed using the ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer. Statistical data analysis was performed using Epi Info (version 6.04), SPSS (version 18.0) and Prism (version 5.0) software's. A P value of <0.05 was considered significant. The study was approved of research ethics committee from CPqGM-FIOCRUZ. A total of 2223 SCA patients were studied with 50.70% female. The mean age of patient was 20.86±11.06 years. Significant differences were found between genders to hematological and biochemical profile: lymphocyte count male (6414.85± 3940.70 x10<sup>6</sup>/L) and female (5597.81±2744.24 x10<sup>6</sup>/L),  $p=0.003$ , reticulocyte count male (7.01 ± 4.66 %) and female (7.74±5.89 %),  $p=0.043$ , low-density lipoprotein (LDL), aspartate (AST) and alanine (ALT) aminotransferase,  $p=0.009$ ,  $p=0.029$ ,  $p=0.038$  to male and female, respectively. Significant difference between male and female clinical was found. Male-to-female ratio was 1.9:1 ( $p=0<001$ ) to acute chest syndrome and 1.6:1 ( $p=0,023$ ) to hospitalizations. A total of 820 SCA patients were genotyped to AT with 19.9% heterozygous and 2.6% homozygous. A total of 1872 *beta S* chromosomes were studied and the mostly frequent haplotypes were the CAR/CAR (20.0%), Ben/Ben (25.8%) and CAR/Ben (44.2%). Statistical significant results were found when AT was associated with red blood cell - RBC ( $p=0.004$ ), mean corpuscular volume - MCV ( $p=0.015$ ), mean corpuscular hemoglobin - HCM ( $p=0.006$ ) and platelets count ( $p=0.016$ ) and triglycerides ( $p=0.001$ ). A retrospective review of hospital records of outpatient follow-up in 1799 SCA patients showed that 1368 (76.04%) had at least a vaso-occlusive crisis (VOC) and 1475 (81.98%) had at least one hospitalization (HO). Of these 856 (47.6%) had painful crises (PFC); 1268 (70.5%) VOC; 115 (6.4%) acute chest syndrome (STA), 53 (2.9%) abdominal pain (AP) and 24 (1.3%) of 924

male had priapism. Nine hundred and sixteen (52.3%) patients had at least one blood transfusion in the last two years. The infection occurs in 638 (43.5%) of SCA patients, with the most frequent cause was pneumonia, with 23.6% reports. One hundred and fifteen (6.4%) patients were affected by at least one event of stroke and 111 (6.2%) leg ulcer (LU). When we stratified for age under 21, the occurrence of dactylitis was described in 3.5% and splenic sequestration in 14.3% the 1141 total pediatric patients.

The association between hematological and biochemical parameters with clinical events demonstrated association in the levels of total protein and history of bone changes ( $p = 0.029$ ); global count of monocytes and cholelithiasis ( $p = 0.017$ ), serum creatinine and dactylitis, and direct bilirubin avascular necrosis ( $p = 0.022$ ); determination of ALT and retinopathy ( $p = 0.010$ ); global count of eosinophils and basophils and hepatosplenic sequestration ( $p = 0.006$  and  $p = 0.033$ , respectively). Multivariate analysis by binary logistic regression showed that the events of stroke vaso-occlusive crises and hospitalizations are approximately twice as frequent in male with AF association between haplo-dependent synergism and TA. Patients with CAR haplotype and alpha thalassemia carriers were more prone to occurrence of clinical events, while Ben genotype was protective. The presence of thalassemia in patients with CAR haplotype influenced the increase of 2.3 times in patients with reticulocyte count above 5%. The absence of thalassemia as a protective influence for events associated with splenic sequestration when HbF concentrations greater than 6%. Analyses for STA showed that the genotypes and haplo TA with sex are factors that directly influence the occurrence of this event. For event malleolar ulcer, we found that the concentration of HbF is an important risk factor influencing the frequency between the sexes depending on the presence or absence of TA, haplo and reticulocyte count. A total of 1379 SCA patients were studied between 1995 and 2009: 188 (13.6%) had hepatitis C Virus (HCV), 67 (4.9%) had Human\_T-lymphotropic\_virus (HTLV-I), 44 (3.2%) had hepatitis B virus (HBV), 40 had (2.9%) Chagas' disease, 11 (0.8%) had Human immunodeficiency virus (HIV) and 4 (0.3%) had syphilis. Patients with HCV-positive serology had a higher risk for hospitalisations (OR=1.50, 95% IC: 1.03 -2.20,  $p=0.033$ ), bone disorders (OR=2.05, 95% CI: 1.04-3.97,  $p=0.034$ ), stroke (OR=2.01, 95% CI: 1.13-3.56,  $p=0.014$ ), pain crisis (OR= 1.47, 95% CI: 1.05-2.05,  $p=0.022$ ) and leg ulcers (OR= 1.89, 95% CI: 1.10-3.21,  $p=0.017$ ). Patients with HTLV-I infection had a high risk for bone disorders (OR= 2.79, 95% CI: 1.10-6.78,  $p=0.022$ ), respiratory failure (OR= 2.66, 95% CI: 1.26-5.51,  $p= 0.012$ ) and leg ulcers (OR=3.67, 95% CI: 1.85-7.19,  $p<0.001$ ). SCA patients with HCV had increased triglycerides and LDL-C ( $p= 0.036$ ;  $p=0.027$ ), iron serum ( $p=0.016$ ), and ferritin ( $p=0.007$ ). The gene

sequencing showed the presence of polymorphisms previously described and located on the site HS2-LCR, and the -10 951 T> G, -10,920 T> G, -10,905 A> G, -10,725 G> A,-10623\_10570del (AT) and -10 390 A> T. These infections results reveal an important role of these infections in SCA patients' clinical outcome, and studies are warranted to determine the mechanisms utilised by these agents. Based on our results, we concluded that the study design and mainly with the sample comprised a large sample size N, has helped to confirm the importance of establishing prognostic factors in the AF, and contribute to the establishment of the disease subphenotypes.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1A/1B	1A. Distribuição geográfica dos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>beta S</i> na África e regiões do Oriente Médio. 1B. Sequencia de polimorfismos genéticos localizados no cromossomo 11, com o padrão de clivagem para diferentes endonucleases de restrição (Adaptado de STUART & NAGEL, 2004).	Pag. 33
Figura 2	Representação esquemática das famílias gênicas da globina beta, incluindo a LCR e os genes funcionais (BANK, 2005, com modificações).	Pag. 37
Figura 3	Descrição do prognóstico clínico associado aos pacientes com anemia falciforme na presença e ausência de talassemia $\alpha$ e dos diferentes haplótipos ligados ao grupo de genes da <i>globina beta</i> (Adaptado de POWARS, 1991).	Pag. 39
Figura 4	Representação esquemática do desenho do estudo.	Pag. 46
Figura 5	Gel de agarose a 1,0% em tampão Tris-Borato-EDTA 1X, pH 8.3, após corrida do produto da PCR da reação para investigação da talassemia alfa.	Pag. 50
Figura 6	Frequências dos pacientes com anemia falciforme na cidade do Salvador e região metropolitana atendidos pela Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia- HEMOBA.	Pag. 58
Figura 7	Análise de correlação bivariada entre os valores de hemoglobina e síndrome torácica aguda em pacientes com anemia falciforme.	Pag. 97
Figura 8	Análise univarida dos eventos clínicos entre idades ( $>$ e $\leq$ 21 anos) em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 101
Figura 9	Curva ROC descrever a relação entre a variável clinica e dados hematológicos e bioquímicos.	Pag. 114
Figura 10	A - Substituições em heterozigose nas posições - 10.920 (T>G) e -10.570 (A>G) do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme. B - Eletroferograma com sequência normal para as duas substituições em	Pag. 119

	paciente com anemia falciforme.	
Figura 11	Deleção AT na posição -10623 do HS2-LCR em nos pacientes com anemia falciforme. As setas indicam ponto das deleções de um par de bases AT. Dados de análises realizadas no programa (SeqManager - DNASTAR Lasergene 8.0 - Madison, Wisconsin-USA).	Pag. 120
Figura 12	Deleções AT nas posições entre -10623-10570 do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme. As setas indicam ponto das deleções de um ou mais pares de bases AT. Dados de análises realizadas no programa (DNASTAR Lasergene 8.0 - Madison, Wisconsin-USA).	Pag. 121
Figura 13	A - Substituições em heterozigose na posição - 10.390 (A>T) do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme.	Pag. 122
Figura 14	Demonstração de alinhamento de sequências obtidas no sequenciamento para o HS3-LCR realizado no programa MegAlign (DNASTAR).	Pag. 124
Figura 15	Demonstração de alinhamento de sequências obtidas através sequenciamento para o sítio HS3-LCR realizado no programa BLAST.	Pag. 125
Quadro 1	Distribuição (%) dos haplótipos ligados aos genes da <i>globina beta</i> em algumas regiões brasileiras.	Pag. 35

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Características hematológicas entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 59
Tabela 2	Características do metabolismo lipídico, hepático e renal entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 61
Tabela 3	Eventos clínicos entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 62
Tabela 4	Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e presença ou ausência da talassemia alfa 2 <sup>3.7kb</sup> em 820 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 64
Tabela 5	Análise da talassemia alfa 2 <sup>3.7kb</sup> com os marcadores dos perfis lipídico, hepático e renal em 224 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 66
Tabela 6	Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>beta S</i> em 934 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 68
Tabela 7	Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>beta S</i> em 647 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 69
Tabela 8	Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>beta S</i> em 505 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 70
Tabela 9	Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>beta S</i> em 716 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 71
Tabela 10	Dados hematológicos, perfil de hemoglobinas, Análise da talassemia alfa 2 <sup>3.7kb</sup> e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina <i>Beta S</i> em 558 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 73
Tabela 11	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e hospitalizações em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 75

Tabela 12	Análises de dados hematológicos e crises algicas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 76
Tabela 13	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e dores abdominais em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 77
Tabela 14	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e dores ósseas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 78
Tabela 15	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e insuficiência cardíaca em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 79
Tabela 16	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e insuficiência respiratória em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 80
Tabela 17	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 81
Tabela 18	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos de úlcera maleolar em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 82
Tabela 19	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos de Crises Vaso-Oclusivas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 83
Tabela 20	Análises de dados hematológicos, bioquímicos e episódios infecciosos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 84
Tabela 21	Análise da concentração de hemoglobina fetal ( $>$ e $\leq$ 6%), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 86
Tabela 22	Análise do número de leucócitos ( $>$ e $\leq$ $15,0 \times 10^6/L$ ), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 87
Tabela 23	Análise da contagem de reticulócitos ( $>$ e $\leq$ 5%), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 88
Tabela 24	Análise entre o número de plaquetas ( $>$ e $\leq$ $375 \times 10^9/L$ ), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de	Pag.

	Salvador-Bahia.	89
Tabela 25	Análise da concentração de hemoglobina ( $>$ e $\leq 7,0$ g/dl) e dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 90
Tabela 26	Análises entre biomarcadores clássicos e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 92
Tabela 27	Tabela 27. Análises dos eventos clínicos e quartis extremos (25 e 75) das idades em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 94
Tabela 28	Tabela 28. Análise dos dados clínicos e quartis extremos para os valores de hemoglobina, hemácias, plaquetas e leucócitos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 95
Tabela 29	Análise dos dados clínicos e quartis dos dados bioquímicos para Desidrogenase Láctica, HDL Colesterol, e Ferritina em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 96
Tabela 30	Análise univariada dos eventos clínicos entre idades ( $>$ e $\leq 21$ anos) em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 100
Tabela 31	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 103
Tabela 32	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de crise algica apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 105
Tabela 33	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de sequestro esplênico apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 107
Tabela 34A	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de síndrome torácica aguda apresentada nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 109
Tabela 34B	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de síndrome torácica aguda apresentada nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 110

Tabela 35	Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de úlcera maleolar apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 112
Tabela 36	Soroprevalência nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 116
Tabela 37	Análise entre soroprevalência positiva e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.	Pag. 117

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\varepsilon$	<i>épsilon</i>
$\delta$	<i>delta</i>
$\beta$	<i>beta</i>
$\varphi\beta$	<i>pseudogene beta</i>
AC	Heterozigoto para hemoglobina C
AF	Anemia Falciforme
ALT	Alanina Transaminase
APAE	Associação de Pais e Amigos de Excepcionais
AS	Heterozigoto para hemoglobina S
ASLO	Antiestreptolisina O
AST	Aspartato Transaminase
Atp	Haplótipo Atípico
AVC	Acidente Vascular Cerebral
Ben	Haplótipo Benin
Cam	Haplótipo Camarões
CAR	Haplótipo Bantu
CC	Homozigoto para Hemoglobina C
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CPqGM	Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz
ddNTP	Dideoxynucleosídeos Trifosfatados
dNTP	Desoxynucleosídeos Trifosfatados
DP	Desvio Padrão
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetrácetico di-Sódico
EIE	Ensaio Imunoenzimático
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
FF-UFBA	Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia
FIOCRUZ	Fundação Instituto Oswaldo Cruz
H&L	Teste Hosmer e Lemeshow
HAI	Hemaglutinação Indireta
HAPLO	Haplótipos Ligados ao Grupo de Genes da Globina beta S
Hb	Hemoglobina

HbA1	Hemoglobina 1 do Adulto
HbA2	Hemoglobina 2 do Adulto
HbC	Hemoglobina C
HbD	Hemoglobina D
HbE	Hemoglobina E
HbF	Hemoglobina Fetal
HBG1	Gene Gama Alanina
HBG2	Gene Gama Glicina
HbS	Hemoglobina S
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HEMOBA	Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia
Hm	Hemácias
HPLC	Cromatografia Líquida de Alto Desempenho
HS1	Sítios hipersensíveis à DNase I
HS2	Sítios hipersensíveis à DNase I
HS3	Sítios hipersensíveis à DNase I
HS4	Sítios hipersensíveis à DNase I
HS5	Sítios hipersensíveis à DNase I
Ht	Hematócrito
IC	Intervalo de Confiança
IFI	Imunofluorescência indireta
Kb	Kilobases
KD	KiloDáton
LCR	Região Controladora do Locus da Globina Beta
LDH	Desidrogenase Láctica
LDL	Colesterol de Baixa Densidade
LPBM	Laboratório de Patologia e Biologia Molecular
NO	Óxido Nítrico
PAM	Percentual de Acerto do Modelo de Regressão
pb	Pares de Bases
PCR	Reação da Polimerase em Cadeia
PCR-RFLP	PCR-Polimorfismo de Tamanhos Fragmentos de Restrição
Primer	Oligonucleotídeos Sintéticos
RP	Razão de Prevalência



RP	Razão de Probabilidade
SC	Heterozigoto duplo para as hemoglobinas S e C
Sen	Haplótipo Senegal
SESAB	Secretaria da Saúde do estado da Bahia
SPSS	do “ <i>inglês Statistical Package for Social Sciences</i> ”
SS	Homozigoto para Hemoglobina S
STA	Síndrome Torácica Aguda
TA	Talassemia Alfa
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UFBA	Universidade Federal da Bahia
VCAM	Molécula de adesão à célula vascular
VCM	Volume corpuscular médio
VDRL	do “ <i>Inglês Venereal Disease Research Laboratories Test</i> ”

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>		Pag. 09
<b>ABSTRACT</b>		Pag. 12
<b>LISTA DE ILUSTRAÇÕES</b>		Pag. 15
<b>LISTA DE TABELAS</b>		Pag. 17
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b>		Pag. 21
<b>SUMÁRIO</b>		Pag. 24
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	Pag. 26
1.1	Epidemiologia da Hemoglobina S	Pag. 26
1.2	Características Clínicas da Anemia Falciforme	Pag. 27
1.3	Marcadores de Prognósticos na Anemia Falciforme	Pag. 31
1.3.1	A Hemoglobina Fetal	Pag. 31
1.3.2	Haplótipos Ligados ao Grupo de Gene <i>Beta</i>	Pag. 32
1.3.3	Região Controladora do Locus da Globina <i>Beta</i>	Pag. 36
1.3.4	Talassemia Alfa	Pag. 37
<b>2</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	Pag. 40
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	Pag. 43
3.1	Objetivo Geral	Pag. 43
3.2	Objetivos Específicos	Pag. 43
<b>4</b>	<b>CASUÍSTICA</b>	Pag. 44
4.1	Desenho e dados do estudo	Pag. 44
<b>5</b>	<b>MÉTODOS</b>	Pag. 47
5.1	Coleta das amostras	Pag. 47
5.2	Análises Hematológicas	Pag. 47
5.3	Análises Bioquímicas	Pag. 47
5.4	Análises Sorológicas	Pag. 48
5.5	Perfil de Hemoglobinas	Pag. 48
5.6	Análise Molecular	Pag. 48
5.6.1	Talassemia Alfa	Pag. 49
5.6.2	Determinação dos haplótipos ligados aos genes da globina beta	Pag. 50
5.6.3	Amplificação Gênica para a LCR	Pag. 51
5.6.4	Sequenciamento dos Fragmentos Amplificados para Análise da	

	LCR	Pag. 51
5.7	Dados Clínicos	Pag. 52
5.8	Análise Estatística	Pag. 52
5.8.1	Distribuição das Variáveis	Pag. 52
5.8.2	Análise de Variáveis Qualitativas ou Categóricas	Pag. 53
5.8.3	Análise Multivariada – Regressão Logística	Pag. 53
5.8.4	Curva da Característica Operativa do Receptor (Curva Roc)	Pag. 56
<b>6</b>	<b>RESULTADOS</b>	Pag. 57
6.1	Principais Características Demográficas e Laboratoriais Apresentadas pelos Pacientes com Anemia Falciforme	Pag. 57
6.2	Haplótipos Ligados ao Grupo de Genes da Globina Beta S e Talassemia Alfa: Associação com Dados Laboratoriais	Pag. 63
6.3	Análises das Principais Características Clínicas, Dados Hematológicos e Bioquímicos em Pacientes com Anemia Falciforme	Pag. 74
6.4	Biomarcadores Clássicos, Dados Hematológicos e Bioquímicos Em Pacientes Com Anemia Falciforme	Pag. 85
6.5	Biomarcadores Clássicos e História Clínica em Pacientes com Anemia Falciforme	Pag. 91
6.6	Análise Combinatória entre a História Clínica e Marcadores Clássicos Utilizando Mediana de Quartis	Pag. 93
6.7	Análise de Correlação Bivariada	Pag. 97
6.8	Análise Univarida entre Idade e História Clínica	Pag. 99
6.9	Análise Multivariada em Modelos com Variáveis Clínicas Dependentes e Marcadores Clássicos de Prognósticos na Anemia Falciforme	Pag. 102
6.10	Análise Utilizando a Curva ROC	Pag. 113
6.11	Diagnóstico Sorológico (Soroprevalência)	Pag. 115
6.12	Frequências dos Polimorfismos Identificados na Região Controladora do Locus da Globina Beta	Pag. 118
6.13	Polimorfismos na Região Controladora do Locus da Globina Beta e sua Associação com Dados Clínicos e Hematológicos dos Pacientes	Pag. 126
		Pag. 115

<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	Pag. 127
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	Pag. 139
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	Pag. 143
	<b>ANEXOS</b>	Pag. 177

## 1. INTRODUÇÃO

A hemoglobina S é decorrente da mutação pontual (GAG>GTG) no sexto códon do gene da *globina beta*, com substituição do ácido glutâmico por valina na sexta posição da cadeia polipeptídica beta (GONÇALVES et al., 2003; STEINBERG, 2001). Esta mudança permite a HbS polimerizar em tensões baixas de oxigênio em um fenômeno denominado de falcização (MARZOUKI & KHOJA, 2005). A falcização modifica a estrutura do eritrócito tornando-o mais aderente à parede vascular da microcirculação, caracterizando o principal evento clínico nestes indivíduos (BALLAS & MOHANDAS, 1996). A Anemia Falciforme (AF) é uma herança autossômica recessiva caracterizada pela homozigose da HbS (SS), sendo que a quantidade elevada desta hemoglobina variante diminui a vida média eritrocitária, proporcionando a obstrução de vasos sanguíneos de calibre pequeno e médio, com formação de trombos e infarto teciduais, que podem ser acompanhados por fibrose e calcificação (WANG & LUKENS, 1998).

Os indivíduos heterozigotos para a hemoglobina S (AS) têm hemácias com aproximadamente 20 a 45% de hemoglobina variante e são hematologicamente normais e assintomáticos com expectativa de vida semelhante a da população geral. A associação da hemoglobina S com outras hemoglobinas variantes como as hemoglobinas C, D, E ou hemoglobinopatia de síntese, compõe as denominadas doenças falciformes (WEATHERALL & PROVAN, 2000; ANVISA, 2001, NIH, 2002). Entretanto, a AF é a que apresenta a forma clínica mais grave quando comparada a outras doenças falciformes, como as hemoglobinopatias SC e S $\beta$  talassemia.

### 1-1 EPIDEMIOLOGIA DA HEMOGLOBINA S

A hemoglobina S possui frequência elevada na África, principalmente na região Centro-Ocidental, Atlântico-Ocidental e Sul. O gene *Beta S* apresenta frequência entre 0,12 a 0,14 no Congo e Zaire e de 0,08 a 0,10 no Senegal. A hemoglobina S também é encontrada em países do Mediterrâneo, incluindo a Itália e Grécia, bem como na Arábia Saudita, Kuwait e Índia. Nos Estados Unidos da América, aproximadamente 8% da população negróide é portadora da HbS, estimando-se o nascimento de 1/625 crianças com AF nos Estados Unidos (WANG & LUKENS, 1998).

A dispersão dos genes para as hemoglobinas variantes no Brasil está intimamente relacionada à formação étnica da população brasileira, envolvendo o processo de colonização.

Posteriormente, pelas necessidades de povoamento, vários povos de diferentes etnias imigraram para o Brasil. Portanto, a população apresenta diversidade nas origens raciais, com grau de miscigenação variado, fato que certamente influenciou a prevalência de hemoglobinas variantes nas diversas regiões do Brasil (ZAGO et al., 1983; NAOUM et al., 1987, SILVA et al., 1993, BEIGUELMAN, 1995; ORLANDO et al., 2000).

O gene *beta S* apresenta distribuição heterogênea entre os diferentes estados brasileiros, variando de acordo com a região estudada. RAMALHO (1986) descreveu a frequência de 6,6% para os heterozigotos AS na população negróide do estado de São Paulo (Sudeste do Brasil); BRANDELISE e col. (2004) descreveram a incidência de 0,02% para as doenças falciformes HBSS e HBSC durante o programa de triagem neonatal realizado em Campinas, que envolveu 281.884 recém-nascidos.

Em Porto Alegre, região Sul do Brasil, DAUDT e col. (2002) encontraram 1,2% do gene *S* entre recém-nascidos; em Caxias do Sul, foi descrita a frequência de 0,09% para os heterozigotos AS entre doadores de sangue com descendência italiana (LISOT & SILLA, 2004). No estado de Minas Gerais, o programa de triagem neonatal detectou um caso de doença falciforme para cada 1591 nascimentos (SERJEANT, 2000).

Na região Nordeste, BANDEIRA e col. (1999) descreveram a frequência de 5,1% para os heterozigotos AS e a prevalência de 0,2% para a doença falciforme no estado de Pernambuco. Em Natal, Rio Grande do Norte, ARAÚJO e col. (2004) encontraram 1,5% de recém-nascidos heterozigotos AS e a incidência de 0,05% portadores da AF. O estado da Bahia apresenta a maior frequência brasileira para a HbS com 7,4% para o genótipo AS como descrito em estudo realizado em 1.200 crianças em idade escolar (AZEVEDO et al., 1980), com variação associada ao grupo populacional estudado; ADORNO e col. (2005) descreveram a frequência de 9,8% para os heterozigotos AS; 0,9% para os heterozigotos duplos SC e de 0,2% para os indivíduos com AF ao estudarem recém-nascidos de uma maternidade pública da cidade de Salvador-BA. SILVA e col. (2006) encontraram na triagem neonatal realizada pela APAE (Associação de Pais e Amigos de Excepcionais), uma criança com AF a cada 600 nascimentos, sendo a Bahia o estado que apresenta a maior incidência brasileira.

## 1.2 CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA ANEMIA FALCIFORME

Os portadores da AF possuem quadro clínico heterogêneo, com retardo no crescimento e desenvolvimento, além de alterações em diversos órgãos, que são decorrentes da hemólise contínua e dos fenômenos de vaso-oclusão apresentados durante o curso da doença (BUNN & FORGET, 1986; WEATHERALL & PROVAN, 2000; STEINBERG, 2009).

Vários fatores contribuem para a diversidade fenotípica da AF, como os níveis de hemoglobina fetal (KOTILA et al., 2000; ADEKILE et al., 2002), os diferentes haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* (EL-HAZMI et al., 1999; CUELLAR-AMBROSI et al., 2000), a presença da talassemia alfa (MOHANTY & MUKHERJEE, 2002), os fatores nutricionais (concentrações séricas de ácido fólico e vitamina B12) e ambientais (variações na temperatura atmosférica) (BARDEN et al., 2002; LYRA et al., 2005) e a associação com mutações ou polimorfismos em outros genes como o da enzima *metilenotetrahidrofolato redutase, fator V de Leiden e protrombina* (JAKUBIK & THOMPSON, 2000; WEST et al., 2002).

A importância da vaso-oclusão na fisiopatologia da AF tem sido amplamente discutida (MOUSA & QARI, 2010). As manifestações vaso-oclusivas e dolorosas constituem os principais eventos clínicos da doença, sendo decorrentes da oclusão microvascular em um ou mais tecidos, promovendo dor e inflamação local. Algumas evidências têm demonstrado a natureza multifatorial e heterocelular da vaso-oclusão. A causa multifatorial é dependente principalmente da taxa de polimerização da hemoglobina S nas hemácias durante o trânsito pelo sistema microvascular, adesão das células sanguíneas, desidratação eritrocitária, e desregulação vasomotora (MOUSA ET AL., 2010).

Embora conceitualmente simples, os mecanismos conducentes à vaso-oclusão na anemia falciforme são complexos e ainda não completamente conhecidos. Habitualmente, esse fenômeno ocorre na microcirculação; no entanto, mesmo artérias grandes, principalmente em pulmões e cérebro, podem ser afetadas (STUART & NAGEL, 2004). Este fenômeno inclui elementos das hemácias falciformes, reticulócitos, das células endoteliais, das plaquetas e dos leucócitos (COSTA In: ZAGO et al., 2004; CONRAN et al., 2007).

As interações moleculares responsáveis pela adesão das hemácias falcizadas ao endotélio também incluem as moléculas de adesão intercelular presentes na membrana dos reticulócitos, que são capazes de se ligar à fibronectina e à molécula de adesão vascular I (VCAM-1) na superfície

das células endoteliais. Além disso, tanto as células endoteliais como uma população de reticulócitos expressam CD36, que tem a propriedade de se ligar à trombospondina secretada pelas plaquetas ativadas. Este conjunto de mecanismos perturba a função normal do endotélio, rompendo o equilíbrio entre vasodilatação e vasoconstricção (COSTA In: ZAGO et al., 2004; STUART & NAGEL, 2004).

As crises vaso-oclusivas frequentemente estão associadas à febre, e podem ou não ser decorrentes de processos infecciosos. As infecções graves constituem a maior causa de morbimortalidade em crianças com AF (BERGER et al., 2009). O *Streptococcus pneumoniae* é o patógeno mais comumente envolvido em infecções e tem sido isolado em até 80% dos casos de meningite entre as crianças com idade menor que cinco anos, sendo a incidência de bacteremia e meningite 300 vezes maior que na população geral (CHULAMOKHA et al., 2006; ROGOVIK et al., 2010). Outros patógenos também estão envolvidos nesses processos infecciosos, como *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus* e *Shigella* sp; *Mycoplasma pneumoniae* e infecções virais pelo parvovirus B19, vírus C da hepatite, vírus da imunodeficiência humana (GERMAIN et al., 1999; CORCORAN & DOYLE, 2009; ODEY et al., 2009; YUSUF et al., 2010).

Os eventos de dor aguda correspondem às manifestações clínicas mais comuns da AF, que se apresenta de forma bastante heterogênea. Os episódios de dor e inchaço dos pés e das mãos (dactilite) são mais frequentes nos dois primeiros anos de vida. Após este período, a interrupção do fluxo sanguíneo nas extremidades de ossos grandes e estruturas periarticulares levam ao desenvolvimento de crises de dor, principalmente na tíbia, úmero e fêmur (BALLAS, 2007; GELLER & O'CONNOR, 2008; SMITH et al., 2008).

As crises dolorosas constituem manifestações clínicas comuns na AF, sendo caracterizadas como episódios dolorosos agudos ou crônicos (KOTILA, 2005; AL-HAGGAR, 2006). Evidências para intervenções com analgesia nas crises agudas são limitadas, considerando que os resultados da maioria dos estudos são subestimados, não havendo informações suficientes para comparações interinstitucionais.

A crise de sequestro esplênico é mais frequente também nos dois primeiros anos de vida, sempre acompanhada de reticulocitose, podendo acarretar em colapso circulatório que pode levar ao óbito por anemia e choque hipovolêmico (ARAUJO, 2009; REZENDE et al., 2009).



A síndrome torácica aguda (STA) é uma causa frequente de mortalidade em adultos jovens, com quadro caracterizado por febre, dor no peito, tosse, leucocitose e infiltrado pulmonar, sendo associada a causas multifatoriais, incluindo infecção pulmonar, infarto, embolia pulmonar, trombose localizada na microvasculatura, lesão vascular e inflamação (OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001; STUART & NAGEL, 2004; PASHANKAR et al., 2008; MURTUZA et al., 2009). A síndrome torácica aguda geralmente é descrita com o aparecimento de infiltrado pulmonar novo no RX de tórax, na presença de febre ou sintomas respiratórios, cuja natureza é de difícil diagnóstico clínico (PLATT, 1998; VICHINSKY et al., 2000).

As úlceras maleolares constituem os sítios mais comuns de ulcerações na doença falciforme e outras anemias hemolíticas (SAWHNEY et al., 2002). As lesões são, em sua maioria, de origem traumática, existindo variação do período de cicatrização, que pode acontecer entre três e seis meses (SERJEANT et al., 2005). A úlcera de perna possui prevalência elevada em adultos jovens, com frequência de 5 a 10% (TRENT et al., 2004; POWARS et al., 2005). A fisiopatologia desta manifestação clínica não está completamente esclarecida, apesar da rigidez elevada das hemácias contendo HbS estar associada a dificuldade de circulação sanguínea através dos capilares da derme (LIONNET et al., 2008, HALABI-TAWIL et al., 2008).

A prevalência de úlcera maleolar pode ser elevada em pacientes com AF, atingindo 43% quando associada à deficiência vascular no mesmo membro (CLARE et al., 2002). POWARS e col. (2005) demonstraram que condições clínicas como úlcera de perna, osteonecrose e retinopatia são indicadores de risco para a ocorrência de lesões em órgãos e óbito precoce, havendo necessidade de terapia preventiva de progressão das vasculopatias.

O priapismo, uma complicação que ocorre frequentemente em homens jovens, é decorrente da interrupção do fluxo sanguíneo nos corpos cavernoso e esponjoso devido à presença de hemácias falcizadas (OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001; JESUS & DEKERMACHER, 2009). A falha na detumescência pode ser devida a numerosos fatores: vasooclusão no fluxo de saída do sangue, liberação excessiva de neurotransmissores, relaxamento prolongado do músculo liso ou ainda a combinação destes episódios. Acredita-se que estes possam estar associados a desidratação

e hipoventilação, condições que causam acidose metabólica, levando ao aumento da rigidez do eritrócito e conseqüentemente a falcização. Os efeitos da eritroestase no endotélio vascular resultam na reação inflamatória e subsequente fibrose do trabéculo esponjoso (POWARS, 1990; SHARPSTEEN et al., 1993).

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma complicação grave associada à mortalidade elevada, principalmente em crianças entre 2 e 5 anos de idade, com redução de sua incidência entre 10 e 19 anos (OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001; STUART & NAGEL, 2004; FRIEDMAN, 2009; ROSEFF, 2009; VERDUZCO & NATHAN, 2009). A monitorização com o doppler transcraniano possibilita a identificação de crianças propensas a desenvolver AVC, prevenindo a ocorrência da primeira crise e favorecendo a utilização de politransfusões sanguíneas como profilaxia (PRENGLER et al., 2002).

### **1-3 MARCADORES DE PROGNÓSTICOS NA ANEMIA FALCIFORME**

Apesar dos indivíduos com AF possuírem uma alteração genética comum, vários fatores são descritos por alterarem o quadro clínico da doença, entre eles encontram-se variações nos níveis da hemoglobina fetal (HbF), tipo de haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta*, mutações nas regiões promotoras dos genes da *globina gama* (*HBG1* e *HBG2*), presença de variações nos sítios hipersensíveis à DNase I (HS1-5) na região controladora do locus da *globina beta S* (LCR) e presença de talassemia alfa (BUNN, 1994; CHANG et al., 1997; STEINBERG, 2001; BUZINA et al., 2008).

#### **1.3.1 A HEMOGLOBINA FETAL**

A hemoglobina fetal inibe a polimerização da HbS com formação de um híbrido assimétrico composto por cadeias polipeptídicas das duas hemoglobinas ( $\alpha_2\beta^S\gamma$ ), sendo que o híbrido resultante interage com os sítios envolvidos na estabilização dos polímeros formados pela HbS desoxigenada (STUART & NAGEL, 2004). No entanto, BHAUMIK (1994) demonstrou que os híbridos HbS/HbF formados pelas cadeias HBG1 possuem estabilidade maior que os formados com a cadeia HBG2. A presença da alanina na posição 136 da cadeia gama parece interferir na interação entre as cadeias  $\gamma$  e  $\beta^S$ , diminuindo o efeito na prevenção da polimerização da HbS.

Os níveis elevados da HbF estão comumente associados a diminuição da gravidade clínica, redução das crises de dor, transfusões e hospitalizações, além da diminuição da mortalidade entre crianças e adultos com AF (ODENHEIMER et al., 1987; ENOSOLEASE et al., 2005). Recentemente, tem havido um progresso significativo na utilização de medicamentos que aumentam a produção de HbF, melhoram a hidratação do glóbulo vermelho e elevam a disponibilidade de óxido nítrico (NO) e que possuem efeitos anti-inflamatórios. Neste contexto, diversas drogas citotóxicas, tais como hidroxiuréia, 5-azacitidina, fatores de crescimento hematopoiético (eritropoetina) e ácidos graxos de cadeia curta (butirato e derivados) têm sido utilizadas no tratamento da AF, uma vez que podem estimular a síntese da HbF em decorrência de mecanismos diversos (STUART & NAGEL, 2004; ATAGA, 2009; THEIN et al., 2009; WARE & AYGUN, 2009;).

### **1.3.2 HAPLÓTIPOS LIGADOS AO GRUPO DE GENE *BETA***

A descoberta dos haplótipos do gene *beta S* foi considerada como elemento importante de análise antropológica para estudo das composições populacionais, bem como elementos de estudo clínico, os quais podem fornecer dados preditivos acerca da evolução da doença e de seu nível de gravidade (POWARS, 1991) (Figura1).

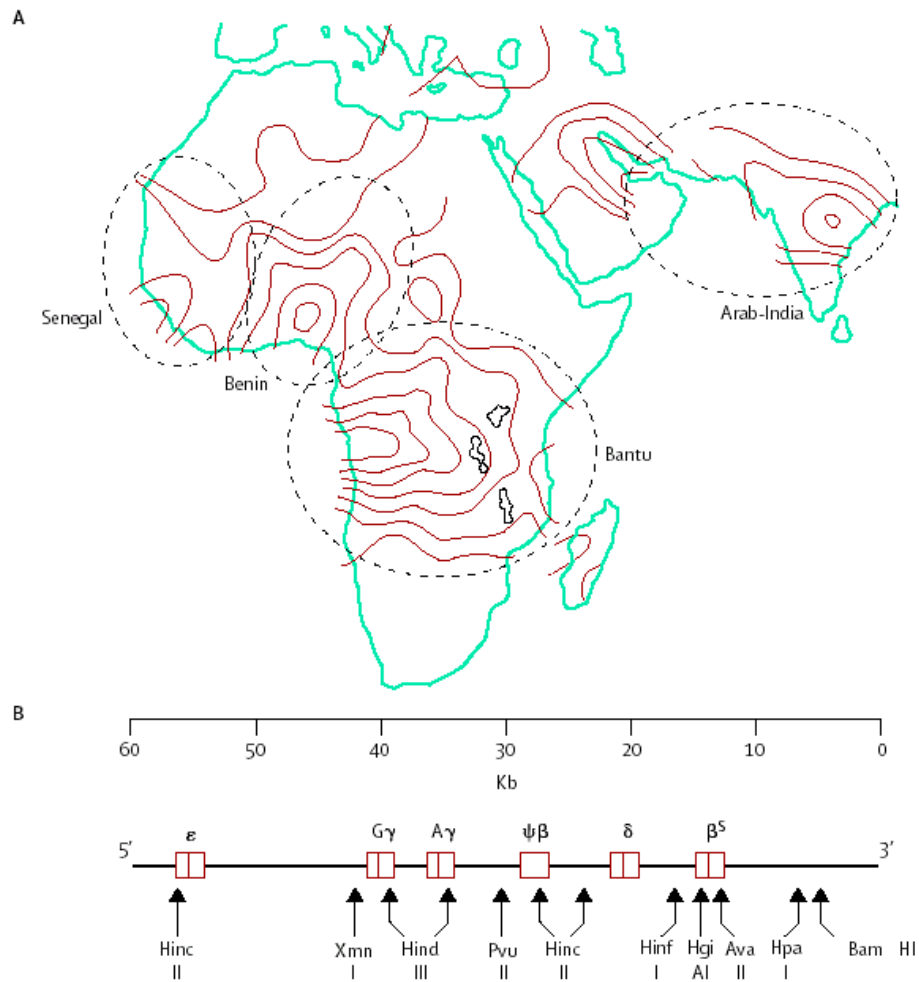


Figura 1A. Distribuição geográfica dos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* na África e regiões do Oriente Médio. 1B. Sequência de polimorfismos genéticos localizados no cromossomo 11, com o padrão de clivagem para diferentes endonucleases de restrição (Adaptado de STUART & NAGEL, 2004).

Os haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* têm sido classificados em cinco genótipos diferentes, de acordo com a sua origem e área geográfica onde predominam. O haplótipo Benin (Ben) tem sido associado à África Ocidental; o Bantu ou República Centro Africana (CAR) à África Oriental e Centro-Sul; o Senegal (Sen) à África Atlântico Ocidental; o Arábia Saudita-Índia (Saudi) a Península Arábica Oriental e o Camarões (Cam) à costa ocidental africana (NAGEL, 1984; PAGNIER et al., 1984).

Estes haplótipos também estão relacionados ao quadro clínico heterogêneo e níveis variados de HbF. O haplótipo Sen tem sido associado a níveis elevados de HbF, geralmente superiores a 15%, com curso clínico menos grave; o Ben a níveis médios de HbF, entre 5 e 15%, com curso clínico intermediário; o haplótipo CAR apresenta níveis diminuídos de HbF, geralmente menor que 5%, com quadro clínico mais grave. O haplótipo Saudi apresenta níveis elevados de HbF, porém com curso clínico heterogêneo (NAGEL, 1984; POWARS, 1991; RAHGOZAR et al., 2000).

Estes haplótipos refletem variações polimórficas em elementos cis regulatórios, os quais podem alterar a ligação de proteínas que ativam ou reprimem a transcrição gênica, modificando o balanço recíproco entre a expressão dos genes *beta S e  $\gamma$* . A variação em elementos cis pode ser decorrente da presença do polimorfismo -158 C > T no gene gama alanina (*HBG1*) que está associado à presença do sítio para a enzima de restrição *Xmn I* na região 5' do gene (*HBG1*). Este polimorfismo está presente nos haplótipos Sen e Saudi, sendo fortemente relacionado a níveis elevados de HbF e expressão aumentada do gene *HBG1*, quando comparado ao gene gama glicina (*HBG2*) (OFORI-ACQUACH et al., 1999; NAGEL & STEINBERG, 2001; STEINBERG, 2001). OFORI-ACQUAH e col. (2004) demonstraram a influência dominante de polimorfismos na região promotora dos genes  $\gamma$  sobre a síntese da HbF em indivíduos com AF.

No Brasil, alguns estudos relacionados aos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* já foram realizados, sendo descritas características bem peculiares na nossa população, tais como, um grupo de indivíduos portadores dos genótipos CAR/Ben e CAR/CAR com níveis elevados de HbF e a presença de haplótipos denominados atípicos, devido ao fato de não se enquadrarem em nenhum dos tipos já descritos, apresentando frequência de 8% (LANCLOS et al., 1991; ZAGO et al., 1992; COSTA et al., 1994; GONÇALVES, 1994; ADORNO et al., 2004; LYRA et al., 2005). O quadro 1 sumariza a frequência dos haplótipos realizados em vários grupos da população brasileira.

Quadro 1. Distribuição (%) dos haplótipos ligados aos genes da *globina beta* em algumas regiões brasileiras.

<b>POPULAÇÃO</b>	<b>Nº DE CROMOSSOMOS</b>	<b>CAR Nº (%)</b>	<b>BENIN Nº (%)</b>	<b>SENEGAL Nº (%)</b>
<b>Ribeirão Preto (SP) Zago (1992)</b>	67	49 (73,1)	17 (25,4)	01 (1,5)
<b>São Paulo (SP) Figueiredo (1996)</b>	170	96 (56,5)	58 (34,1)	0 (0,0)
<b>Porto Alegre Daudt (2002)</b>	49	39 (79,6)	09 (18,4)	01 (2,0)
<b>Salvador (BA) Gonçalves (2003)</b>	160	77 (48,1)	73 (45,6)	02 (1,3)
<b>Salvador (BA) Adorno (2004)</b>	176	68 (38,7)	75 (42,5)	0
<b>Salvador (BA) Lyra (2005)</b>	140	68 (48,0)	68 (48,0)	1 (0,7)
<b>Fortaleza (CE) Galiza-Neto (2005)</b>	34	14 (41,2)	19 (55,9)	1 (2,9)
<b>Fortaleza (CE) Galiza-Neto (2005)</b>	68	45 (66,2)	15 (22,0)	0 (0,0)
<b>Belém (PA) Cardoso &amp; Guerreiro (2006)</b>	260	172 (66,2)	57 (21,9)	28 (10,8)
<b>Rio de Janeiro (RJ) Fleury (2007)</b>	148	80 (54,0)	66 (44,6)	02 (1,4)
<b>Salvador (BA) Adorno (2008)</b>	250	106 (42,4)	138 (55,2)	20 (8,0)
<b>Salvador (BA) Barbosa (2008)</b>	288	122 (42,4)	150 (52,1)	4 (1,4)
<b>Média Brasileira</b>	<b>1810</b>	<b>936 (53,8)</b>	<b>745 (42,8)</b>	<b>60 (3,5)</b>

### 1.3.3 REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS DA GLOBINA BETA

O complexo da globina beta (Figura 2) está localizado no braço curto do cromossomo 11 e inclui cinco genes funcionais denominados *épsilon* ( $\epsilon$ ), *gama alanina* (*HBG1*), *gama glicina* (*HBG2*), *delta* ( $\delta$ ) e *beta* ( $\beta$ ), dispostos na ordem de ativação, incluindo também a presença do *pseudogene beta* ( $\phi\beta$ ) (WEATHERAL & CLEGG, 2001; XIANG-HUI, 2002).

A região controladora do locus (LCR) da globina beta é uma região fundamental a regulação do grupo de genes da *globina beta*, sendo composta por cinco sítios hipersensíveis à digestão pela DNase I, identificados por HS e numerados de um a cinco (TUAN et al., 1985; FORRESTER et al., 1986; JACKSON et al., 1996). Estes sítios estão localizados entre seis a 21 Kb na posição 5' anterior ao *gene épsilon* ( $\epsilon$ ) (TARAMELLI et al., 1986; FORRESTER et al., 1990). A LCR é uma região regulatória e algumas de suas propriedades são: 1) criar abertura na cromatina tornando-a mais acessível aos fatores de transcrição de ação trans (LANGDON & KAUFMAN, 1998); 2) alterar a estrutura cromatínica e o padrão de replicação do DNA em sequências que se estendem por aproximadamente 200 Kb ou mais (FORRESTER et al., 1990); 3) interagir entre cada gene da globina. A LCR é exclusiva da família de genes da *globina beta* e regula a síntese de cadeias de acordo com o estágio do desenvolvimento humano e o tecido específico (GARNER et al., 2002; WYSZYNSKI et al., 2004).

A LCR possui desta forma, papel crítico na expressão da família beta, exercendo atividades de estimulação, inibição ou funções mais complexas, tais como a interação com fatores de transcrição e com a RNA polimerase (YANG & PACE, 2001; OFORI-ACQUAH et al., 2001; STAMATOYANNOPOULOS, 2005).

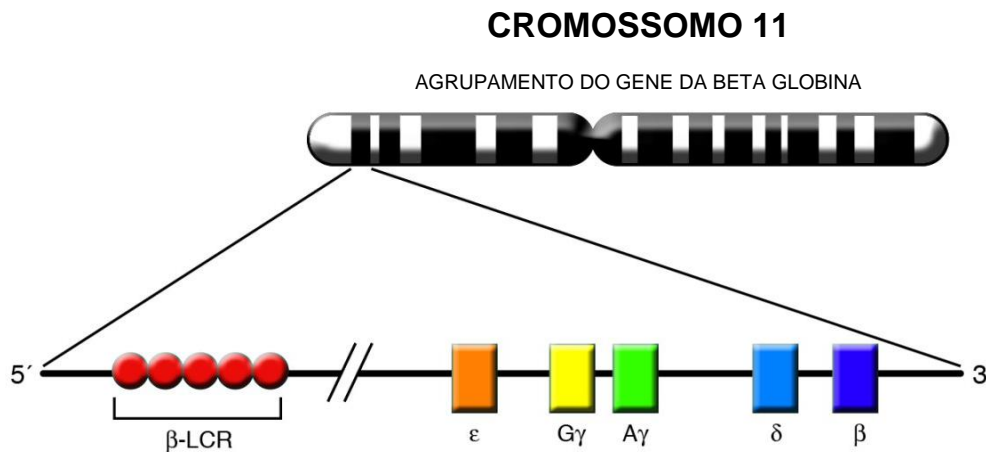


Figura 2. Representação esquemática das famílias gênicas da globina beta, incluindo a LCR e os genes funcionais (BANK, 2005, com modificações).

### 1.3.4 TALASSEMIA ALFA

As talassemias compreendem um grupo heterogêneo de alterações hereditárias causadas por mutações que afetam os genes reguladores alfa e promovem desequilíbrio no conteúdo quantitativo das globinas, que pode ser total ou parcial, e conseqüentemente a diminuição dos componentes normais das hemoglobinas (WHO, 1989).

As talassemias ocorrem em frequência elevada no Mediterrâneo, África, Oriente Médio, Índia e sudoeste da Ásia. Além da importância médica, como o grupo mais comum de patologia monogênica na população mundial, proporcionam uma variedade de modelos de ocorrência natural para estudos de regulação da síntese das Hb, do seu desenvolvimento genético e da sua relação antropológica (WEATHERALL, 1997; STEINBERG, 2009).

A combinação da talassemia alfa (TA) com outras cadeias beta variantes está relacionada com a diminuição da concentração relativa da hemoglobina variante (SONATI, 1990; LEE et al., 1992; COUTO et al., 2003). A redução da síntese da cadeia da globina alfa resulta em modificações nos parâmetros hematológicos, com diminuição do grau de hemólise e desidratação celular, além de



aumentar a relação entre o volume e a membrana celular das hemácias nos pacientes com AF (SONATI, 1990; TAKEKOSHI et al., 1995).

A coexistência da TA com a AF, além de proporcionar sobrevida maior, também reduz a ocorrência de úlceras crônicas na região maleolar de membros inferiores. Contudo, com a consequente redução da hemólise e aumento do hematócrito, pode haver elevação da viscosidade sanguínea, sendo risco para as manifestações vaso-oclusivas (STEINBERG, 1995), elevando a gravidade e a frequência de crises dolorosas e outras complicações clínicas, como necrose óssea e retinopatias (SADELAIN et al., 1995; ADORNO et al., 2004; LYRA et al., 2005).

A figura 3 apresenta a representação esquemática da talassemia alfa e os diferentes haplótipos da globina beta e sua associação com a diversidade fenotípica presente na AF.

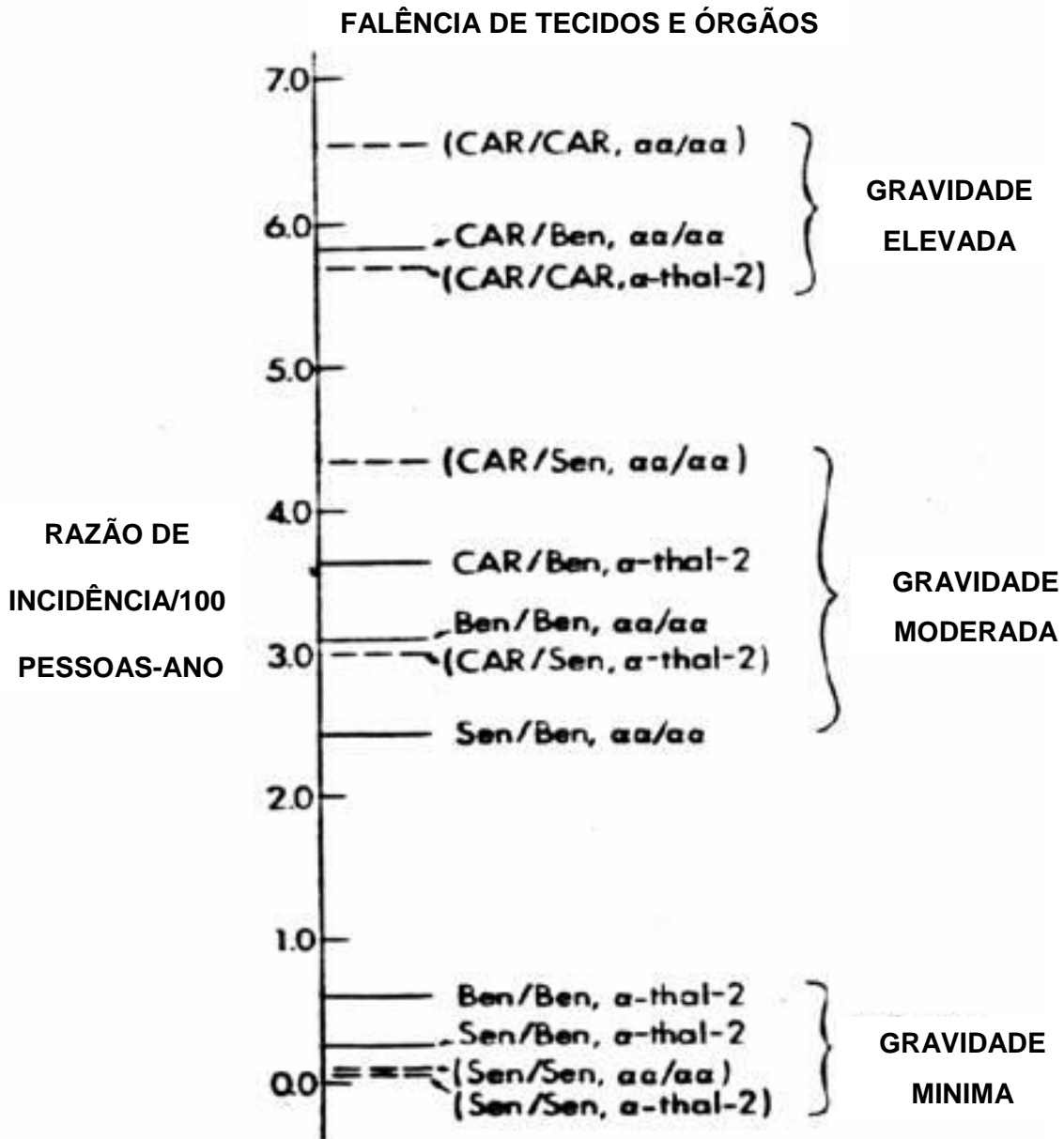


Figura 3. Descrição do prognóstico clínico associado aos pacientes com anemia falciforme na presença e ausência de talassemia  $\alpha$  (alfa) e dos diferentes haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* (Adaptado de POWARS, 1991).

## 2. JUSTIFICATIVA

A anemia falciforme é caracterizada pela homozigose da HbS, decorrente da mutação pontual no sexto códon do gene da *globina Beta* (GAG>GTG). No entanto, os portadores da AF apresentam perfil clínico bastante heterogêneo em função de fatores variados que contribuem para a modulação da doença (STEINBERG, 1995; YANG & PACE, 2001). A hemoglobina fetal é um dos fatores moduladores do fenótipo da AF mais estudados, cujos níveis elevados têm sido associados ao quadro clínico menos grave da doença, com redução dos eventos de crises dolorosas, uso de transfusão sanguínea e de internações (ODENHEIMER et al., 1987; PLATT et al., 1991). Os efeitos benéficos da HbF estão baseados na redução proporcional da HbS no interior da hemácia e na inibição do fenômeno de polimerização (BOOKCHIN et al., 1977; STUART & NAGEL, 2004).

A diversidade fenotípica da AF também tem sido associada à presença de haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* que podem estar relacionados ao quadro clínico heterogêneo da doença. Esses haplótipos têm sido correlacionados aos níveis de HbF e a origem geográfica da mutação (POWARS, 1991; NAGEL & STEINBERG, 2001). No Brasil, os haplótipos CAR e Ben são os mais prevalentes, sendo descrita a frequência de 66,2% para o CAR e 23% para o Ben na população negra do sudeste brasileiro (ZAGO et al., 1992) e de 66,7% para o haplótipo CAR e 30,0% para o Ben na região Norte do país (PANTE-DE-SOUZA, et al., 1998). COSTA e col. (1994) estudaram os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em indivíduos com AF dos estados de São Paulo e Bahia, demonstrando diferenças entre as duas regiões, sendo que São Paulo apresentou frequência elevada do haplótipo CAR, diferente do estado da Bahia, que apresentou frequências similares para ambos; FIGUEIREDO e col. (1996) estudaram pacientes com AF de São Paulo e sugeriram que os indivíduos com o haplótipo CAR poderiam apresentar o fenótipo mais grave da doença.

Estudos desenvolvidos na população da cidade do Salvador contribuíram para demonstrar a necessidade da compreensão da história natural da AF no estado da Bahia, bem como a sua caracterização molecular. GONÇALVES e col. (2003) ao estudarem 80 pacientes com AF identificaram comportamento heterogêneo quanto à caracterização molecular dos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* e aos níveis de HbF. Neste estudo, os autores analisaram os dados hematológicos, o perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S*, identificando o total de 77 (48,1%) cromossomos com o haplótipo CAR; 73 (45,6%)

com o Ben; um (0,63%) com o Sen e nove (5,63%) com haplótipo Atípico (Atp). Dezesete (21,3%) pacientes apresentaram o genótipo CAR/CAR; 17 (21,3%) o Ben/Ben; 37 (46,3%) o CAR/Ben; um (1,25%) o Ben/Sen; um (1,25%) o Ben/Atp; seis (7,5%) o CAR/Atp e um (1,25%) o Atp/Atp.

ZAGO e col. (1992) estudaram 37 indivíduos negróides com o gene *beta S* do estado de São Paulo, descrevendo predominância do haplótipo CAR (66,2%) em relação ao Ben (23,0%); o mesmo foi observado por GONCALVES e col. (1994), quando estudaram pacientes com AF de São Paulo e por LYRA e col., (2005), que descreveram o predomínio do haplótipo Ben em Salvador e do haplótipo CAR em São Paulo, em estudo comparativo entre os portadores de AF das duas regiões. Na região Amazônica, norte do país, em estudo desenvolvido em comunidades descendentes de africanos com o gene *beta S* foram descritas as frequências de 60% para o haplótipo CAR; 30% para o Sen e 10% para o Ben; em Belém foi descrita a frequência de 86% para o haplótipo CAR; 9% para o Ben e 4% para o Sen em pacientes com AF (PANTE-DE-SOUSA et al., 1998; 1999). Estes resultados confirmam a heterogeneidade étnica existente no Brasil, decorrente principalmente da imigração intensa de africanos para o país. Ressaltamos que diferente do nordeste, a região norte recebeu contribuição maior de africanos originários do Congo, Moçambique e Angola, onde existe o predomínio do haplótipo CAR, bem como de regiões da África Atlântico-Occidental, onde predomina o haplótipo Sen (FLORENTINO, 1997).

ADORNO e col. realizaram dois estudos no estado da Bahia-Brasil (2004 e 2008). Na primeira fase (2004) analisaram 160 cromossomos *beta S*, descrevendo a frequência ligeiramente maior do haplótipo Ben (48,8%), quando comparada a do haplótipo CAR (46,2%). Além disso, foram encontrados 1,9% do haplótipo Cam, 0,6% do Saudi e 0,6% do Sen, com frequência de 54,0% para o genótipo CAR/Ben, corroborando com os resultados obtidos por GONÇALVES e col. (2003). Em 2008, ADORNO e col. apresentaram diferenças quanto ao tipo de haplótipo predominante, com descrição da frequência de 51.2% (64) para o genótipo CAR/Ben; 28.8% (36) para o Ben/Ben; 14.4%(18) para o CAR/CAR; 1.6%(02) para CAR/Atp; 1.6%(02) Ben/Cam; 0.8% (01) para cada um dos haplótipos CAR/Cam, CAR/Saudi e Sen/Atp.

BARBOSA e col. (2010) estudando 288 cromossomos demonstraram 58 (40.3%) para o CAR/Ben, 43 (30%) para o Ben/Ben, 32 (22.2%) para o CAR/CAR, 4 (2.8%) para o Ben/Sen, 4 (2.8%) para o Ben/ATP, 2 (1.4%) para o Ben/Cam e um (0.7%) para o CAR/Cam.

Os resultados de ADORNO (2005) e BARBOSA (2010) confirmaram a heterogeneidade fenotípica e genotípica dos indivíduos com AF de Salvador-BA, justificando a realização de estudos adicionais que investiguem o papel da HbF e de marcadores biológicos no desenvolvimento clínico da doença, bem como a possível correlação entre a variação nas sequências gênicas encontradas na região promotora dos genes *gama* e o fenótipo dos pacientes que fizeram parte da casuística deste estudo.

De acordo com o exposto e com os resultados previamente alcançados, julgamos de grande importância a realização da investigação da diversidade fenotípica e clínica dos indivíduos com AF em Salvador – Bahia e sua associação com a caracterização molecular da região controladora do locus do gene da *globina beta*, visando a identificação de sequências que potencialmente pudessem interferir na expressão genotípica e fenotípica destes pacientes como a Substituição G>A na posição – 10.677 do gene *LCR-HS2* descrita por ADORNO e col. (2005) nos pacientes portadores do haplótipo Ben que apresentaram níveis elevados de HbF.

A avaliação dos resultados obtidos pelo estudo das concentrações de hemoglobina fetal; análises bioquímicas; dos haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta*; da talassemia alfa e de fatores genéticos poderá fornecer informações importantes relacionadas aos diferentes subfenótipos apresentados pelos pacientes, contribuindo para ampliar os conhecimentos relacionados à gênese dos eventos clínicos e na prevenção das possíveis complicações da gravidade clínica apresentada por esses pacientes, podendo desta forma determinar o prognóstico, facilitando as intervenções necessárias ao acompanhamento clínico.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Identificar sub-fenótipos em pacientes com anemia falciforme com base no estudo de marcadores biológicos.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

**3.2.1** Identificar a participação da talassemia alfa <sup>3.7kb</sup> e dos haplótipos ligados aos grupo de genes da globina *beta S* como fatores prognósticos do perfil clínico e laboratorial dos pacientes;

**3.2.2** Estabelecer o perfil hematológico e bioquímico, identificando biomarcadores de gravidade clínica;

**3.2.3** Caracterizar os sítios hipersensíveis a ação da DNase I da região controladora do locus (LCR-HS2-4) dos genes da globina *beta* associando aos diferentes marcadores investigados, visando estabelecer uma possível influência na gravidade da anemia falciforme.

## 4. CASUÍSTICA

### 4.1 DESENHO E DADOS DO ESTUDO

Foi realizado um estudo de coorte seguido de forma ambispectiva com controle de variáveis observacionais. A casuística foi composta por um total de 2223 pacientes com diagnóstico de AF de ambos os sexos, no período entre 2006 e 2010. Durante o decorrer do estudo foram realizadas associações da presença ou ausência de determinados eventos com desenho de estudo caso-controle. Do total de participantes do estudo, 1227 compareceram para as avaliações hematológicas e moleculares. Com relação as análises bioquímicas, estas só foram realizadas em 468 indivíduos, uma vez que estas avaliações foram implantadas como rotina pelo nosso grupo, somente nos dois últimos dois anos. Enfatizamos que somente as análises realizadas no laboratório de análises clínicas da Faculdade de Farmácia da UFBA foram consideradas para a realização das análises estatísticas.

Todos os pacientes encontravam-se em estado estável da doença, com acompanhamento regular no ambulatório de Hematologia da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA/SESAB.

O estudo foi submetido e aprovado pelo CEP-CPqGM (CAAE 0005.0.225.069-06 de 01/11/2005) e foi desenvolvido de acordo com a Declaração de Helsinki de 1975 e sua revisão em 2000. Os sujeitos participantes concordaram em assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – apêndice I). No caso dos pacientes em idade pediátrica, o termo foi assinado pelo responsável legal.

Os pacientes ou seus responsáveis responderam ao questionário para coleta de dados demográficos, socioeconômicos e clínicos. A complementação relativa aos dados clínicos foi obtida dos prontuários médicos de acompanhamento dos pacientes, sendo que todos os pacientes incluídos no estudo apresentavam seguimento ambulatorial superior a dois anos e seis meses.

Foram excluídos do estudo todos os dados obtidos de pacientes durante o recebimento de transfusões sanguíneas, ocorrência de crises vaso-oclusivas e infecções recentes. Também não foram incluídos no estudo indivíduos que não tiveram confirmação do perfil de hemoglobinas como HbS e os casos de recusa por parte do responsável ou paciente em assinar o TCLE.

Todos os experimentos realizados seguiram as normas de Biossegurança de acordo com a Lei no. 11.105 de 24 de março de 2005, regulamentada pelo decreto no. 5.591 de 22 de novembro de 2005, seguindo as normas técnicas existentes no Manual de Biossegurança de Procedimentos da Comissão Técnica de Biossegurança da FIOCRUZ (2005).



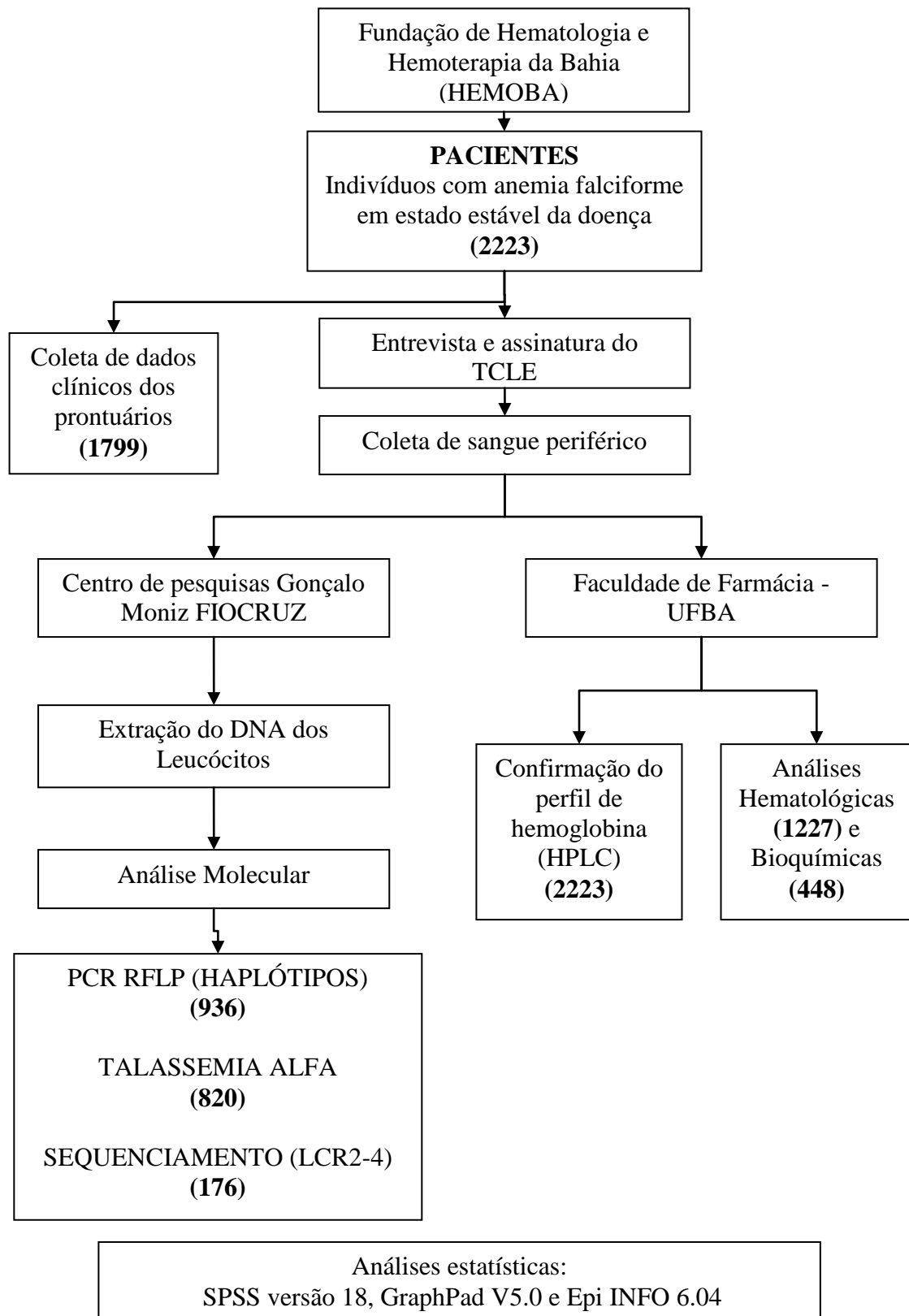


Figura 4. Representação esquemática do desenho do estudo.

## **5. MÉTODOS**

### **5.1 COLETA DAS AMOSTRAS**

As amostras de sangue foram coletadas no ambulatório de hematologia da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia-HEMOBA e encaminhadas à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (FF-UFBA) para as determinações hematológicas e bioquímicas e para o Laboratório Especializado em Hematologia e Biologia Molecular (ATGC) para confirmar o perfil de hemoglobinas. O sangue foi processado e encaminhado ao Laboratório de Patologia e Biologia Molecular (LPBM) /Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (CPqGM) – FIOCRUZ – Bahia onde foram realizadas as análises moleculares.

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

### **5.2 ANÁLISES HEMATOLÓGICAS**

As determinações hematológicas foram realizadas em contador automatizado - ABX Pentra 80 (HORIBA DIAGNOSTICS, Montpellier, FR), a avaliação morfológica realizada pela análise dos esfregaços sanguíneos corados pelo Wright e a contagem de reticulócitos pelos esfregaços corados pelo azul de cresil brilhante e posteriormente analisados por microscopia óptica. (DACIE & LEWIS, 1984).

### **5.3 ANÁLISES BIOQUÍMICAS**

As análises bioquímicas incluíram a determinação do perfil lipídico (colesterol total e frações e triglicerídeos), dosagem de proteínas totais e frações, bilirrubinas totais e frações, desidrogenase láctica (LDH), transaminases (ALT e AST), perfil renal (uréia e creatinina) e ferro,

sendo estas realizadas por método automatizado utilizando o equipamento A25 (BIOSYSTEMS SA, Barcelona, Spain). A dosagem de ferritina foi realizada no Access 2 (BECKMAN COULTER Inc, CA, USA) e as determinações de proteína C reativa, alfa 1 antitripsina, e Antiestreptolisina O (ASLO) foram realizadas no *Image* (BECKMAN COULTER Inc, CA, USA).

#### **5.4 ANÁLISES SOROLÓGICOS**

As análises sorológicas foram realizadas na Fundação Instituto de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA) e confirmadas no laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da UFBA. Os testes sorológicos utilizados para as análises foram Hemaglutinação Indireta (HAI), Ensaio Imunoenzimático (EIE ou ELISA), Imunofluorescência indireta (IFI) e teste de microaglutinação (VDRL). Para o vírus da hepatite C, os resultados foram confirmados pela técnica molecular da PCR.

#### **5.5 PERFIL DE HEMOGLOBINAS**

O perfil de hemoglobinas foi confirmado por cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) no equipamento automatizado VARIANT I (BIO-RAD, CA, USA), que utiliza o princípio de troca iônica. O procedimento para as análises requer a adição de 5 µl de amostra de sangue em 500 µl de água destilada em cubetas de 1ml de capacidade. Os calibradores foram avaliados antes de cada processamento das amostras, de acordo com as recomendações do fabricante.

#### **5.5 ANÁLISE MOLECULAR**

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

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

### 5.5.1 TALASSEMIA ALFA

A caracterização molecular da talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup> foi realizada por PCR de acordo com BAYSAL & HUISMAN (1994) utilizando-se *primers* contendo as sequências normal (A + C) e mutante (A + B). A reação foi realizada em tampão contendo 50mM de solução de Tris-HCl; 1,7mM de cloreto de magnésio (MgCl<sub>2</sub>); 200mM de dCTP + dGTP e 100mM de dATP + dTTP de mistura de desoxinucleosídeos trifosfatados (dNTPs); 13% de glicerol; 2,5U da enzima *Taq* DNA polimerase recombinante (GIBCO, Invitrogen, CA) e 0,5 µg de DNA, em volume final de 50µL. A reação compreendeu uma etapa inicial de desnaturação do DNA de 3 minutos a 98°C e 30 ciclos a 96°C por 30 segundos, 66°C por 30 segundos e 72°C por 2 minutos, com etapa final de 72°C por 15 minutos (FOGLIETTA et al., 1996).

O DNA do fago lambda (λ) digerido com a enzima de restrição *Hind* III (GIBCO, Invitrogen, CA) (SAIKI, et al., 1988) foi utilizado como marcador de pares de bases (pb) para a análise de tamanho de fragmentos. As reações realizadas com os *primers* A + B e A + C amplificaram fragmentos de 1.700 pb (1,7 kb) para a presença da deleção e genes normais, respectivamente.

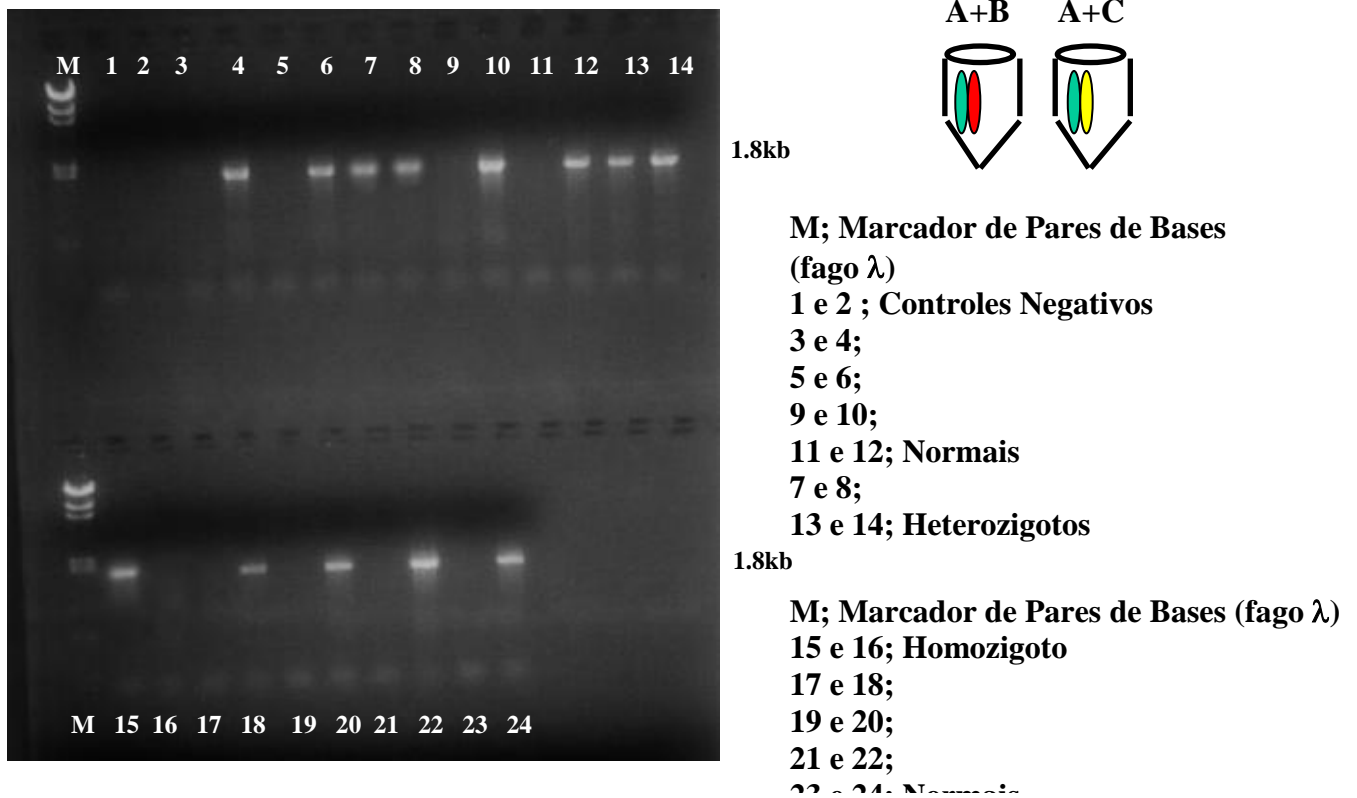


Figura 05. Gel de agarose a 1,0% em tampão Tris-Borato-EDTA 1X, pH 8.3, após corrida do produto da PCR da reação para investigação da talassemia alfa.

### 5.5.2 DETERMINAÇÃO DOS HAPLÓTIPOS LIGADOS AOS GENES DA *GLOBINA BETA*

Os haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* foram investigados pela técnica de PCR-RFLP. Sete regiões foram seletivamente amplificadas por PCR e posteriormente digeridas por enzimas de restrição, identificando os seguintes sítios polimórficos (Figura 1B): *Xmn* I, localizado na posição 5' do gene *HBG2*; *Hind* III, na região *IVS* II do gene *HBG2* e *HBG1*; *Hinc* II, a 3' e dentro do pseudogene *beta*; *Hinf* I e *Hpa* I nas regiões 5' e 3' do gene *beta*, respectivamente (SUTTON et al., 1989).

### 5.5.3 AMPLIFICAÇÃO GÊNICA PARA A LCR

Para o estudo da LCR foram realizadas três ampliações pela técnica de PCR para cada sítio HS2 a HS4. Os produtos amplificados foram então purificados para realização do sequenciamento gênico das regiões da LCR (HS2-4), com a utilização de 1/4 do volume em Acetato de Amônio 1M e 01 volume de isopropanol PA. O DNA foi incubado durante 15 minutos a temperatura ambiente e centrifugado a 2300 x g por 30 minutos. Após a centrifugação, o precipitado resultante foi lavado por 3 vezes em 200 µl etanol a 80%. Após a última lavagem, o precipitado foi incubado durante uma hora a temperatura ambiente, favorecendo a evaporação do etanol. O precipitado foi ressuspensão em 30 a 40 µl de H<sub>2</sub>O e incubado a 4 °C por 12h antes do uso.

### 5.5.4 SEQUENCIAMENTO DOS FRAGMENTOS AMPLIFICADOS PARA ANÁLISE DA LCR

O sequenciamento gênico foi realizado pelo método de SANGER (SANGER et al., 1977), utilizando os dideoxynucleosídeos trifosfatados (ddNTPs), que quando incorporados a fita de DNA sintetizada proporcionam paradas aleatórias na polimerização. O sequenciamento foi realizado em sequenciador automático *Applied Biosystems 3100*, utilizando-se o *Kit BigDye 03™ Terminator Sequencing Standard (Applied Biosystems)* de 16 capilares. A reação de sequenciamento foi realizada em placas de fundo em V (*MicroAmp 96-well Reaction Plate - Applied Biosystems*), utilizando-se 2,0 µl de *Big Dye Terminator*, 2µl de *primer* (1,5 pmol), 2µl de tampão (Tris-Cl 200mM pH 9,0; 5 mM MgCl<sub>2</sub>), 200 ng de DNA e 5,6 µl de H<sub>2</sub>O (Ultra Pura – GIBCO, Invitrogen, CA) em um total de 10 µl. As reações foram incubadas em termociclador (*Eppendorf Mastercycler® gradient, Canada*), na temperatura inicial de 96 °C durante 2 minutos, seguida por 35 ciclos de 96 °C por 45 segundos; 52 °C por 30 segundos, e 60 °C por 4 minutos.

Para cada poço contendo 10µl de reação foram adicionados 8µl de H<sub>2</sub>O milli-Q autoclavada e 32µl de etanol a 100% e homogeneizados 40 vezes por inversão. Após homogeneização, a reação foi incubada por 20 minutos no escuro a temperatura ambiente, centrifugadas por 45 minutos a 2500 x g a temperatura ambiente, descartando-se o sobrenadante em papel absorvente e realizando-se *spin* invertido a 120 x g. Após a centrifugação, foram adicionados 150 µl de etanol a 70%. Em seguida a amostra foi homogeneizada por 40 vezes e centrifugada por 15 minutos a 2500 x g à

temperatura ambiente, sendo que esta etapa foi repetida por 3 vezes. As amostras obtidas foram incubadas em ambiente escuro por período mínimo de 2 horas, após as quais se acrescentou 10 ul da mistura de parada da reação (*Hi-Di<sup>TM</sup> Formamide - Applied Biosystems*) e se procedeu a análise no sequenciador.

## 5.6 DADOS CLÍNICOS

Os dados clínicos foram obtidos em questionário (apêndice II) aplicados ao paciente e no caso de menores de idade, aplicados ao responsável. O questionário aborda as características demográficas do indivíduo (idade e gênero), informações sociais (número de irmãos, escolaridade, parentes e amigos que mantêm contato) e informações referentes à a história clínica dos pacientes que foram obtidas dos prontuários de acompanhamento no ambulatório de Hematologia da Fundação HEMOBA.

## 5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas nos programas EPI INFO versão 6.04, SPSS versão 18.0 e o *GraphPad* versão 5.0. Os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos.

### 5.7.1 DISTRIBUIÇÃO DAS VARIÁVEIS

A análise de normalidade da distribuição das variáveis foi realizada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. A partir desta informação foram utilizados os testes paramétricos ANOVA ou não-paramétrico de Kruskal-Wallis. O teste paramétrico ANOVA foi utilizado para a análise da distribuição de médias de variáveis quantitativas ou numéricas, com distribuição normal dentro de categorias. Além disso, verificando se é provável haver uma diferença entre as médias dos valores, buscou-se dentre as médias apresentadas diferenças significativas conduzidas de múltiplas

comparações de médias através do teste de Bonferroni (ou post-hoc). O teste não-paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para as distribuições fora do normal

### **5.7.2 ANÁLISE DE VARIÁVEIS QUALITATIVAS OU CATEGÓRICAS**

A análise de variáveis qualitativas ou categóricas de três ou mais grupos foi realizada pelo teste não paramétrico do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), devidamente corrigido pelos testes de Mantel-Haenszel e Yates. Nas análises de valores inferiores a 4, estas foram realizadas pelo teste exato de Fisher. Os intervalos de confiança em 95% e a razão de prevalência foram calculados para essas variáveis.

Os testes de Mann-Whitney e o teste T independente foram utilizados para a análise de duas variáveis numéricas, na comparação de dois grupos de valores dentro de uma mesma variável, levando-se em consideração a distribuição de cada variável.

### **5.7.3 ANÁLISE MULTIVARIADA – REGRESSÃO LOGÍSTICA**

Na etapa quantitativa da pesquisa, utilizou-se o método de Análise Multivariada dos dados que corresponde às abordagens analíticas diversas que consideram o comportamento de muitas variáveis simultaneamente (CORRAR & FILHO, 2009). As análises multivariadas foram realizadas tendo como base variáveis dependentes associadas a clínica dos pacientes e variáveis independentes caracterizadas como fatores de risco, estabelecidas pelo processo de criação de variáveis categóricas múltiplas. A escolha para as análises simultâneas de medidas múltiplas para cada indivíduo ou objeto em análise deveu-se a perspectiva de que as análises univariadas deveriam ser consideradas como complementares das multivariadas, ou seja, face à constatação de diferenças significativas numa análise multivariada, esta deve ser precedida de testes univariados para identificar as variáveis que mais contribuem para a não rejeição das hipóteses nulas.

A análise de regressão linear requer o uso de programas de computador. Nesse caso, utilizamos o *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 18.0, que permite realizar análises estatísticas de dados em pesquisa na área da saúde.



Neste estudo, a variável dependente foi representada pelos dados clínicos dos pacientes e as variáveis independentes pelos marcadores clássicos de prognóstico na anemia falciforme. Dentre as técnicas de análise multivariada utilizamos a Regressão Logística.

Na Regressão Logística, a variável dependente é dicotômica (qualitativa) e as variáveis independentes podem ser quantitativas ou qualitativas. Esta análise tem como objetivo estabelecer a probabilidade de ocorrência de determinado evento e a importância das variáveis para essa ocorrência (CORRAR & FILHO, 2009). Antes da aferição dos resultados descritivos e da correlação entre variáveis, procedeu-se à análise preliminar exploratória do banco de dados completo (2223 pacientes), com o intuito de adequar as variáveis métricas ao modelo linear geral (TABACHNICK & FIDELL, 2000). Esse procedimento consistiu na análise de casos omissos, casos atípicos e normalidade das variáveis métricas que compuseram o modelo de investigação. A análise exploratória revelou que tais variáveis atendem aos critérios propostos por estes autores para a execução das técnicas inferenciais multivariadas.

Na análise de Regressão Logística foram apresentadas relações entre algumas variáveis independentes e a variável dependente. Destes, cinco indicadores merecem destaque:

1. - 2 log likelihood (-2LL): medida de ajuste e significância do modelo – caso esse índice apresente uma queda do seu valor inicial em comparação com o seu valor final, o modelo se ajusta aos dados. Dado não mostrado em nosso trabalho.
2. Omnibus test of model coefficients ( $X^2$ ): indica se há diferença significativa entre o -2LL inicial (modelo vazio) e o -2LL do modelo com as variáveis – espera-se que a hipótese nula seja rejeitada para que o modelo se adeque aos dados. Em nosso trabalho foi associado ao **H & L: Teste de Hosmer e Lemeshow**.
3. *Nagelkerke R<sup>2</sup>*: indica o quanto a variável independente, ou o conjunto de variáveis independentes, explicam a variável dependente. Em nosso trabalho foi associado ao **RP: Razão de Probabilidade**.
4. *Overall percentage* – indica qual a probabilidade geral de acontecer o evento que o modelo consegue explicar. Em nosso trabalho foi associado ao **PAM: Percentual de acerto do modelo de regressão**.
5. B: coeficiente de regressão – indica o peso que a variável independente, ou conjunto de variáveis independentes, tem sobre a variável dependente.

De acordo com a literatura, utilizando pelo menos duas variáveis independentes para o modelo preditivo, poder estatístico médio e significância 0,05, a amostra necessária deve ser maior que 67 para a Regressão Logística (COHEN, 1992). No caso da regressão múltipla, que requer amostras mais amplas, recomenda-se o uso de pelo menos 30 observações para cada “parâmetro” estimado no modelo (CORRAR & FILHO, 2009). Portanto, nosso estudo foi suficiente para a realização de todos os testes estatísticos necessários para se chegar ao modelo de predição uma vez que temos nossos modelos utilizaram mais de 500 dados relativos a cada paciente.

As variáveis dependentes (eventos clínicos) escolhidas para o modelo seguiu as recomendações de CORRAR & FILH (2009) e foram no total de oito, sendo as que mais frequentes acometeram os pacientes com anemia falciforme:

1. Acidente vascular cerebral;
2. Crises vaso-oclusivas;
3. Dores ósseas;
4. Hospitalizações;
5. Crises álgicas;
6. Sequestro esplênico;
7. Síndrome torácica aguda;
8. Úlcera maleolar.

A partir de estudos realizados na literatura e devido a significância clínica encontrada em nosso estudo a partir de análises univariadas foram definidas 10 variáveis independentes para realização dos modelos de regressão logística:

1. Sexo: Mulheres e homens;
2. Haplótipo ligado ao grupo de genes da *globina beta*: CAR/CAR vs CAR/BEN;
3. Haplótipo ligado ao grupo de genes da *globina beta*: CAR/CAR vs BEN/BEN;
4. Haplótipo ligado ao grupo de genes da *globina beta*: CAR/BEN vs BEN/BEN;
5. Talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup>: Presença e ausência;
6. Concentração da hemoglobina fetal :  $\leq$  ou  $>$  6% ;
7. Valor da concentração da hemoglobina:  $\leq$  ou  $>$  7,0 g/dl;
8. Contagem de reticulócitos:  $\leq$  ou  $>$  5%;

9. Contagem global de leucócitos:  $\leq$  ou  $> 15,0 \times 10^6/$ ;
10. Contagem total de plaquetas:  $\leq$  ou  $> 275.0 \times 10^9/L$ .

#### **5.7.4 CURVA DA CARACTERÍSTICA OPERATIVA DO RECEPTOR (CURVA ROC)**

Na intenção de auxiliar nos diagnósticos clínicos foi realizado a Curva ROC uma vez que corresponde ao método mais utilizado para o apoio a decisão médica e onde é definido o caminho mais próximo do diagnóstico.

## 6. RESULTADOS

### 6.1 PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E LABORATORIAIS APRESENTADAS PELOS PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Foram investigados 2223 indivíduos com AF com idade de 1-50 anos e média de 20,86 ( $\pm 11,06$ ) anos, sendo 50,70% mulheres.

Os dados hematológicos foram obtidos de 1227 indivíduos com AF, enquanto que os bioquímicos de 468 pacientes. Quando comparados os dados hematológicos e bioquímicos entre os diferentes sexos, apenas a contagem global de linfócitos nos homens ( $6414.85 \pm 3940.70 \times 10^6/L$ ) e mulheres ( $5597.81 \pm 2744.24 \times 10^6/L$ ),  $p = 0,003$  e a contagem de reticulócitos apresentaram valores significativos entre os homens ( $7.01 \pm 4.66$ ) e mulheres ( $7.74 \pm 5.89$ ),  $p = 0.043$  (Tabela 1).

A figura 6 apresenta a distribuição da origem dos pacientes incluídos no estudo na cidade do Salvador e região metropolitana.

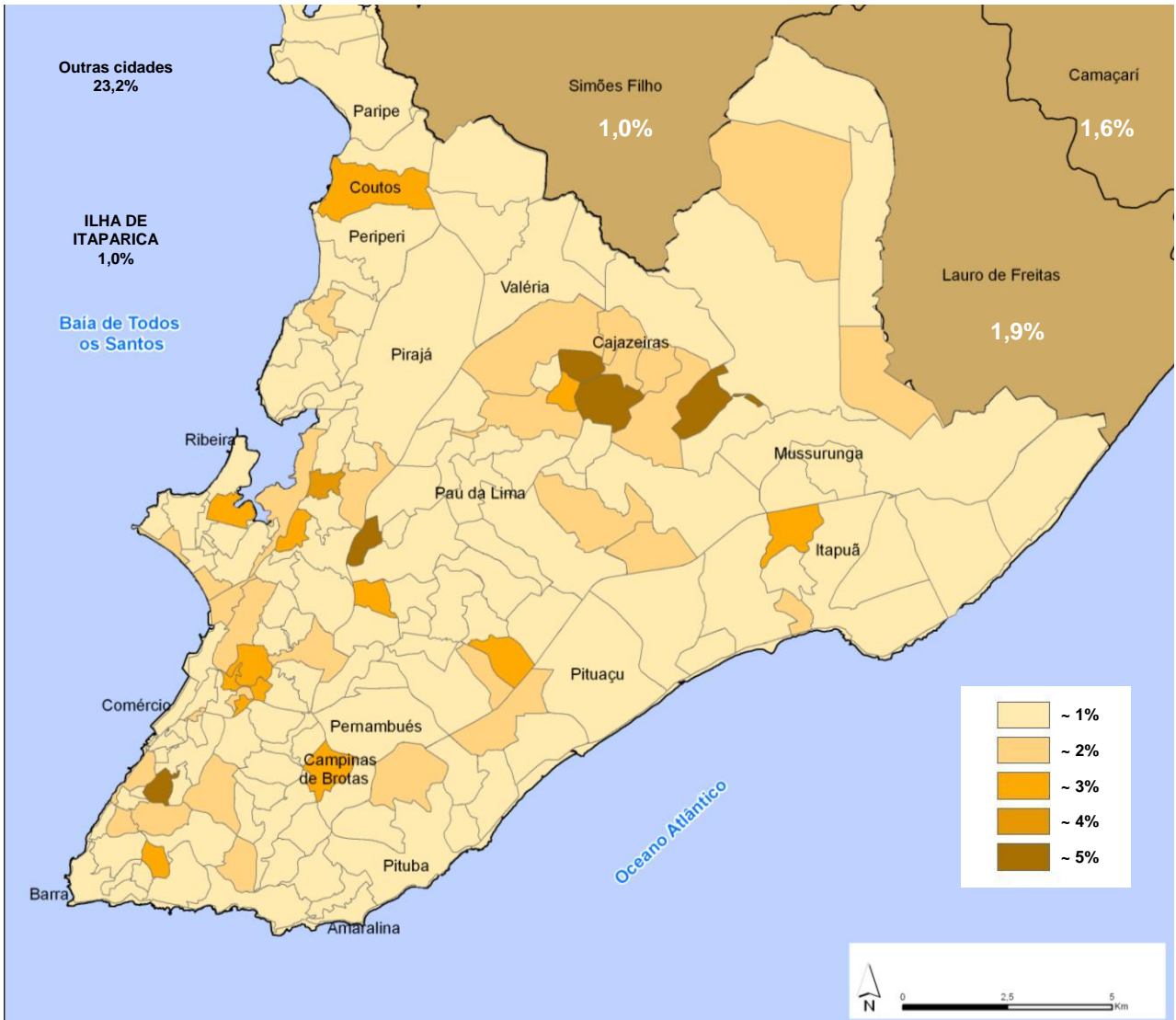


Figura 6. Frequências dos pacientes com anemia falciforme na cidade do Salvador e região metropolitana atendidos pela Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia- HEMOBA.

Tabela 1. Características hematológicas entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

		TOTAL DE PACIENTES	MASCULINO	FEMININO	VALOR P
	N	Média ± DP			
<b>IDADE (ANOS)</b>	1924	22,4 ± 13,20	---	---	---
<b>GÊNERO</b>					
Masculino (%)	976	20,83 ± 12,14	---	---	---
Feminino (%)	948	23,89 ± 14,05	---	---	---
<b>HEMOGLOBINA</b>					
SS %	1432	87,24 ± 8,09	86,98 ± 8,6	86,63 ± 8,6	0,379**
A2 %	1432	2,98 ± 1,07	2,97 ± 0,98	2,93 ± 1,06	0,125*
Fetal %	1432	9,94 ± 8,21	10,5 ± 8,8	10,4 ± 8,7	0,331**
<b>HEMÓLISE</b>					
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	1227	2,85 ± 0,67	2,87 ± 0,72	2,93 ± 0,74	0,931**
Hemoglobina g/dl	1227	7,82 ± 1,52	7,82 ± 1,57	7,83 ± 1,47	0,524*
Hematócrito (%)	1227	24,64 ± 4,70	24,41 ± 4,77	24,88 ± 4,69	0,121**
Volume Corpuscular Médio (fL)	1227	86,95 ± 14,70	87,03 ± 14,26	86,95 ± 15,29	0,828*
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	1227	27,74 ± 4,53	27,51 ± 4,56	27,52 ± 4,57	0,599**
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	1227	31,79 ± 3,43	31,97 ± 3,74	31,57 ± 3,05	0,300*
<b>Reticulócito (%)</b>	<b>1227</b>	<b>7,36 ± 5,29</b>	<b>7,01 ± 4,66</b>	<b>7,74 ± 5,89</b>	<b>0,043*</b>
<b>LEUCÓCITOS</b>					
Leucócitos x 10 <sup>6</sup> /L	1227	14984,17 ± 6053,22	15326,71 ± 5934,12	15055,56 ± 5880,51	0,777**
Neutrófilo Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	1227	7711,73 ± 3672,52	7854,76 ± 3728,82	7869,51 ± 3604,22	0,997**
Bastonete Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	1227	139,55 ± 291,18	139,96 ± 281,68	145,99 ± 326,16	0,295*
Eosinófilo x 10 <sup>6</sup> /L	1227	653,98 ± 887,41	625,70 ± 876,93	656,55 ± 830,92	0,764**
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	1227	606,92 ± 872,80	529,51 ± 778,22	579,93 ± 519,98	0,041**
<b>Linfócito x 10<sup>6</sup>/L</b>	<b>1227</b>	<b>6039,41 ± 3464,30</b>	<b>6414,85 ± 3940,70</b>	<b>5597,81 ± 2744,24</b>	<b>&lt;0,001*</b>
<b>PLAQUETAS</b>					
<b>Plaquetas x 10<sup>9</sup>/L</b>		397,45 ± 141,98	391,78 ± 145,48	402,70 ± 135,15	0,238**

DP: Desvio Padrão

\* Kruskal-Wallis

\*\* Anova

Estão enumerados na tabela 2 os valores médios dos marcadores do metabolismo lipídico, hepático e renal em homens e mulheres com AF. Apesar dos pacientes apresentarem a média dos valores entre esses marcadores bem diferentes, somente a concentração do colesterol de baixa densidade (LDL) e das aspartato e alanina aminotransferases foram significativos, respectivamente  $p= 0,009$ ,  $p= 0,029$ ,  $p= 0,038$ .

Ao correlacionarmos eventos clínicos entre homens e mulheres, verificamos que a STA possui Razão de prevalência de 1,89 para os homens (IC: 1,52-2,36,  $p <0,001$ ) e de 1,59 (IC:1,06-2,39,  $p= 0,023$ ) para a ocorrência de hospitalizações.

Tabela 2. Características do metabolismo lipídico, hepático e renal entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

		TOTAL DE PACIENTES	MASCULINO	FEMININO	VALOR P
	N	Média ± DP			
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>					
Total Colesterol, mg/dL	468	121,44 ± 26,84	118,56 ± 27,07	126,11 ± 25,72	0,152**
HDL Colesterol, mg/dL	468	55,55 ± 59,98	49,26 ± 12,50	60,42 ± 86,16	0,319**
<b>LDL Colesterol, mg/dL</b>	<b>468</b>	<b>26,20 ± 20,40</b>	<b>22,22 ± 13,58</b>	<b>30,79 ± 25,54</b>	<b>0,009*</b>
Triglicerídeos, mg/dL	468	107,17 ± 50,38	102,54 ± 54,19	112,61 ± 48,39	0,365**
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>					
<b>Aspartato Aminotransferase, U/L</b>	<b>480</b>	<b>63,32 ± 125,98</b>	<b>76,23 ± 168,54</b>	<b>49,53 ± 46,67</b>	<b>0,029**</b>
Bilirrubina Total, mg/dL	290	16,81 ± 77,81	19,86 ± 90,37	15,98 ± 56,02	
Bilirrubina Direta, mg/dL	290	1,41 ± 2,0	1,55 ± 2,26	1,26 ± 1,70	0,434*
Bilirrubina Indireta, mg/dL	290	13,08 ± 65,47	12,81 ± 74,74	13,34 ± 54,75	0,925*
Ferro Sérico, mcg/dL	203	121,04 ± 106,55	118,73 ± 92,26	124,54 ± 126,36	0,884*
Ferritina, ng/mL	433	391,85 ± 544,44	385,30 ± 648,40	398,24 ± 420,32	0,821*
Desidrogenase láctica, U/L	359	788,73 ± 526,98	825,62 ± 522,43	708,50 ± 542,07	0,094**
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>					
<b>Alanina Aminotransferase, U/L</b>	<b>468</b>	<b>41,39 ± 117,18</b>	<b>52,97 ± 160,57</b>	<b>28,38 ± 24,87</b>	<b>0,038**</b>
Proteínas Totais, g/dL	229	7,43 ± 0,97	7,38 ± 0,83	7,49 ± 1,14	0,317*
Albumina g/dL	229	4,07 ± 0,73	4,10 ± 0,58	4,04 ± 0,89	0,948*
Globulina, g/dL	229	3,36 ± 0,86	3,28 ± 0,79	3,42 ± 0,89	0,371**
<b>RENAL</b>					
Uréia, mg/dL	427	21,37 ± 47,55	23,76 ± 64,48	18,57 ± 6,61	0,329*
Creatinina, mg/dL	363	3,58 ± 15,21	4,60 ± 16,19	4,03 ± 18,16	0,815**

DP: Desvio Padrão

\* Kruskal-Wallis

\*\* Anova



Tabela 3. Eventos clínicos entre homens e mulheres com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

Eventos Clínicos	Pacientes Totais		Masculino		Feminino		Valor P	IC
	N		N		N			
	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim		
Dor Abdominal	1746 (97,1%)	53 (2,9%)	899	26	847	27	0,727	1,1 (0,64-1,90)
<b>Síndrome Torácica Aguda</b>	<b>1684 (93,6%)</b>	<b>115 (6,4%)</b>	<b>854</b>	<b>71</b>	<b>830</b>	<b>44</b>	<b>0,023</b>	<b>0,64 (0,43-0,94)</b>
Necrose Avascular	1758 (97,7%)	41 (2,3%)	909	16	849	25	0,112	1,67 (0,89-3,16)
Alterações Ósseas	1738 (96,6%)	61 (3,4%)	898	27	840	34	0,257	1,4 (0,81-2,25)
Dor Óssea	1674 (89,7%)	185 (10,3%)	824	101	790	84	0,362	0,87 (0,64-1,18)
Insuficiência cardíaca	1740 (93,7%)	59 (3,3%)	894	31	846	28	0,860	0,95 (0,57-1,61)
Colelitíase	1761 (97,9%)	38 (2,1%)	903	22	858	16	0,421	0,77 (0,40-1,47)
Dactilite	1743 (96,9%)	56 (3,1%)	892	33	851	23	0,255	0,73 (0,43-1,25)
<b>Hospitalizações</b>	<b>774 (52,5%)</b>	<b>701 (47,5%)</b>	<b>333</b>	<b>425</b>	<b>368</b>	<b>349</b>	<b>0,005</b>	<b>0,74 (0,61-0,91)</b>
Infecção	830 (56,5%)	638 (43,5%)	421	342	409	296	0,273	0,89 (0,73-1,10)
Úlcera Maleolar	1688 (93,8%)	111 (6,2%)	864	61	824	50	0,442	0,86 (0,58-1,26)
Crises de Dor	943 (52,4%)	856 (47,6%)	482	443	461	413	0,787	0,98 (0,81-1,17)
Insuficiência renal	1753 (97,4%)	46 (2,6%)	900	25	853	21	0,687	0,89 (0,49-1,60)
Litíase Renal	1778 (98,8%)	21 (1,2%)	917	08	861	13	0,225	1,73 (0,71-4,20)
Insuficiência Respiratória	1792 (94,1%)	107 (5,9%)	873	52	819	55	0,548	1,13 (0,76-1,67)
Retinopatia	1778 (98,8%)	21 (1,2%)	910	15	868	06	0,073	0,42 (0,16-1,08)
Sequestro Esplênico	1577 (97,7%)	222 (12,3%)	811	114	766	108	0,983	1,0 (0,76-1,33)
Acidente Vascular Cerebral	1690 (93,9%)	109 (6,1%)	867	58	823	51	0,699	0,93 (0,63-1,37)
Transfusão nos 2 últimos anos	835 (48,7%)	916 (52,3%)	428	474	407	442	0,832	0,98 (0,81-1,18)
Crises Vaso-oclusivas	531 (29,5%)	1268 (70,5%)	263	662	268	606	0,901	0,90 (0,73-1,10)

N: Número de Pacientes

IC: Intervalo de Confiança

## 6.2 HAPLÓTIPOS LIGADOS AO GRUPO DE GENES DA GLOBINA *BETA S* E TALASSEMIA ALFA: ASSOCIAÇÃO COM DADOS LABORATORIAIS

O total de 820 pacientes foram genotipados para talassemia alfa, com 196 (23,90%) heterozigotos e 21 (2,6%) homozigotos. As comparações entre talassemia e dados hematológicos e bioquímicos são enumeradas na tabela 4.

O total de 1872 cromossomos *beta S* foram estudados com descrição de um (0,1%) CAR/Sem; um (0,1%) Saudi/ATP; um (0,1%) Atp/Atp; dois (0,2%) Sen/ATP; três (0,3%) CAR/Saudi; três (0,3%) Ben/Saudi; cinco (0,5%) CAR/Cam; cinco (0,5%) Ben/Sem; 13 (1,4%) Ben/Cam; 21 (2,2%) CAR/ATP; 24 (2,6%) Ben/ATP; 188 (20,0%) CAR/CAR; 242 (25,8%) Ben/Ben e 429 (44,2%) CAR/Ben.

A correlação entre a talassemia alfa e dados hematológicos (Eritrograma e Leucograma) e a concentração de hemoglobinas foi estudada em 820 pacientes com AF. Os valores médios de hemácias (Hm) ( $p= 0,004$ ), volume corpuscular médio (VCM) ( $p= 0,015$ ) e hemoglobina corpuscular média (HCM) ( $p= 0,006$ ) e plaquetas ( $p= 0,016$ ) apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre os grupos analisados (Tabela 4). As análises foram realizadas entre indivíduos com genótipo selvagem e portadores da deleção em heterozigose e/ou homozigose.

Tabela 4. Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e presença ou ausência da talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup> em 820 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	TALASSEMIA ALFA <sup>3,7kb</sup>		
	Média ± DP		Valor P
	SELVAGEM N= 603	PORTADOR N = 217	
<b>HEMÓLISE</b>			
<b>Hemácias x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup></b>	<b>2,77±0,65</b>	<b>2,96±0,56</b>	<b>0,004*</b>
Hemoglobina g/dl	7,81±1,50	8,06±1,49	0,098**
Hematócrito (%)	24,20±4,82	24,87±4,31	0,163**
<b>Volume Corpuscular Médio (fL)</b>	<b>89,0±13,17</b>	<b>85,75±112,0</b>	<b>0,015*</b>
<b>Hemoglobina Corpuscular Média (pg)</b>	<b>28,64±4,01</b>	<b>27,48±3,76</b>	<b>0,006**</b>
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	32,21±2,73	32,08±2,80	0,639*
Reticulócito (%)	7,9±5,76	6,89±4,06	0,202*
<b>HEMOGLOBINAS</b>			
Hemoglobina S (%)	87,27±6,59	87,78±5,74	0,410*
Hemoglobina A2 (%)	3,01±1,01	3,06±0,94	0,646*
Hemoglobina Fetal (%)	9,88±6,78	9,29±6,04	0,365*
<b>LEUCÓCITOS</b>			
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	15404,64±6841,03	14201,10±5079,59	0,073*
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	7727,94±3918,35	7204,30±3253,32	0,258**
Bastonetes Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	96,32±214,94	92,93±238,04	0,900*
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	612,96±969,52	601,32±879,03	0,919**
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	593,81±792,84	572,61±768,76	0,824*
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	6214,38±3478,48	5782,29±3294,19	0,305*
<b>PLAQUETAS</b>			
<b>Plaquetas x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>421,95±136,28</b>	<b>386,24±154,57</b>	<b>0,016</b>

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Quando correlacionamos a presença da talassemia alfa com os marcadores dos perfis lipídico, hepático e renal de 224 pacientes com anemia falciforme, somente a análise realizada com os triglicerídeos apresentou valor significativo ( $p= 0,001$ ) (Tabela 5).

Tabela 5. Análise da talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup> com os marcadores dos perfis lipídico, hepático e renal em 224 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	N	TALASSEMIA ALFA <sup>3,7kb</sup>		Valor P
		SELVAGEM N= 174	PORTADOR N = 50	
Média ± SD				
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>				
Total Colesterol, mg/dL	224	119,81±27,508	122,88±28+,03	0,629**
HDL Colesterol, mg/dL	224	49,76±12,05	72,08±130,39	0,140**
LDL Colesterol, mg/dL	224	23,67±17,45	31,95±20,25	0,067*
<b>Triglicerídeos, mg/dL</b>	<b>224</b>	<b>101,04±37,84</b>	<b>137,17±68,64</b>	<b>0,001*</b>
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>				
Aspartato aminotransferase, U/L	480	57,92±86,63	57,91±84,16	0,999**
Bilirrubina Direta, mg/dL	290	1,40±2,08	1,29±2,10	0,759
Bilirrubina Indireta, mg/dL	290	2,88±3,87	2,56±3,27	0,578
Ferro Sérico, mcg/dL	203	132,66±133,38	99,90±43,13	0,286
Ferritina, ng/mL	433	355,77±366,10	361,18±343,98	0,921
Desidrogenase láctica, U/L	359	899,75±506,39	804,57±522,26	0,323
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>				
Alanina aminotransferase, U/L	468	38,38±111,34	36,69±92,46	0,921
Proteínas Totais, g/dL	229	7,39±1,02	7,71±0,851	0,150
Albumina g/dL	229	4,02±0,80	4,21±0,48	0,257
Globulina, g/dL	229	3,37±0,861	3,50±0,837	0,491
<b>RENAL</b>				
Uréia, mg/dL	427	18,62±6,82	19,45±8,24	0,420
Creatinina, mg/dL	363	1,46±2,06	1,45±1,69	0,936

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

A análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* foram realizadas após a distribuição dos genótipos em três grupos em um total de 936 pacientes. O grupo A foi composto pelos indivíduos com genótipo CAR/CAR; o grupo B por indivíduos com genótipos CAR/Ben, CAR/Cam, CAR/Sen, CAR/Saudi e CAR/Atp; e o grupo C por indivíduos com genótipos Ben/Ben, Ben/Cam, Ben/Sen, Ben/Saudi e Ben/Atp. Esta correlação apresentou valores significativos apenas para a contagem de reticulócitos ( $p= 0.014$ ) (Tabela 6).

Tabela 6. Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em 934 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

<b>HAPLÓTIPOS GENE <i>BETA S</i></b>				
<b>MÉDIA ± DP</b>				
	<b>A N=218</b>	<b>B N=429</b>	<b>C N=287</b>	<b>Valor p</b>
<b>HEMÓLISE</b>				
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2,77 ± 0,58	2,81 ± 0,63	2,85 ± 0,62	0,561**
Hemoglobina g/dl	7,76 ± 1,33	7,77 ± 1,44	7,80 ± 1,51	0,932*
Hematócrito (%)	24,16 ± 4,11	24,39 ± 4,47	24,60 ± 4,56	0,717**
Volume Corpuscular Médio (fL)	88,68 ± 12,66	88,03 ± 12,89	86,59 ± 13,99	0,405**
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	28,41 ± 3,58	27,83 ± 4,20	27,48 ± 4,32	0,266*
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	31,84 ± 2,11	31,54 ± 12,48	31,51 ± 2,90	0,563*
Reticulócito (%)	<b>6,15 ± 3,96</b>	<b>7,73 ± 4,39</b>	<b>8,35 ± 4,56</b>	<b>0,022*</b>
<b>HEMOGLOBINAS</b>				
Hemoglobina S (%)	88,55±5,79	88,71±5,97	87,15±6,60	0,101
Hemoglobina A2 (%)	2,89±1,06	2,97±1,09	3,03±1,03	0,444
Hemoglobina Fetal (%)	8,59±5,86	9,33±6,22	9,8±6,79	0,191
<b>LEUCÓCITOS</b>				
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	14876,42 ± 5252,86	14922,66 ± 5995,37	14813,47 ± 7925,26	0,580*
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	7616,38 ± 3963,76	7307,16 ± 3340,37	7571,51 ± 4123,55	0,777*
Bastonetes Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	112,87 ± 299,09	80,99 ± 225,15	84,76 ± 198,36	0,728*
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	571,64 ± 787,92	593,80 ± 925,37	588,09 ± 722,74	0,664*
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	635,36 ± 600,98	583,54 ± 703,23	598,68 ± 1076,63	0,447*
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	6075,54 ± 3252,35	6114,87 ± 3167,38	5781,39 ± 4048,13	0,739*
<b>PLAQUETAS</b>				
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /L	411,45 ± 146,10	402,62 ± 141,46	417,48 ± 144,07	0,597**

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

**Grupo A:** CAR/CAR

**Grupo B:** CAR/Ben, CAR/Cam, CAR/Sen, CAR/Saudi e CAR/Atp

**Grupo C:** Ben/Ben, Ben/Cam, Ben/Sen, Ben/Saudi e Ben/Atp.

Estão enumerados nas tabelas 7 a 9 os resultados das análises estatísticas entre os dados hematológicos e perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* estratificados em grupos distintos.

Tabela 7. Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em 647 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	<b>HAPLÓTIPOS GENE <i>BETA S</i></b>		
	<b>Média ± DP</b>		
	<b>CAR/CAR 218</b>	<b>CAR/BEN 429</b>	<b>Valor P</b>
<b>HEMÓLISE</b>			
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2,77 ± 0,58	2,81 ± 0,63	0,570**
Hemoglobina g/dl	7,74 ± 1,31	7,77 ± 2,06	0,797
Hematócrito (%)	24,10 ± 4,05	24,39 ± 4,47	0,523
Volume Corpuscular Médio (fL)	88,35 ± 12,63	88,03 ± 12,89	0,811
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	28,46 ± 3,57	27,83 ± 4,20	0,271
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	31,84 ± 2,12	31,54 ± 2,48	0,274
<b>Reticulócito (%)</b>	<b>6,15 ± 3,96</b>	<b>7,73 ± 4,39</b>	<b>0,020*</b>
<b>HEMOGLOBINAS</b>			
Hemoglobina S (%)	88,69 ± 5,91	87,48 ± 7,03	0,108*
Hemoglobina A2 (%)	2,93 ± 1,07	2,99 ± 1,12	0,600**
Hemoglobina Fetal (%)	8,66 ± 5,88	9,73 ± 7,19	0,230*
<b>LEUCÓCITOS</b>			
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	14939,52 ± 5222,57	14922,66 ± 5995,37	0,878*
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	7691,30 ± 3789,66	7307,16 ± 3340,37	0,411**
Bastonetes Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	125,47 ± 295,66	80,99 ± 225,15	0,158*
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	671,64 ± 787,92	593,80 ± 925,37	0,854*
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	609,16 ± 581,53	583,54 ± 703,23	0,503*
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	6005,54 ± 3331,99	6114,87 ± 3167,38	0,930**
<b>PLAQUETAS</b>			
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /L	412,56 ± 140,05	402,62 ± 141,46	0,524**

DP: Desvio Padrão N: Número de Pacientes \* Kruskal-Wallis \*\* Anova



Tabela 8. Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em 505 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	<b>HAPLÓTIPOS GENE <i>BETA S</i></b>		
	<b>Média ± DP</b>		
	<b>CAR/CAR 188</b>	<b>BEN/BEN 287</b>	<b>Valor P</b>
<b>HEMÓLISE</b>			
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2,77 ± 0,58	2,88 ± 0,70	0,077*
Hemoglobina g/dl	7,74 ± 1,31	7,77 ± 1,68	0,817*
Hematócrito (%)	24,10 ± 4,05	24,51 ± 5,13	0,395*
Volume Corpuscular Médio (fL)	88,35 ± 12,63	86,44 ± 13,60	0,206**
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	28,74 ± 4,0	27,74 ± 5,0	0,058*
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	31,84 ± 2,12	31,48 ± 2,86	0,451*
<b>Reticulócito (%)</b>	<b>6,15 ± 3,96</b>	<b>8,55 ± 4,56</b>	<b>0,013*</b>
<b>HEMOGLOBINAS</b>			
<b>Hemoglobina S (%)</b>	<b>88,55 ± 5,79</b>	<b>87,15 ± 6,60</b>	<b>0,037*</b>
Hemoglobina A2 (%)	2,93 ± 1,12	3,05 ± 1,06	0,523**
Hemoglobina Fetal (%)	8,65 ± 5,88	10,53 ± 7,49	0,148*
<b>LEUCÓCITOS</b>			
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	14939,52 ± 5222,57	14705,32 ± 7384,64	0,310*
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	7691,30 ± 3789,66	7595,57 ± 4096,31	0,868**
Bastonetes Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	125,47 ± 295,66	80,20 ± 187,0	0,273*
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	642,47 ± 943,47	561,83 ± 715,94	0,848*
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	609,16 ± 581,53	548,95 ± 998,09	0,098*
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	6005,54 ± 3331,99	5799,57 ± 3793,37	0,692**
<b>PLAQUETAS</b>			
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /L	412,56 ± 140,05	414,51 ± 139,60	0,906**

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 9. Análise dos dados hematológicos, perfil de hemoglobinas e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em 716 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

<b>HAPLÓTIPOS GENE <i>BETA S</i></b>			
<b>Média ± DP</b>			
	<b>CAR/BEN 429</b>	<b>BEN/BEN 287</b>	<b>Valor P</b>
<b>HEMÓLISE</b>			
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2,81 ± 0,63	2,88 ± 0,70	0,187*
Hemoglobina g/dl	7,77 ± 2,06	7,77 ± 1,68	0,881*
Hematócrito (%)	24,39 ± 4,47	24,51 ± 5,13	0,814*
Volume Corpuscular Médio (fL)	88,03 ± 12,89	86,44 ± 13,60	0,214**
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	27,83 ± 4,20	27,37 ± 4,35	0,272**
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	31,54 ± 2,48	31,48 ± 2,86	0,879**
Reticulócito (%)	7,73 ± 4,39	8,55 ± 6,55	0,282 *
<b>HEMOGLOBINAS</b>			
Hemoglobina S (%)	87,48 ± 7,0	87,07 ± 7,35	0,759**
Hemoglobina A2 (%)	2,99 ± 1,12	3,05 ± 1,06	0,523**
Hemoglobina Fetal (%)	9,73 ± 7,19	10,05 ± 7,49	0,609**
<b>LEUCÓCITOS</b>			
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	14922,66 ± 5995,37	14705,32 ± 7384,64	0,317*
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	7307,16 ± 3340,37	7595,57 ± 4096,31	0,509**
Bastonetes Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	80,99 ± 225,15	80,20 ± 187,0	0,815**
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	593,80 ± 925,37	561,83 ± 715,94	0,718**
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	583,54 ± 703,23	548,95 ± 998,09	0,224**
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	6114,87 ± 3167,38	5799,57 ± 3793,37	0,440**
<b>PLAQUETAS</b>			
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /L	402,62 ± 141,46	414,51 ± 139,60 ±	0,388*

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Estão enumerados na Tabela 10 dados das análises estatísticas com os dados hematológicos, perfil de hemoglobinas, talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup> e haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

Tabela 10. Dados hematológicos, perfil de hemoglobinas, Análise da talassemia alfa 2<sup>3.7kb</sup> e os haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* em 558 pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	SELVAGEM PARA TALASSAMIA ALFA				PORTADOR DA TALASSAMIA ALFA			
	HAPLÓTIPOS GENE BETA S				HAPLÓTIPOS GENE BETA S			
	Média ± DP				Média ± DP			
	CARCAR N=97	CARBEN N=179	BENBEN N=134	Valor P	CARCAR N=34	CARBEN N=78	BENBEN N=36	Valor P
<b>HEMÓLISE</b>								
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	2,63±0,64	<b>2,67±0,61</b>	2,84±0,62	0,101* *	3,04±0,48	2,94±0,62	2,93±0,50	0,871*
Hemoglobina g/dl	7,60 ±1,21	7,79±1,33	7,63±1,58	0,531* *	8,14±1,10	7,71±1,47	8,30±1,29	0,175**
Hematócrito (%)	23,30±3,83	24,24±4,53	24,97±4,84	0,339*	25,25±2,75	24,28±4,63	25,31±4,18	0,963*
Volume Corpuscular Médio (fL)	<b>90,6±13,11</b>	<b>91,0±12,70</b>	<b>85,6±13,62</b>	<b>0,016*</b> *	82,82±8,86	84,0±12,62	86,96±9,19	0,615*
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	<b>28,82±3,99</b>	<b>28,97±4,02</b>	<b>27,34±4,64</b>	<b>0,032*</b>	26,87±2,66	26,96±4,61	28,32±3,38	0,413*
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	32,0±2,30	31,67±2,74	32,10±2,30	0,543*	32,0±1,18	31,62±2,09	31,86±2,27	0,723*
Reticulócito (%)	7,24±4,63	8,27±4,76	9,0±8,36	0,610*	<b>3,14±1,95</b>	<b>8,35±4,40</b>	<b>7,92±4,14</b>	<b>&lt;0,001*</b>
<b>HEMOGLOBINAS</b>								
Hemoglobina S (%)	87,91±6,44	86,97±6,60	86,59±6,64	0,500* *	90,31±5,56	87,39±5,99	86,83±6,32	0,220**
Hemoglobina A2 (%)	3,02±1,10	3,13±0,99	3,22±1,0	0,503* *	3,08±0,86	3,02±0,98	3,25±1,07	0,627**
Hemoglobina Fetal (%)	9,46±6,69	10,24±6,72	10,16±6,70	0,748* *	6,08±5,14	9,86±6,27	9,81±6,34	0,148**
<b>LEUCÓCITOS</b>								
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	15279±5646,24	15168,65±5631,21	15405,08±10123,04	0,322*	14366,67±4680,61	14032,08±5952,98	13364,08±4614,66	0,840*
Neutrófilo Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	7555,71±3359,35	7356,31±3365,08	7624,58±3365,08	0,811*	6103,67±2254,40	7035,29±3573,92	7273,35±3709,42	0,915*
Bastonete Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	75,29±160,68	71,68±213,57	66,39±193,74	0,830*	16,33±49,0	56,49±172,47	60,05±135,55	0,691**
Eosinófilo x 10 <sup>6</sup> /L	468,46±712,77	542,04±906,03	555,40±698,75	0,486*	879,60±1051,87	577,49±975,38	383,19±615,52	0,169*
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	508,23±516,27	568,38±589,80	713,51±1414,75	0,903*	817,60±584,31	600,24±1005,12	363,71±413,71	0,081*
Linfócito x 10 <sup>6</sup> /L	6531,09±3602,41	6092,08±2800,31	6352,41±4990,24	0,420*	5503,10±2886,72	6268,85±3830,79	4941,70±2468,56	0,502*
<b>PLAQUETAS</b>								
Plaquetas, x 10 <sup>9</sup> /L	427,0±146,04	435,67±132,43	428,09±141,89	0,902* *	388,25±187,24	369,06±134,69	410,84±178+99	0,707*

DP: Desvio Padrão

N: Número de Pacientes

\* Kruskal-Wallis

\*\* Anova

### **6.3 ANÁLISES DAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS, DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

As análises estatísticas que envolvem dados hematológicos, bioquímicos e o histórico dos eventos clínicos demonstraram associação em proteínas totais séricas naqueles com histórico de alterações ósseas ( $p= 0,029$ ); contagem global de monócitos naqueles com histórico de colelitíase ( $p= 0,017$ ); creatinina sérica naqueles com histórico de dactilite; bilirrubina direta naqueles com histórico de necrose avascular ( $p= 0,022$ ); contagem global de linfócitos atípicos naqueles com histórico de priapismo ( $p<0,001$ ); dosagem da alanina aminotransferase (ALT) naqueles com histórico de retinopatia ( $p= 0,010$ ); contagem global de eosinófilos e basófilos naqueles com histórico de sequestro hepatoesplênico ( $p= 0,006$  e  $p= 0,033$ , respectivamente). Os pacientes com insuficiência renal e AVC não apresentaram diferenças estatísticas nos valores analisados. Os dados significativos estão enumerados nas tabelas 11 a 20.

A consulta retrospectiva aos prontuários de acompanhamento ambulatorial de 1799 pacientes com AF demonstrou que 1368 pacientes (76,04%) apresentaram pelo menos um evento vaso-oclusivo e 1475 (81,98%) tiveram pelo menos uma internação. Destes 856 (47,6%) apresentaram crise algica; 1268 (70,5%) crises vaso-oclusivas; 115 (6,4%) síndrome torácica aguda (STA); 53 (2,9%) dor abdominal e 24 (1,3%) dos 924 homens apresentaram priapismo. Novecentos e dezesseis (52,3%) pacientes realizaram pelo menos uma transfusão sanguínea nos dois últimos anos. O registro de infecção foi frequente em 638 (43,5%), sendo a pneumonia a mais frequente com 347 (23,6%) relatos. Cento e quinze (6,4%) pacientes foram acometidos por pelo menos um evento de AVC e 111 (6,2%) por úlcera maleolar. Quando estratificamos a idade para menor de 21 anos, a ocorrência de dactilite (síndrome mão) foi de 3,5% (40) e de sequestro esplênico em 14,3% (163) nos 1141 pacientes pediátricos. A Síndrome torácica aguda e hospitalizações foram mais frequentes em homens que mulheres. Além disso, os pacientes homens ficaram mais tempo hospitalizados que as mulheres (média de 1 a 2 dias a mais - dado não mostrado). As frequências de outros eventos clínicos estão enumeradas na tabela 3.

Tabela 11. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e hospitalizações em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	INTERNAÇÕES HOSPITALARES				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemoglobina S (%)	Não	512	87,285	6,1936	<b>0,008*</b>
	Sim	595	88,255	5,9285	
Hemoglobina A2 (%)	Não	528	3,080	1,0112	<b>0,001*</b>
	Sim	605	2,860	1,0205	
Hemoglobina Fetal (%)	Não	512	9,64	6,37	<b>0,045**</b>
	Sim	595	8,89	6,19	
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	248	563,004	875,5640	<b>0,019**</b>
	Sim	349	736,920	904,6691	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	248	484,710	462,5691	<b>&lt;0,001*</b>
	Sim	346	710,318	784,7151	
Linfócito Atípico x 10 <sup>6</sup> /L	Não	216	0,120	0,4141	<b>0,003**</b>
	Sim	296	0,277	0,6822	
Triglicerídeos, mg/dL	Não	27	89,78	22,15	<b>0,041*</b>
	Sim	92	112,27	20,0	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 12. Análises de dados hematológicos e crises álgicas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	CRISES ÁLGICAS				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemoglobina Corpuscular Média, pg	Não	354	28,191	4,6986	<b>0,015*</b>
	Sim	652	27,622	4,5811	
Bastonetes x 10 <sup>6</sup> /L	Não	209	89,268	209,6850	<b>&lt;0,001**</b>
	Sim	395	169,397	325,8572	
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	208	503,774	831,8125	<b>&lt;0,001**</b>
	Sim	397	747,947	910,0921	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	208	520,716	884,6354	<b>0,013*</b>
	Sim	394	664,264	525,3936	
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	230	41,817	15,7467	<b>0,007*</b>
	Sim	400	38,695	12,8155	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 13. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e dores abdominais em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	DORES ABDOMINAIS				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Não	998	2,844	0,6744	<b>0,008**</b>
	Sim	141	3,129	0,6026	
Hematócrito (%)	Não	1038	24,580	4,7028	<b>0,030**</b>
	Sim	138	26,263	3,8743	
Reticulócito (%)	Não	323	204239,604	144694,2780	<b>0,010**</b>
	Sim	120	301095,000	339157,0813	
Linfócito x 10 <sup>6</sup> /L	Não	564	6115,809	3522,0708	<b>0,020*</b>
	Sim	129	4574,276	1992,1309	
Albumina g/dL	Não	127	4,112	0,7353	<b>0,005*</b>
	Sim	33	5,367	1,1930	
Desidrogenase láctica, U/L	Não	241	817,098	527,0126	<b>0,010*</b>
	Sim	50	507,250	296,5312	
Triglicerídeos, mg/dL	Não	114	106,596	48,5191	<b>&lt;0,001*</b>
	Sim	45	120,200	90,2009	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova



Tabela 14. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e dores ósseas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	DORES ÓSSEAS				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemoglobina A2 (%)	Não	1187	2,983	1,0384	<b>0,004*</b>
	Sim	154	2,727	0,9378	
Volume Corpuscular Médio (fL)	Não	893	86,940	13,9410	<b>0,023**</b>
	Sim	123	89,984	13,7314	
Linfócito x 10 <sup>6</sup> /L	Não	551	40,385	14,1530	<b>0,009*</b>
	Sim	79	36,000	12,5269	
Globulina, g/dL	Não	109	3,270	0,8036	<b>0,023*</b>
	Sim	19	3,737	0,8789	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 15. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e insuficiência cardíaca em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	INSUFICIÊNCIA CARDÍACA				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Não	982	2,866	0,6737	<b>0,027**</b>
	Sim	57	2,663	0,6518	
Volume Corpuscular Médio (fL)	Não	959	87,081	13,9018	<b>0,033**</b>
	Sim	57	91,132	14,2317	
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	Não	950	27,739	4,6012	<b>0,019**</b>
	Sim	56	29,226	4,9015	
Reticulócito (%)	Não	335	7,055	4,9951	<b>0,012*</b>
	Sim	43	9,109	5,0332	
Plaquetas x 10 <sup>9</sup> /L	Não	888	395,57	141,123	<b>0,041**</b>
	Sim	54	436,09	138,562	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	555	591,058	683,5103	<b>0,003*</b>
	Sim	47	893,447	477,7411	
Linfócito Atípico x 10 <sup>6</sup> /L	Não	478	0,165	0,5569	<b>0,000*</b>
	Sim	41	0,707	0,6798	
Ferro Sérico, mcg/dL	Não	61	102,738	42,0650	<b>0,026**</b>
	Sim	36	152,500	163,7698	
Desidrogenase láctica, U/L	Não	220	746,671	512,1531	<b>0,001**</b>
	Sim	41	1043,854	490,0448	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 16. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e insuficiência respiratória em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	INSUFICIÊNCIA RESPIRATÓRIA				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hematócrito (%)	Não	989	24,527	4,6172	<b>0,008*</b>
	Sim	87	25,920	5,2567	
Volume Corpuscular Médio (fL)	Não	939	87,049	13,9932	<b>0,039**</b>
	Sim	77	90,468	13,0117	
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	Não	984	31,874	2,8616	<b>0,023**</b>
	Sim	90	31,140	3,5340	
Desidrogenase láctica, U/L	Não	235	824,914	524,8476	<b>0,003*</b>
	Sim	26	508,115	362,9639	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 17. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	SÍNDROME TORACICA AGUDA				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemácias x 10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	Não	956	2,870	0,6767	<b>0,012**</b>
	Sim	83	2,677	0,6156	
Hemoglobina g/dl	Não	1024	7,859	1,5388	<b>0,004**</b>
	Sim	86	7,368	1,3422	
Hematócrito (%)	Não	991	24,741	4,6730	<b>0,015**</b>
	Sim	85	23,459	4,6893	
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	Não	898	14,853	5,7069	<b>0,002*</b>
	Sim	84	17,026	9,2678	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	541	586,847	510,9661	<b>0,003**</b>
	Sim	61	861,393	1461,5264	
Linfócito x 10 <sup>6</sup> /L	Não	537	5948,322	3328,7124	<b>0,046*</b>
	Sim	56	6923,589	4618,8943	
HDL Colesterol, mg/dL	Não	103	48,262	12,5315	<b>0,001*</b>
	Sim	13	104,385	173,5533	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 18. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos de úlcera maleolar em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	ÚLCERA MALEOLAR				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemoglobina S (%)	Não	1225	87,713	6,0330	<b>0,003**</b>
	Sim	88	89,682	5,7045	
Hemoglobina Fetal (%)	Não	1225	9,337	6,2672	<b>0,007**</b>
	Sim	88	7,466	5,9653	
Basófilo x 10 <sup>6</sup> /L	Não	573	0,117	0,4164	<b>0,026*</b>
	Sim	43	0,279	0,8543	
Linfócito Atípico x 10 <sup>6</sup> /L	Não	481	0,193	0,5184	<b>0,041*</b>
	Sim	38	0,395	1,1280	
Uréia, mg/dL	Não	280	18,60	7,08	<b>0,003*</b>
	Sim	43	23,32	9,69	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 19. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e eventos de Crises Vaso-Oclusivas em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS	CRISES VASO-OCCLUSIVAS				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	112	486,045	649,5812	<b>0,019*</b>
	Sim	493	704,428	932,8770	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	112	463,973	441,9329	<b>0,009*</b>
	Sim	490	649,110	712,8370	
Linfócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	116	43,397	15,8969	<b>0,002**</b>
	Sim	514	39,031	13,4550	
Linfócito Atípico x 10 <sup>6</sup> /L	Não	97	0,093	0,3841	<b>0,031**</b>
	Sim	422	0,235	0,6199	
Alanina aminotransferase, U/L	Não	45	69,08	78,40	<b>0,045*</b>
	Sim	362	57,80	89,79	
Bilirrubina Direta, mg/dL	Não	34	2,618	4,0339	<b>&lt;0,001*</b>
	Sim	201	1,215	1,4283	

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

Tabela 20. Análises de dados hematológicos, bioquímicos e episódios infecciosos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

DADOS HEMATOLÓGICOS E BIQUÍMICOS	INFECCÃO				Valor P
	EVENTO CLÍNICO	N	MÉDIA	± DP	
Hemoglobina g/dl	Não	487	8,028	1,5255	<0,001*
	Sim	567	7,644	1,4642	
Hematócrito (%)	Não	476	25,172	4,7368	0,004*
	Sim	545	24,312	4,6453	
Volume Corpuscular Médio (fL)	Não	455	88,687	12,5185	0,004*
	Sim	518	86,139	14,6566	
Hemoglobina Corpuscular Média (pg)	Não	452	28,443	4,4047	0,000*
	Sim	514	27,185	4,7552	
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média (g/dl)	Não	472	31,988	2,6681	0,037*
	Sim	546	31,602	3,1377	
Reticulócito (%)	Não	115	6,480	4,5109	0,042**
	Sim	239	7,621	5,1200	
Bastonete Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	Não	237	98,418	253,8477	0,002*
	Sim	341	173,701	317,0575	
Eosinófilos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	238	536,382	852,5802	0,003**
	Sim	341	753,284	841,4700	
Monócitos x 10 <sup>6</sup> /L	Não	236	499,466	488,5520	<0,001*
	Sim	341	680,748	612,0721	
Linfócito Atípico x 10 <sup>6</sup> /L	Não	193	0,135	0,4814	0,042*
	Sim	309	0,239	0,6038	
Bilirrubina Direta, mg/dL	Não	81	1,025	0,7768	0,035*
	Sim	137	1,618	2,4414	
Desidrogenase láctica, U/L	Não	66	458,09	346,17	0,028
	Sim	192	356,43	314,54	
LDL Colesterol, mg/dL	Não	24	31,708	29,9775	0,043*
	Sim	85	22,965	13,6821	

DP: Desvio Padrão N: Número de Pacientes \* Kruskal-Wallis \*\* Anova

#### **6.4 BIOMARCADORES CLÁSSICOS, DADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Os pacientes foram classificados em dois grupos de acordo com os níveis de hemoglobina fetal (HbF) , aqueles com  $HbF > 6.0\%$  e com  $HbF \leq 6.0\%$ . Este valor percentual foi estabelecido após realização da Curva ROC, conseguindo dessa forma, evitar desvios de erros no percentual de HbF entre os grupos graves e menos graves. Além disso, também utilizamos valores médios dos quartis encontrados através de análise descritiva desta variável. Com isso verificamos o valor percentual mais frequente dentro dos valores medianos encontrados em até 50% de nossa amostragem. Concluimos assim que o melhor valor para a HbF foi 6% (seis). Estão enumerados na tabela 21 os resultados das análises entre os grupos de pacientes com concentração diferenciada de HbF e os dados hematológicos e bioquímicos.

O estabelecimento de valores utilizando a Curva ROC e os valores médios dos quartis encontrados pela análise descritiva também foram realizados para o número de leucócitos ( $15,00 \times 10^6/L$ ), contagem de reticulócitos (5%), plaquetas ( $375 \times 10^9/L$ ) e concentração de hemoglobina (7g/dl). Estes dados estão enumerados nas tabelas 22 a 25.



Tabela 21. Análise da concentração de hemoglobina fetal (> e ≤ 6%), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	N	Hemoglobina Fetal ≤6%	Hemoglobina Fetal >6%	Valor P
<b>HEMÓLISE</b>				
Hemácias, x10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup>	904	2,77±0,61	2,86±0,68	0,050
<b>Hemoglobina, g/dL</b>	<b>904</b>	<b>7,63±1,44</b>	<b>7,94±1,48</b>	<b>0,002</b>
<b>Hematócrito, %</b>	<b>904</b>	<b>24,18±4,77</b>	<b>24,87±4,45</b>	<b>0,029</b>
Volume Corpuscular Médio, fL	904	88,98±13,55	87,88±12,85	0,354
Hemoglobina Corpuscular Média, pg	904	28,21±3,73	28,0±3,80	0,644
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média, g/dl	904	31,73±2,87	31,96±3,02	0,266
Reticulócito, %	432	7,63±4,60	6,80±4,84	0,153
<b>CONTAGEM LEUCOCITÁRIA</b>				
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	832	15,14±5,08	14,68±5,85	0,526
Neutrófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	832	7810,79±3665,44	7418,70±3333,54	0,251
Bastonetes Neutrófilos x 10 <sup>6</sup> /L	832	127,78±251,97	124,19±284,83	0,233
Eosinófilos Segmentados x 10 <sup>6</sup> /L	832	684,82±882,81	592,14±877,26	0,888
<b>Monócitos x 10<sup>6</sup>/L</b>	<b>832</b>	<b>630,32±665,39</b>	<b>502,22±506,79</b>	<b>0,020</b>
<b>Linfócitos X 10<sup>6</sup>/L</b>	<b>832</b>	<b>6203,04±2886,39</b>	<b>5842,80±3478,73</b>	<b>0,018</b>
<b>PLAQUETAS</b>				
Plaquetas, X 10 <sup>9</sup> /L	904	399,86±149,10	393,14±140,39	0,490
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>				
Colesterol Total, mg/dL	448	121,68±20,65	121,64±28,35	0,123
HDL Colesterol, mg/dL	448	48,31±10,50	62,20±86,76	0,993
LDL Colesterol, mg/dL	448	26,44±14,36	22,96±20,88	0,342
Triglicerídeos, mg/dL	448	128,84±66,56	92,89±32,77	0,398
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>				
Aspartato Aminotransferase, U/L	448	64,68±110,68	70,03±160,59	0,622
Bilirrubina Direta, mg/dL	448	1,20±1,03	1,59±2,36	0,523
Bilirrubina Indireta, mg/dL	448	2,92±3,72	2,60±2,17	0,446
Ferro Sérico, mcg/dL	448	124,74±61,24	155,09±170,03	0,253
Ferritina, ng/mL	448	388,58±428,39	333,27±345,60	0,720
Desidrogenase láctica, U/L		860,69±567,57	740,85±530,86	0,238
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>				
Alanina Aminotransferase, U/L	228	49,38±147,89	43,34±127,05	0,708
Proteína Total, g/dL	228	7,45±0,97	7,56±0,81	0,777
Albumina, g/dL	228	4,14±0,63	4,19±0,81	0,339
Globulina, g/dL		3,38±0,96	3,43±0,75	0,761
<b>RENAL</b>				
Uréia, mg/dL	448	18,83±7,97	18,78±7,0	0,241
Creatinina, mg/dL	448	2,79±11,87	3,77±15,79	0,960

DP: Desvio Padrão N: Número de Pacientes \* Kruskal-Wallis \*\* Anova

Tabela 22. Análise do número de leucócitos ( $>$  e  $\leq 15,0 \times 10^6/L$ ), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	N	Número de Leucócitos $\leq 15,0 \times 10^6/L$	Número de Leucócitos $> 15,0 \times 10^6/L$	Valor P
<b>HEMOGLOBINA</b>				
Hemoglobina S (%)	904	87,38 ± 6,7	88,47 ± 5,64	0,016
Hemoglobina A2 (%)	904	3,02 ± 0,99	2,93 ± 0,98	0,168
Hemoglobina Fetal (%)	904	9,72 ± 6,64	8,85 ± 5,69	0,050
<b>HEMÓLISE</b>				
Hemácias, $\times 10^6/mm^3$	904	2,94 ± 0,66	2,75 ± 0,58	<0,001
Hemoglobina, g/dL	904	8,08 ± 1,53	7,46 ± 1,21	<0,001
Hematócrito, %	904	25,22 ± 4,79	23,70 ± 3,92	<0,001
Volume Corpuscular Médio, fL	904	87,39 ± 12,85	88,05 ± 13,72	0,459
Hemoglobina Corpuscular Média, pg	904	28,14 ± 3,87	27,70 ± 3,74	0,090
Concentração Hemoglobina Corpuscular Média, g/dl	904	31,89 ± 2,60	31,47 ± 2,66	0,013
Reticulócito, %	432	7,03 ± 5,05	7,92 ± 4,86	0,113
<b>PLAQUETAS</b>				
Plaquetas, $\times 10^9/L$	904	393,84 ± 138,28	415,29 ± 146,10	0,032
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>				
Colesterol Total, mg/dL	448	124,01 ± 25,24	116,05 ± 23,86	0,127
HDL Colesterol, mg/dL	448	58,41 ± 74,04	47,31 ± 11,39	0,355
LDL Colesterol, mg/dL	448	28,20 ± 23,84	22,79 ± 12,02	0,188
Triglicérides, mg/dL	448	107,42 ± 48,57	106,56 ± 54,79	0,931
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>				
Aspartato Aminotransferase, U/L	448	66,04 ± 145,83	58,14 ± 78,63	0,537
Bilirrubina Direta, mg/dL	448	1,34 ± 1,85	1,63 ± 2,52	0,315
Bilirrubina Indireta, mg/dL	448	2,60 ± 2,64	3,34 ± 5,12	0,123
Ferro Sérico, mcg/dL	448	119,89 ± 198,63	157,71 ± 167,92	0,143
Ferritina, ng/mL	448	394,52 ± 652,41	413,04 ± 363,10	0,792
Desidrogenase láctica, U/L	448	844,85 ± 570,59	747,57 ± 453,89	0,159
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>				
Alanina Aminotransferase, U/L	228	43,39 ± 143,90	37,45 ± 79,93	0,537
Proteína Total, g/dL	228	7,42 ± 0,82	7,41 ± 1,23	0,985
Albumina, g/dL	228	4,18 ± 0,65	4,05 ± 0,96	0,386
Globulina, g/dL	228	3,32 ± 0,82	3,36 ± 1,02	0,780
<b>RENAL</b>				
Uréia, mg/dL	448	19,57 ± 7,73	24,34 ± 77,63	0,399
Creatinina, mg/dL	448	1,80 ± 2,47	4,36 ± 17,26	0,057

DP: Desvio Padrão

N: Número de Pacientes \*\* Anova

Tabela 23. Análise da contagem de reticulócitos (> e ≤ 5%), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

Eventos Clínicos	N	Reticulócito	Reticulócito	Valor P
		≤ 5%	> 5%	
<b>Hemoglobina</b>				
Hemoglobina S (%)	432	87,55±5,94	87,92±6,17	0,645
Hemoglobina A2 (%)	432	2,91±1,0	3,12±0,99	0,106
Hemoglobina Fetal (%)	432	9,64±6,27	9,12±6,17	0,515
<b>Leucócitos</b>				
Leucócitos x 10 <sup>9</sup> /L	432	14,08±5,04	15,27±6,41	0,105
Neutrófilo Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	432	7007,64±3044,93	7524,39±3597,59	0,244
Bastonete Segmentado x 10 <sup>6</sup> /L	432	162,39±263,41	144,33±298,02	0,623
Eosinófilo x 10 <sup>6</sup> /L	432	753,31±1029,26	887,65±882,21	0,253
<b>Monócitos x 10<sup>6</sup>/L</b>	432	<b>628,76±502,52</b>	<b>839,17±809,25</b>	<b>0,006</b>
Linfócito x 10 <sup>6</sup> /L	432	5301,01±2853,70	5848,33±3089,17	0,159
<b>Plaquetas</b>				
Plaquetas, x 10 <sup>9</sup> /L	<b>432</b>	<b>382,73±144,14</b>	<b>423,89±137,83</b>	<b>0,014</b>
<b>Metabolismo lipídico</b>				
Colesterol Total, mg/dL	432	132,86±19,95	118,66±28,94	0,074
<b>HDL Colesterol, mg/dL</b>	<b>432</b>	<b>80,20±125,71</b>	<b>47,10±12,76</b>	<b>0,023</b>
<b>LDL Colesterol, mg/dL</b>	<b>432</b>	<b>130,12±21,91</b>	<b>118,79±29,09</b>	<b>0,048</b>
Triglicerídeos, mg/dL	432	97,68±43,30	109,31±53,76	0,351
<b>Hemólise Hepática</b>				
Aspartato Aminotransferase, U/L	432	44,60±30,45	54,49±46,48	0,127
Bilirrubina Direta, mg/dL	432	0,88±0,323	1,17±1,40	0,174
<b>Bilirrubina Indireta, mg/dL</b>	<b>432</b>	<b>1,83±1,50</b>	<b>2,67±2,05</b>	<b>0,006</b>
Ferro Sérico, mcg/dL	432	139,84±152,25	124,73±88,01	0,560
Ferritina, ng/mL	432	379,0±434,08	393,90±427,97	0,827
<b>Desidrogenase láctica, U/L</b>	432	<b>754,21±555,29</b>	<b>979,09±451,95</b>	<b>0,013</b>
<b>Disfunção Hepática</b>				
Alanina Aminotransferase, U/L	432	24,53±25,33	37,91±59,21	0,202
Proteína Total, g/dL	228	7,49±1,11	7,40±0,98	0,699
Albumina, g/dL	228	4,12±0,60	4,15±0,84	0,869
Globulina, g/dL	228	3,51±0,73	3,29±0,83	0,234
<b>Renal</b>				
Uréia, mg/dL	432	18,07±8,05	18,75±6,72	0,519
Creatinina, mg/dL	432	1,58±1,70	3,13±15,08	0,461

DP: Desvio Padrão N: Número de Pacientes \* Kruskal-Wallis \*\* Anova

Tabela 24. Análise entre o número de plaquetas ( $>$  e  $\leq 375 \times 10^9/L$ ), dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	N	Plaquetas $\leq 375 \times 10^9/L$	Plaquetas $> 375 \times 10^9/L$	Valor P
<b>PERFIL DE HEMOGLOBINA</b>				
Hemoglobina S (%)	904	87,25±6,41	87,57±6,13	0,471
Hemoglobina A2 (%)	904	2,97±0,99	3,0±1,03	0,638
Hemoglobina Fetal (%)	904	9,77±6,61	9,41±6,46	0,439
<b>HEMÓLISE</b>				
Hemácias, $\times 10^6/mm^3$	832	2,87±0,72	2,82±0,63	0,343
Hemoglobina, g/dL	832	7,84±1,72	7,80±1,23	0,804
Hematócrito, %	832	24,72±5,30	24,44±3,87	0,354
Volume Corpuscular Médio, fL	832	87,66±14,56	87,39±13,94	0,769
Hemoglobina Corpuscular Média, pg	832	27,82±4,87	28,10±4,52	0,369
<b>Concentração Hemoglobina Corpuscular Média, g/dl</b>	<b>832</b>	<b>31,69±3,06</b>	<b>32,08±2,86</b>	<b>0,044</b>
Reticulócito, %	832	6,89±4,96	7,53±5,04	0,253
<b>CONTAGEM LEUCOCITÁRIA</b>				
Leucócitos $\times 10^9/L$	832	14,72±6,23	15,19±5,76	0,251
Neutrófilos Segmentados $\times 10^6/L$	832	7520,12±3806,09	7845,68±3645,63	0,296
Bastonetes Neutrófilos $\times 10^6/L$	832	139,65±311,44	135,19±274,93	0,854
Eosinófilos Segmentados $\times 10^6/L$	832	598,0±773,66	697,15±968,32	0,180
<b>Monócitos <math>\times 10^6/L</math></b>	<b>832</b>	<b>533,08±466,60</b>	<b>652,85±737,95</b>	<b>0,024</b>
Linfócitos $\times 10^6/L$	832	6045,82±3574,21	5986,97±3359,31	0,839
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>				
Colesterol Total, mg/dL	448	122,36±30,66	120,94±25,17	0,784
HDL Colesterol, mg/dL	448	64,28±102,27	49,59±12,08	0,220
LDL Colesterol, mg/dL	448	29,29±26,51	24,75±16,74	0,275
Triglicérides, mg/dL	448	101,30±49,46	110,17±51,08	0,370
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>				
Aspartato Aminotransferase, U/L	448	77,03±187,93	60,43±93,85	0,289
Bilirrubina Direta, mg/dL	448	1,65±2,68	1,22±1,41	0,122
Bilirrubina Indireta, mg/dL	448	2,56±3,25	2,97±3,96	0,416
Ferro Sérico, mcg/dL	448	163,40±190,39	115,09±56,82	0,057
Ferritina, ng/mL	448	401,90±759,75	370,54±383,28	0,642
<b>Desidrogenase láctica, U/L</b>	<b>448</b>	<b>735,71±474,71</b>	<b>908,98±559,75</b>	<b>0,021</b>
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>				
Alanina Aminotransferase, U/L	228	48,29±142,91	42,48±121,19	0,692
Proteína Total, g/dL	228	7,31±0,84	7,46±1,02	0,408
Albumina, g/dL	228	4,13±0,60	4,14±0,83	0,934
Globulina, g/dL		3,18±0,78	3,40±0,84	0,171
<b>RENAL</b>				
Uréia, mg/dL	448	19,59±8,56	22,75±62,80	0,578
Creatinina, mg/dL	448	3,24±10,17	2,29±8,58	0,401

DP: Desvio Padrão

N: Número de Pacientes

\* Kruskal-Wallis

\*\* Anova

Tabela 25. Análise da concentração de hemoglobina ( $>$  e  $\leq$  7,0 g/dl) e dados hematológicos e bioquímicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

	N	Hemoglobina $\leq$ 7,0 g/dL	Hemoglobina $>$ 7,0 g/dL	Valor P
<b>PERFIL DE HEMOGLOBINA</b>				
Hemoglobina S (%)	904	88,76 $\pm$ 5,62	87,37 $\pm$ 6,13	0,012
Hemoglobina A2 (%)	904	3,04 $\pm$ 0,90	2,96 $\pm$ 1,01	0,374
Hemoglobina Fetal (%)	904	8,20 $\pm$ 5,86	9,66 $\pm$ 6,38	0,011
<b>CONTAGEM LEUCOCITÁRIA</b>				
Leucócitos X 10 <sup>9</sup> /L	832	16,17 $\pm$ 6,43	14,52 $\pm$ 6,0	0,010
Neutrófilos Segmentados X 10 <sup>6</sup> /L	832	7754,96 $\pm$ 3444,24	7706,05 $\pm$ 3669,54	0,888
Bastonetes Neutrófilos X 10 <sup>6</sup> /L	832	184,89 $\pm$ 342,41	131,74 $\pm$ 280,95	0,098
Eosinófilos Segmentados X 10 <sup>6</sup> /L	832	644,08 $\pm$ 918,64	661,28 $\pm$ 884,57	0,860
Monócitos Segmentados X 10 <sup>6</sup> /L	832	536,96 $\pm$ 516,54	625,32 $\pm$ 698,68	0,239
Linfócitos X 10 <sup>6</sup> /L	832	6470,13 $\pm$ 3538,17	5952,02 $\pm$ 3452,55	0,182
<b>HEMÓLISE</b>				
Reticulócito, %	448	8.24 $\pm$ 6.14	7.13 $\pm$ 4.87	0.149
<b>PLAQUETAS</b>				
Plaquetas, X 10 <sup>9</sup> /L	904	362,73 $\pm$ 152,67	403,37 $\pm$ 139,22	0,002
<b>METABOLISMO LIPÍDICO</b>				
Colesterol Total, mg/dL	448	119,22 $\pm$ 29,36	123,86 $\pm$ 26,27	0,378
HDL Colesterol, mg/dL	448	62,18 $\pm$ 95,35	50,69 $\pm$ 11,62	0,341
LDL Colesterol, mg/dL	448	24,30 $\pm$ 12,16	26,70 $\pm$ 24,07	0,547
Triglicédeos, mg/dL	448	112,51 $\pm$ 55,75	101,31 $\pm$ 46,71	0,256
<b>HEMÓLISE HEPÁTICA</b>				
Aspartato Aminotransferase, U/L	448	60,04 $\pm$ 78,86	68,97 $\pm$ 159,93	0,537
Bilirrubina Direta, mg/dL	448	1,76 $\pm$ 7,0	1,30 $\pm$ 1,3	0,138
<b>Bilirrubina Indireta, mg/dL</b>	<b>448</b>	<b>5,07<math>\pm</math>767</b>	<b>2,42<math>\pm</math>2,36</b>	<b>&lt;0,001</b>
Ferro Sérico, mcg/dL	448	93,94 $\pm$ 27,04	141,25 $\pm$ 137,84	0,176
Ferritina, ng/mL	448	453,78 $\pm$ 775,35	366,27 $\pm$ 377,90	0,191
Desidrogenase láctica, U/L	448	648,78 $\pm$ 492,27	821,95 $\pm$ 524,82	0,099
<b>DISFUNÇÃO HEPÁTICA</b>				
Alanina Aminotransferase, U/L	228	40,96 $\pm$ 84,18	45,44 $\pm$ 145,29	0,743
Proteína Total, g/dL	228	7,48 $\pm$ 0,835	7,32 $\pm$ 1,08	0,381
Albumina, g/dL	228	4,18 $\pm$ 0,56	4,07 $\pm$ 0,89	0,435
Globulina, g/dL		3,30 $\pm$ 0,79	3,35 $\pm$ 0,90	0,773
<b>RENAL</b>				
Uréia, mg/dL	448	26,02 $\pm$ 77,38	18,82 $\pm$ 6,64	0,203
Creatinina, mg/dL	448	5,50 $\pm$ 20,62	2,87 $\pm$ 12,24	0,186

DP: Desvio Padrão    N: Número de Pacientes    \* Kruskal-Wallis    \*\* Anova

## **6.5 BIOMARCADORES CLÁSSICOS E HISTÓRIA CLÍNICA EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Estão enumerados nas tabelas 26 e 27 as análises dos biomarcadores clássicos e eventos clínicos nos pacientes com AF.

Tabela 26. Análises entre biomarcadores clássicos e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

EVENTO CLÍNICO		Total	HbF ≤ 6,0 %	HbF > 6,0 %	RP	IC (95%)	Valor P
<b>Úlcera Maleolar</b>	Não	1305	484	733	1,74	1,10-2,74	<b>0,016*</b>
	Sim		47	41			
			<b>Leucócitos ≤ 15,0 x10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 15,0 x10<sup>9</sup>/L</b>			
<b>Insuficiência Respiratória</b>	Não	983	547	401	2,47	1,06-5,98	<b>0,034*</b>
	Sim		27	08			
			<b>Plaquetas ≤ 375 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 375 x 10<sup>9</sup>/L</b>			
<b>Insuficiência cardíaca</b>	Não	943	419	470	1,94	1,08-3,50	<b>0,027*</b>
	Sim		17	37			
			<b>Reticulócito ≤ 5%</b>	<b>Reticulócito &gt; 5%</b>			
<b>Crises Vaso-oclusivas</b>	Não	378	66	98	2,0	1,25-3,18	<b>0,002*</b>
	Sim		54	160			
			<b>Hemoglobina ≤ 7,0 g/dL</b>	<b>Hemoglobina &gt; 7,0 g/dL</b>			
<b>Dor Abdominal</b>	Não	1112	461	607	2,58	1,26-5,28	<b>0,009*</b>
	Sim		10	34			
<b>Necrose Avascular</b>	Não	1112	449	626	2,05	1,01-4,21	<b>0,046*</b>
	Sim		22	15			
<b>Síndrome Torácica Aguda</b>	Não	1112	423	603	1,80	1,19-2,87	<b>0,012*</b>
	Sim		48	38			
<b>Crises Vaso-oclusivas</b>	Não	1112	318	395	1,30	1,01-1,66	<b>0,043*</b>
	Sim		153	246			

HbF: Hemoglobina Fetal

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de confiança

\* Yates corrigido

## **6.6 ANÁLISE COMBINATÓRIA ENTRE A HISTÓRIA CLÍNICA E MARCADORES CLÁSSICOS UTILIZANDO MEDIANA DE QUARTIS**

As análises de mediana de quartis foram realizadas tendo como base os indivíduos que apresentaram quartis de 25 e 75, com exclusão dos pacientes que apresentaram quartis 50.

Estão enumerados nas tabelas 28 a 32 as análises dos biomarcadores clássicos e eventos clínicos, sendo que para as análises foram considerados os valores de quartis para idade, concentração de hemoglobina, número de hemácias, plaquetas, leucócitos, HDL - colesterol e ferritina.



Tabela 27. Análises dos eventos clínicos e quartis extremos (25 e 75) das idades em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

EVENTOS CLÍNICOS		Total	Idade	Idade	RP	IC (95%)	Valor P
			< 12 anos	> 28 anos			
Alterações Ósseas	Não	846	449	3	8,85	2,5-37,4	<0,001**
	Sim		372	<u>22 ↑</u>			
Crise Álgica	Não	846	290	162	1,94	1,46-2,58	<0,001*
	Sim		189	<u>205 ↑</u>			
Dor Abdominal	Não	846	441	11	9,80	1,31-204,1	<b>0,003**</b>
	Sim		<u>393 ↑</u>	01			
Dores Ósseas	Não	846	439	13	5,80	1,24-37,45	<b>0,006*</b>
	Sim		<u>392 ↑</u>	02			
Insuficiência Cardíaca	Não	846	425	27	12,45	2,86-76,23	<0,001**
	Sim		<u>392 ↑</u>	02			
Insuficiência Renal	Não	846	448	04	4,43	1,37-15,93	<b>0,003**</b>
	Sim		379	<u>15 ↑</u>			
Sequestro Esplênico	Não	846	373	79	2,57	1,61-4,11	<0,001*
	Sim		364	<u>30 ↑</u>			
Síndrome Torácica Aguda	Não	846	407	45	3,52	1,77-7,14	<0,001*
	Sim		<u>382 ↑</u>	12			
Úlcera Maleolar	Não	846	444	08	6,62	2,94-15,48	<0,001*
	Sim		352	<u>42 ↑</u>			
Crises Vaso-oclusivas	Não	846	193	259	4,95	3,61-6,80	<0,001*
	Sim		<u>310 ↑</u>	84			
Infecção	Não	846	174	152	1,76	1,27-2,46	<0,001*
	Sim		<u>214 ↑</u>	106			
Infecção do trato respiratório	Não	846	293	24	5,16	1,84-15,63	<0,001*
	Sim		<u>315 ↑</u>	05			
Pneumonia	Não	846	238	86	2,11	1,39-3,19	<0,001*
	Sim		<u>274 ↑</u>	<b>47</b>			

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de confiança

\* Yates corrigido

\*\* Teste Exato de Fisher

Tabela 28. Análise dos dados clínicos e quartis extremos para os valores de hemoglobina, hemácias, plaquetas e leucócitos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

EVENTOS CLÍNICOS		Total	Hemoglobina < 7.0 g/dl	Hemoglobina > 9.0 g/dl	RP	IC (95%)	Valor P																																																																																																																																												
Síndrome Torácica Aguda	Não	801	428	49	2.20	1.19-4.12	<b>0,005*</b>																																																																																																																																												
	Sim		308	16				Infecção	Não	759	173	280	2.08	1.53-2.82	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	172	134	Pneumonia	Não	764	300	154	1.43	1.03-1.99	<b>0,027*</b>	Sim	228	82	Transfusão Sanguínea	Não	769	174	286	1.63	1.21-2.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	154	155				<b>Hemácia &lt; 2.4 x 10<sup>6</sup>/mm</b>	<b>Hemácia &gt; 3.2 x 10<sup>6</sup>/mm</b>				Transfusão Sanguínea	Não	545	92	176	1.44	1.01-2.07	<b>0,038*</b>	Sim	119	158	Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>	Sim	367	13	Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65
Infecção	Não	759	173	280	2.08	1.53-2.82	<b>&lt;0,001*</b>																																																																																																																																												
	Sim		172	134				Pneumonia	Não	764	300	154	1.43	1.03-1.99	<b>0,027*</b>	Sim	228	82	Transfusão Sanguínea	Não	769	174	286	1.63	1.21-2.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	154	155				<b>Hemácia &lt; 2.4 x 10<sup>6</sup>/mm</b>	<b>Hemácia &gt; 3.2 x 10<sup>6</sup>/mm</b>				Transfusão Sanguínea	Não	545	92	176	1.44	1.01-2.07	<b>0,038*</b>	Sim	119	158	Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>	Sim	367	13	Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90						
Pneumonia	Não	764	300	154	1.43	1.03-1.99	<b>0,027*</b>																																																																																																																																												
	Sim		228	82				Transfusão Sanguínea	Não	769	174	286	1.63	1.21-2.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	154	155				<b>Hemácia &lt; 2.4 x 10<sup>6</sup>/mm</b>	<b>Hemácia &gt; 3.2 x 10<sup>6</sup>/mm</b>				Transfusão Sanguínea	Não	545	92	176	1.44	1.01-2.07	<b>0,038*</b>	Sim	119	158	Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>	Sim	367	13	Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																	
Transfusão Sanguínea	Não	769	174	286	1.63	1.21-2.21	<b>&lt;0,001*</b>																																																																																																																																												
	Sim		154	155							<b>Hemácia &lt; 2.4 x 10<sup>6</sup>/mm</b>	<b>Hemácia &gt; 3.2 x 10<sup>6</sup>/mm</b>				Transfusão Sanguínea	Não	545	92	176	1.44	1.01-2.07	<b>0,038*</b>	Sim	119	158	Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>	Sim	367	13	Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																												
			<b>Hemácia &lt; 2.4 x 10<sup>6</sup>/mm</b>	<b>Hemácia &gt; 3.2 x 10<sup>6</sup>/mm</b>																																																																																																																																															
Transfusão Sanguínea	Não	545	92	176	1.44	1.01-2.07	<b>0,038*</b>																																																																																																																																												
	Sim		119	158				Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>	Sim	367	13	Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																															
Dor Abdominal	Não	553	271	02	4.80	1.02-31.04	<b>0,003**</b>																																																																																																																																												
	Sim		367	13				Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>	Sim	274	06	Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																										
Insuficiência cardíaca	Não	553	251	22	4.0	1.51-11.21	<b>&lt;0,001*</b>																																																																																																																																												
	Sim		274	06				Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>	Sim	269	11	Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																																					
Síndrome Torácica Aguda	Não	553	248	25	2.47	1.13-5.46	<b>0,012*</b>																																																																																																																																												
	Sim		269	11				Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>	Sim	205	62				<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																																																
Infecção	Não	518	171	80	1.55	1.03-2.33	<b>0,027*</b>																																																																																																																																												
	Sim		205	62							<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>	Sim	131	106				<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																																																											
			<b>Plaquetas &lt; 302 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Plaquetas &gt; 486 x 10<sup>9</sup>/L</b>																																																																																																																																															
Crises Vaso-oclusivas	Não	471	157	77	1.65	1.12-2.44	<b>0,008*</b>																																																																																																																																												
	Sim		131	106							<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>				Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>	Sim	214	32	Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																																																																														
			<b>Leucócitos &lt; 11.30 x 10<sup>9</sup>/L</b>	<b>Leucócitos &gt; 17.0 x 10<sup>9</sup>/L</b>																																																																																																																																															
Síndrome Torácica Aguda	Não	490	231	13	2.66	1.30-5.50	<b>0,003*</b>																																																																																																																																												
	Sim		214	32				Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>	Sim	147	90																																																																																																																																	
Pneumonia	Não	466	167	62	1.65	1.09-2.49	<b>0,012*</b>																																																																																																																																												
	Sim		147	90																																																																																																																																															

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de confiança

\* Yates corrigido

\*\* Teste Exato de Fisher

Tabela 29. Análise dos dados clínicos e quartis dos dados bioquímicos para Desidrogenase Lática, HDL Colesterol, e Ferritina em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

EVENTOS CLÍNICOS		Total	Desidrogenas e Lática < 379.0 U/L	Desidrogenas e Lática > 1110.0 U/L	RP	IC (95%)	Valor P
Insuficiência Respiratória	Não	128	50	13	16.6	2.14-352-06	<0,001**
	Sim		64	01	4		
Dor Abdominal	Não	128	55	08	9.31	1.12-204.6	0,009**
	Sim		64	01			
Insuficiência cardíaca	Não	128	57	06	4.22	1.44-12.92	0,002*
	Sim		45	20			
Crises Vaso-oclusivas	Não	128	30	33	2.78	1.23-6.33	0,006*
	Sim		16	49			
Transfusão Sanguínea	Não	128	29	32	2.15	1.01-4.79	0,040*
	Sim		19	45			
<b>HDL Colesterol, &lt; 40,0 mg/dL</b>							
Insuficiência cardíaca	Não	65	29	03	6.28	1.40-32.31	0,004**
	Sim		20	13			
<b>Ferritina &lt; 112.0 ng/ml</b>							
Transfusão Sanguínea	Não	176	38	50	2.58	1.28-5.24	0,006*
	Sim		20	68			

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de confiança

\* Yates corrigido

\*\* Teste Exato de Fisher

## 6.7 ANÁLISE DE CORRELAÇÃO BIVARIADA

A concentração da hemoglobina demonstrou significância estatística apenas com a STA ( $p= 0,024$ ), diminuindo consecutivamente seus eventos à medida que a concentração de hemoglobina aumentava. Apesar da frequência dos eventos de internações (65 para 55%), insuficiência respiratória (7,5 para 1,9%) e necrose avascular (7,5 para 2,2%) diminuir à medida que a concentração de hemoglobina aumentava, não houve significância estatística, respectivamente,  $p= 0,437$ ;  $p= 0,335$  e  $p= 0,061$ .

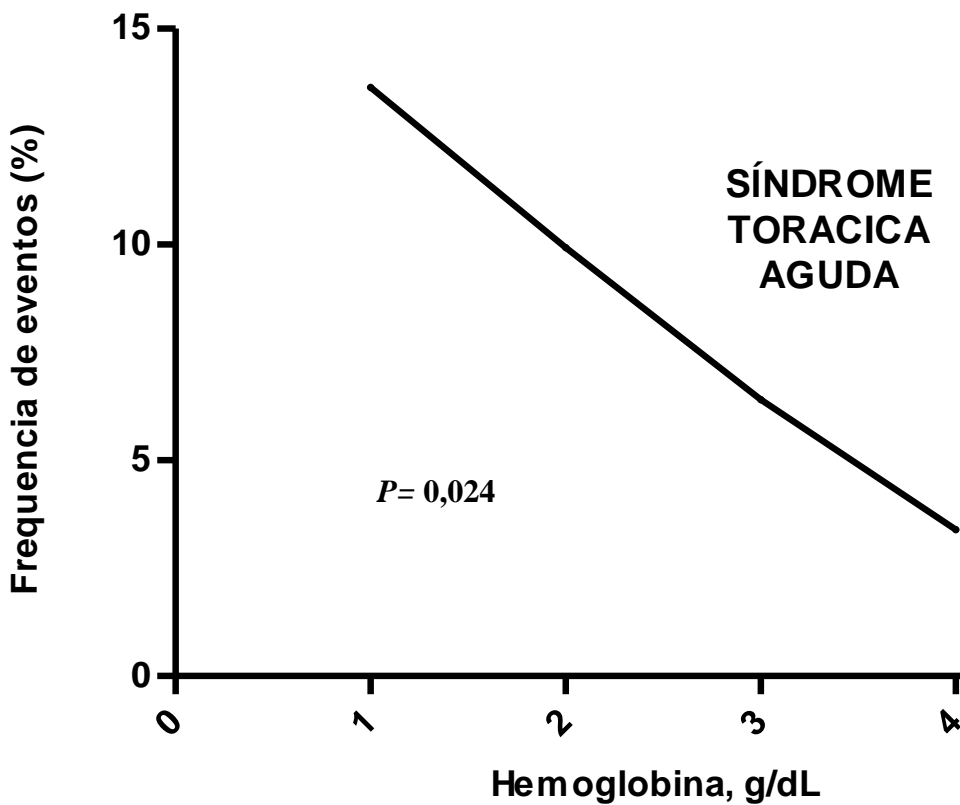


Figura 7. Análise de correlação bivariada entre os valores de hemoglobina e síndrome torácica aguda em pacientes com anemia falciforme.

Outros eventos clínicos aumentaram sua frequência, como dores ósseas (13,9 para 18,1% -  $p= 0,214$ ), colelitíase (6,7 para 8,4% -  $p= 0,151$ ) e AVC (0,1 pra 4,3% -  $p= 0,730$ ), apesar de não demonstrarem significância estatística. Vale ressaltar que a frequência de dactilite aumentou quando a concentração de hemoglobina variou entre 2 a 10 g/l. Quando a concentração de hemoglobina esteve acima de 10g/dL nos pacientes, os eventos de dactilite caíram pela metade ( $p= 0,375$ ).

## **6.8 ANÁLISE UNIVARIDA ENTRE IDADE E HISTÓRIA CLÍNICA.**

Análise univarida realizada na intenção de verificar a frequência de eventos clínicos ocorridas nos pacientes com AF de acordo com a idade pediátrica ( $\leq 21$  anos) e adulta ( $> 21$  anos). Os resultados estão enumerados na tabela 30 e na figura 8.

Tabela 30. Análise univariada dos eventos clínicos entre idades (&gt; e ≤ 21 anos) em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

EVENTOS CLÍNICOS	Idade (anos)	Pacientes (N)	Frequências dos Eventos (%)	RP (IC)	Valor P
‡ Síndrome Torácica Aguda	> 21	23	4,3	2,1 (1,26-3,42)	<b>0,002</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>86</b>	<b>8,51</b>		
Alterações Ósseas	<u>&gt; 21 ↑</u>	<b>28</b>	<b>5,23</b>	2,74 (1,53-4,91)	<b>&lt;0,001</b>
	< 21	20	1,98		
Insuficiência cardíaca	> 21	03	0,56	9,03 (2,7-36,45)	<b>&lt;0,001</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>49</b>	<b>5,09</b>		
Úlcera Maleolar	<u>&gt; 21 ↑</u>	<b>52</b>	<b>8,4</b>	3,92 (2,38-6,50)	<b>&lt;0,001</b>
	< 21	27	2,4		
‡† Crise Álgica	<u>&gt; 21 ↑</u>	<b>282</b>	<b>52,7</b>	1,44 (1,16-1,77)	<b>&lt;0,001</b>
	< 21	442	43,7		
‡ Crises Vaso-oclusivas	> 21	367	68,6	1,35 (1,09-1,75)	<b>0,007</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>760</b>	<b>75,2</b>		
‡† Dor Abdominal	> 21	06	1,12	3,73 (1,5-9,82)	<b>0,002</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>41</b>	<b>4,05</b>		
‡† Dores Ósseas	> 21	11	2,53	8,17 (4,26-16,07)	<b>&lt;0,001</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>148</b>	<b>14,64</b>		
Insuficiência renal	<u>&gt; 21 ↑</u>	<b>22</b>	<b>4,11</b>	2,37 (1,26-4,45)	<b>0,008</b>
	< 21	18	1,78		
Sequestro Hepatoesplênico	> 21	42	7,85	2,16 (1,49-3,14)	<b>&lt;0,001</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>157</b>	<b>15,53</b>		
Acidente Vascular Cerebral	> 21	26	4,85	1,55 (1,01-2,51)	<b>0,028</b>
	<u>&lt; 21 ↑</u>	<b>74</b>	<b>7,31</b>		

\* Total de 1547 pacientes.

† Dactilite foi excluída

‡ Pacientes que tiveram 1 ou mais eventos clínicos

IC: Intervalo de Confiança 95%

\* Yates Corrigido

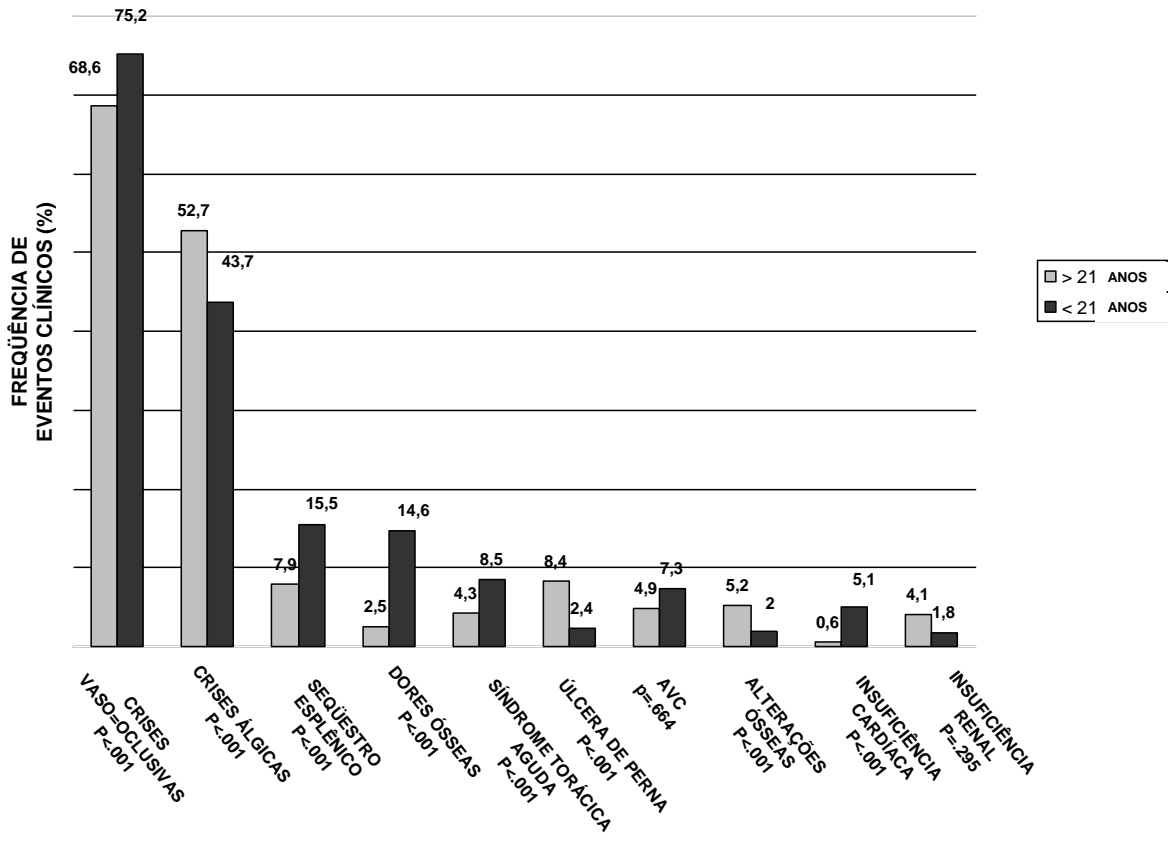


Figura 8. Análise univariada dos eventos clínicos entre idades (> e ≤ 21 anos) em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.



## 6.9. ANÁLISE MULTIVARIADA EM MODELOS COM VARIÁVEIS CLÍNICAS DEPENDENTES E MARCADORES CLÁSSICOS DE PROGNÓSTICOS NA ANEMIA FALCIFORME

Em nosso estudo, a análise multivariada realizada foi a regressão logística binária. A variável dependente foi representada pelos eventos clínicos apresentados pelos pacientes com AF e as variáveis independentes pelos marcadores clássicos de prognósticos já conhecidos: Concentração da HbF ( $\leq$  e  $>$  5%), contagem de reticulócitos ( $\leq$  e  $>$  5%) e Leucócitos ( $\leq$  e  $>$   $15,0 \times 10^9/L$ ), haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* e presença da talassemia alfa. Após análise de nossos resultados relativos a dados hematológicos, decidimos adicionar como variável independente a contagem de plaquetas ( $\leq$  e  $>$   $375 \times 10^9/L$ ) e dosagem de hemoglobina ( $\leq$  e  $>$  7 g/dl), além do sexo dos pacientes.

Nossas análises demonstraram os homens são os mais afetados com os eventos clínicos que acometem indivíduos portadores da AF. Verificamos que apesar de alguns marcadores clássicos de prognósticos na AF terem efeito isoladamente na clínica dos pacientes, como a hemoglobina fetal, por exemplo, quando em sinergismo com outros marcadores, este efeito é bem mais característico (Tabelas 31 a 35).

Verificamos que os eventos de AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações são cerca de duas vezes mais frequentes nos homens com AF e que existe uma associação dependente do sinergismo entre os haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* e talassemia alfa para este modelo. Pacientes homens com genótipo CAR e portador da talassemia alfa foram mais propensos à ocorrência desses eventos clínicos, enquanto o genótipo Ben foi protetor. As análises dos eventos de dores ósseas demonstraram não haver relação do sexo, porém, pacientes com haplótipo CAR com contagem de plaquetas maior que  $375 \times 10^9/l$ , demonstraram possuir até três vezes mais eventos de dores ósseas (Tabela 31).

Tabela 31. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L		IC	
					$\chi$	SIG.		
VARIÁVEL DEPENDENTE <b>ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL</b>								
SEXO (MULHERES)	0,482	0,355	1,619				0,58	4,50
BEN/BEN vs CAR/BEN	-0,238	0,643	0,788	91,22	8,23	0,041	0,29	2,16
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>-1,328</b>	<b>0,009</b>	<b>0,264</b>				0,10	0,72
VARIÁVEL DEPENDENTE <b>CRISES VASO-OCCLUSIVAS</b>								
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,535</b>	<b>0,013</b>	<b>1,707</b>				1,11	2,60
CAR/BEN vs CAR/CAR	0,326	0,174	1,386	73,91	7,92	0,047	0,86	2,22
HBF (>6%)	0,016	0,941	1,016				0,66	1,55
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,545</b>	<b>0,031</b>	<b>1,726</b>				1,05	2,83
CAR/BEN vs CAR/CAR	-0,117	0,656	0,889	81,31	7,87	0,048	0,53	1,49
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-0,636	0,051	0,527				0,27	1,011
VARIÁVEL DEPENDENTE <b>DOR ÓSSEA</b>								
BEN/BEN vs CAR/BEN	-0,090	0,779	0,913				0,48	1,72
HBF (>6%)	-0,293	0,387	0,745	86,42	11,32	0,010	0,38	1,45
<b>PLAQUETAS (&lt;375 X10<sup>9</sup>/L)</b>	<b>1,131</b>	<b>0,002</b>	<b>3,099</b>				1,48	6,47
BEN/BEN vs CAR/BEN	-0,086	0,781	0,917				0,49	1,69
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-,0945	0,123	0,385	87,83	10,73	0,013	0,11	1,29
<b>PLAQUETAS (&lt;375 X10<sup>9</sup>/L)</b>	<b>0,824</b>	<b>0,019</b>	<b>2,280</b>				1,14	4,53
VARIÁVEL DEPENDENTE <b>HOSPITALIZAÇÕES</b>								
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,544</b>	<b>0,008</b>	<b>1,722</b>				1,15	2,57
HBF (>6%)	0,211	0,308	1,235	57,65	9,37	0,024	0,82	1,85
CAR/BEN vs CAR/CAR	0,206	0,654	1,23				0,79	1,90
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,531</b>	<b>0,004</b>	<b>1,70</b>				1,17	2,45
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,067	0,753	1,071	56,48	11,05	0,011	0,70	1,63
HBF (>6%)	0,316	0,103	1,371				0,94	2,01
<b>TALASSEMIA (SELVAGEM)</b>	<b>0,840</b>	<b>0,036</b>	<b>2,316</b>				1,05	5,09
HBF (>6%)	0,694	0,051	2,002	65,24	9,47	0,023	0,99	4,02
RETICULÓCITOS (<5%)	0,447	0,182	1,56				0,80	3,02

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&amp;L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão

A tabela 32 enumera as análises significativas relativas à crise álgica nos pacientes com AF, demonstrando que mulheres com haplótipo CAR possuem duas vezes mais chances deste evento quando a contagem de reticulócitos for menor que 5%. A contagem de reticulócitos menor que 5% também apresentou a mesma associação quando a concentração da hemoglobina fetal foi maior que 6%, porém sem influência do sexo. Uma análise interessante foi à presença da talassemia alfa com haplótipo CAR, influenciando ao aumento de até 2,3 vezes o evento de crise álgica nos pacientes com contagem de reticulócitos acima de 5%. Já a ausência da talassemia alfa, hemoglobina fetal maior que 6% e contagem de reticulócitos abaixo de 5% protegeram os pacientes com AF em até 2,4 vezes de terem crise álgica. Ao associarmos a presença da concentração da hemoglobina fetal acima de 6% com a contagem de plaquetas menores que  $375 \times 10^9/L$ , verificamos que os pacientes com haplótipos CAR possuem até duas vezes mais eventos de crise álgica (Tabela 32).

Tabela 32. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de crise álgica apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L		IC	
					$\chi$	SIG.		
VARIÁVEL DEPENDENTE CRISE ÁLGICA								
SEXO (MULHERES)	-0,554	3,13	0,575				0,31	1,06
<b><u>BEN/BEN vs CAR/BEN</u></b>	<b><u>0,669</u></b>	<b><u>0,032</u></b>	<b><u>1,954</u></b>	67,76	9,38	0,024	1,05	3,60
RETICULÓCITOS (<5%)	0,487	0,129	1,625				0,86	3,04
SEXO (MULHERES)	0,041	0,887	1,042				0,59	1,84
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,716	0,401	2,046	68,0	8,45	0,037	1,03	4,05
<b><u>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</u></b>	<b><u>0,622</u></b>	<b><u>0,034</u></b>	<b><u>1,863</u></b>				1,04	3,32
BEN/BEN vs CAR/CAR	0,380	0,190	1,463				0,83	2,58
HBF (>6%)	0,409	1,576	1,506	66,37	9,94	0,019	0,85	2,65
<b><u>PLAQUETAS (&lt;375 X10<sup>9</sup>/L)</u></b>	<b><u>0,715</u></b>	<b><u>0,011</u></b>	<b><u>2,045</u></b>				1,17	3,55
<b><u>BEN/BEN vs CAR/BEN</u></b>	<b><u>0,773</u></b>	<b><u>0,035</u></b>	<b><u>2,17</u></b>				1,05	4,46
TALASSEMIA (SELVAGEM)	-0,058	0,888	0,942	70,47	10,30	0,016	0,41	2,14
<b><u>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</u></b>	<b><u>-0,831</u></b>	<b><u>0,025</u></b>	<b><u>2,29</u></b>				0,10	4,75
<b><u>BEN/BEN vs CAR/BEN</u></b>	<b><u>0,830</u></b>	<b><u>0,025</u></b>	<b><u>2,29</u></b>				1,13	4,62
HBF (>6%)	0,103	0,778	1,109	70,25	7,99	0,046	0,53	2,28
RETICULÓCITOS (<5%)	0,546	1,376	1,72				0,83	3,54
BEN/BEN vs CAR/BEN	0,390	0,091	1,48				0,93	2,32
HBF (>6%)	0,432	0,071	1,541	66,47	11,65	0,008	0,96	2,46
<b><u>PLAQUETAS (&lt;375 X10<sup>9</sup>/L)</u></b>	<b><u>0,550</u></b>	<b><u>0,016</u></b>	<b><u>1,734</u></b>				1,10	2,71
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,825	0,065	2,282				0,94	5,49
HBF (>6%)	0,738	0,061	2,092	72,51	12,41	0,006	0,96	4,53
<b><u>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</u></b>	<b><u>0,865</u></b>	<b><u>0,016</u></b>	<b><u>2,377</u></b>				1,17	4,81
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,729	0,051	2,074				0,99	4,33
<b><u>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</u></b>	<b><u>0,682</u></b>	<b><u>0,034</u></b>	<b><u>1,979</u></b>	70,30	8,19	0,042	1,05	3,72
PLAQUETAS (<375 X10 <sup>9</sup> /L)	-0,179	0,600	0,836				0,52	1,63

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão

A tabela 33 enumera as análises significativas relativas aos eventos de sequestro esplênico em pacientes com AF, demonstrando que mulheres com AF possuem frequências que variam de 1,8 a 2,8 vezes menos desses eventos quando selvagem para talassemia alfa e concentração de HbF maior que 6%; contagem de reticulócitos menores que 5% sem influencia da concentração HbF ou com valores de hemoglobina maior que 7,0 g/dl ou com contagem de plaquetas maior que 375 x10<sup>9</sup>/L. A ausência da talassemia alfa influenciou de maneira protetora para eventos de sequestro esplênico quando associadas a concentrações de HbF maior que 6% e contagem de reticulócitos menor que 5%; valores de hemoglobina menor que 7,0 g/dl e contagem de reticulócitos menor que 5%; contagem de reticulócitos menor que 5% e plaquetas menores que 375 x10<sup>9</sup>/L.

Tabela 33. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de sequestro esplênico apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L $\chi$	SIG,	IC
VARIÁVEL DEPENDENTE SEQUESTRO ESPLÊNICO							
SEXO (MULHERES)	0,316	0,355	1,373				0,70 2,68
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,519	0,153	1,680	80,0	9,96	0,018	0,82 3,42
<b>HBF (&gt;6%)</b>	<b>1,032</b>	<b>0,008</b>	<b>2,806</b>				1,30 6,06
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,770</b>	<b>0,014</b>	<b>2,161</b>				1,16 3,99
HBF (>6%)	-0,055	0,857	0,945	79,78	8,16	0,042	0,51 1,73
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>0,502</b>	<b>0,119</b>	<b>1,652</b>				0,88 3,10
SEXO (MULHERES)	<b>0,617</b>	<b>0,017</b>	<b>1,854</b>				1,116 3,08
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	0,043	0,901	1,045	76,54	10,44	0,015	0,52 2,09
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>0,614</b>	<b>0,025</b>	<b>1,848</b>				1,08 3,16
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,589</b>	<b>0,025</b>	<b>1,803</b>				1,07 3,02
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>0,601</b>	<b>0,033</b>	<b>1,825</b>	75,54	9,08	0,028	1,05 3,17
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	-0,144	0,584	0,865				0,51 1,45
<b>SEXO (MULHERES)</b>	<b>0,554</b>	<b>0,037</b>	<b>1,741</b>				1,03 2,93
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>0,608</b>	<b>0,033</b>	<b>1,837</b>	76,44	9,11	0,027	1,04 3,22
PLAQUETAS (<375 X10 <sup>9</sup> /L)	0,164	0,547	1,178				0,69 2,01
<b>TALASSEMIA (SELVAGEM)</b>	<b>1,021</b>	<b>0,016</b>	<b>2,775</b>				1,20 6,37
HBF (>6%)	-0,201	0,642	0,817	80,0	11,32	0,010	0,34 1,91
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>1,023</b>	<b>0,023</b>	<b>2,781</b>				1,14 6,75
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,475	0,192	1,608				0,78 3,28
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-0,625	0,336	0,535	79,17	9,14	0,027	0,14 1,91
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>0,944</b>	<b>0,016</b>	<b>2,572</b>				1,18 5,57
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,198	0,610	1,219				0,56 2,61
<b>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</b>	<b>1,238</b>	<b>0,004</b>	<b>3,449</b>	79,70	10,32	0,016	1,46 8,09
PLAQUETAS (<375 X10 <sup>9</sup> /L)	-,520	0,169	0,594				0,28 1,24

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão

As análises de regressão logísticas significativas para STA em pacientes com AF demonstrou que os haplótipos ligados ao grupo dos genes da globina beta e a ausência da talassemia alfa possuem influência central na frequência de até seis vezes menor dos eventos de STA ocorridos em mulheres comparadas aos homens quando associadas aos mesmos valores de concentração da HbF, contagem de reticulócitos, plaquetas, leucócitos e hemoglobina (Tabela 34A e 34B).

Tabela 34A. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de síndrome torácica aguda apresentada nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L		IC	
					$\chi$	SIG.		
VARIÁVEL DEPENDENTE SÍNDROME TORACICA AGUDA								
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>0,970</u></b>	<b><u>0,011</u></b>	<b><u>2,638</u></b>				1,24	5,60
CAR/BEN vs CAR/CAR	-0,403	0,299	0,667	89,34	9,32	0,025	0,31	1,43
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,409	0,257	1,506				0,74	3,05
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,750</u></b>	<b><u>0,006</u></b>	<b><u>5,755</u></b>				1,62	20,36
BEN/BEN vs CAR/CAR	0,296	0,542	1,345	93,30	11,45	0,009	0,28	1,92
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,607	0,253	1,835				0,64	5,19
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,302</u></b>	<b><u>0,012</u></b>	<b><u>3,676</u></b>				1,32	10,18
BEN/BEN vs CAR/CAR	0,216	0,620	1,242	93,13	7,86	0,048	0,52	2,93
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-0,022	0,969	0,978				0,31	3,04
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>2,263</u></b>	<b><u>0,004</u></b>	<b><u>9,615</u></b>				2,05	44,95
BEN/BEN vs CAR/CAR	0,781	0,184	2,185	89,44	15,51	<0,001	0,68	6,93
RETICULÓCITOS (<5%)	0,735	0,254	2,086				0,59	7,38
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,250</u></b>	<b><u>0,016</u></b>	<b><u>3,491</u></b>				1,25	9,73
BEN/BEN vs CAR/CAR	0,110	0,803	1,117	91,87	10,07	0,018	0,46	2,67
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	0,707	0,113	2,029				0,85	4,87
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>0,860</u></b>	<b><u>0,022</u></b>	<b><u>2,364</u></b>				1,12	4,95
BEN/BEN vs CAR/BEN	0,734	0,067	2,084	90,62	12,01	0,007	0,94	4,57
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,521	0,153	1,681				0,82	3,44
SEXO (MULHERES)	0,589	0,069	1,802				0,95	3,40
<b><u>BEN/BEN vs CAR/BEN</u></b>	<b><u>0,731</u></b>	<b><u>0,036</u></b>	<b><u>2,077</u></b>	90,23	8,16	0,034	1,04	4,12
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	0,148	0,721	1,160				0,51	2,61
SEXO (MULHERES)	0,522	0,238	1,686				0,70	4,01
BEN/BEN vs CAR/BEN	0,861	0,084	2,367	87,32	11,91	0,007	0,89	6,29
<b><u>RETICULÓCITOS (&lt;5%)</u></b>	<b><u>1,450</u></b>	<b><u>0,023</u></b>	<b><u>4,264</u></b>				1,21	14,92
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,092</u></b>	<b><u>0,002</u></b>	<b><u>2,982</u></b>				1,45	6,10
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,566	0,106	1,762	92,26	12,13	0,007	0,88	3,50
HBF (>6%)	0,105	0,755	1,111				0,57	2,15
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,059</u></b>	<b><u>0,001</u></b>	<b><u>2,885</u></b>				1,49	5,58
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,495	0,124	1,640	90,29	14,49	0,002	0,87	3,08
HEMOGLOBINA (>7G/DL)	0,413	0,265	1,511				0,73	3,12
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b><u>1,055</u></b>	<b><u>0,012</u></b>	<b><u>2,874</u></b>				1,25	6,60
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,469	0,262	1,599	86,22	9,43	0,024	0,70	3,63
RETICULÓCITOS (<5%)	0,593	0,167	1,811				0,77	4,20

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão



Tabela 34B. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de síndrome torácica aguda apresentada nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L $\chi$	SIG,	IC
<b>VARIÁVEL DEPENDENTE</b>							
<b>SÍNDROME TORACICA AGUDA</b>							
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b>0,957</b>	<b>0,004</b>	<b>2,604</b>				1,33 5,07
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,454	0,162	1,575	89,16	11,01	0,011	0,83 2,97
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	0,206	0,502	1,229				0,67 2,24
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b>0,860</b>	<b>0,012</b>	<b>2,365</b>				1,20 4,64
TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,424	0,213	1,528	90,15	7,87	0,048	0,78 2,97
PLAQUETAS (<375 X10 <sup>9</sup> /L)	0,059	0,853	1,061				0,56 2,01
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b>0,760</b>	<b>0,035</b>	<b>2,138</b>				1,05 4,34
HEMOGLOBINA (>7 G/DL)	0,215	0,635	1,240	89,11	8,20	0,042	0,51 3,02
RETICULÓCITOS (<5%)	0,710	0,066	2,035				0,95 4,34
<b><u>SEXO (MULHERES)</u></b>	<b>0,575</b>	<b>0,017</b>	<b>1,778</b>				1,10 2,85
HEMOGLOBINA (>7 G/DL)	0,264	0,360	1,303	91,24	8,72	0,003	0,74 2,29
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	0,270	0,241	1,309				0,83 2,05

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão

Para os eventos de úlcera maleolar, verificamos que a concentração da HbF é um fator de risco potencial. A tabela 35 enumera os valores significativos da regressão logística realizada para eventos de úlcera maleolar em pacientes com AF. Nossos resultados demonstram que a concentração de HbF maior que 6% protege as mulheres de eventos de úlcera maleolar em até três vezes quando portadora do genótipo Bem ou da talassemia alfa. Entretanto, mulheres com concentração de HbF maior que 6% e contagem de reticulócitos maior que 5% possuem frequência de quase cinco vezes mais que os homens desse evento. A presença da talassemia alfa em pacientes com concentrações de HbF maior que 6% apresentaram frequência de eventos até três vezes maior quando associada ao haplótipo CAR/CAR, valores de hemoglobina maiores que 7,0 g/dL ou contagem global de leucócitos maiores que  $15,0 \times 10^9/L$ , enquanto que pacientes com genótipo Ben/Ben portadores da talassemia alfa apresentaram frequência de eventos de úlcera maleolar até 5 vezes maior quando os valores de hemoglobina estivessem maiores que 7,0 g/dl. Entretanto, a ausência da talassemia alfa em pacientes com concentrações de HbF maior que 6% apresentaram frequência de eventos de úlcera maleolar até sete vezes maior quando a contagem de reticulócitos fosse menor que 5%, enquanto que a presença da talassemia alfa em pacientes com concentrações de HbF maior que 6% apresentaram frequência de eventos de úlcera maleolar até três vezes maior quando os valores de hemoglobina e leucócitos estivessem maiores que 7,0 g/dl e  $15,0 \times 10^9/L$ , respectivamente (tabela 35).

Tabela 35. Análise de regressão logística binária para marcadores clássicos de prognósticos em eventos de úlcera maleolar apresentado nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

VARIÁVEIS INDEPENDENTES	B	VALOR P	RP	PAM (%)	H & L		IC	
					$\chi$	SIG.		
VARIÁVEL DEPENDENTE ÚLCERA MALEOLAR								
SEXO (MULHERES) CAR/BEN vs CAR/CAR	0,562 0,087	0,151 0,828	1,754 1,091	93,26	11,14	0,011	0,81 0,49	3,78 2,41
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,109</u></b>	<b><u>0,005</u></b>	<b><u>3,032</u></b>				1,39	6,61
SEXO (MULHERES) BEN/BEN vs CAR/BEN	0,545 0,347	0,160 0,384	1,726 1,414	94,30	11,42	0,009	0,80 0,64	3,70 3,09
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,051</u></b>	<b><u>0,006</u></b>	<b><u>2,860</u></b>				1,33	6,11
SEXO (MULHERES) TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,508 -0,324	0,181 0,489	1,662 0,723	93,96	11,70	0,008	0,78 0,28	3,49 1,81
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,115</u></b>	<b><u>0,003</u></b>	<b><u>3,052</u></b>				1,45	6,40
SEXO (MULHERES) RETICULÓCITOS (<5%)	-0,676 -0,128	0,162 0,791	0,510 0,879	92,42	10,97	0,011	0,19 1,62	1,31 11,91
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,482</u></b>	<b><u>0,003</u></b>	<b><u>4,404</u></b>				0,34	2,27
CAR/BEN vs CAR/CAR TALASSEMIA (SELVAGEM)	-0,509 -0,066	0,279 0,902	1,664 0,935	92,25	7,86	0,048	0,66 0,32	4,19 2,70
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,156</u></b>	<b><u>0,016</u></b>	<b><u>3,179</u></b>				1,23	8,19
CAR/BEN vs CAR/CAR HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-0,067 0,077	0,881 0,893	0,935 1,080	92,75	8,85	0,031	0,38 1,48	2,26 8,48
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,265</u></b>	<b><u>0,004</u></b>	<b><u>3,545</u></b>				0,34	3,34
CAR/BEN vs CAR/CAR LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	0,144 -0,935	0,771 0,080	1,155 0,392	93,55	9,20	0,026	0,43 0,13	3,05 1,12
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,153</u></b>	<b><u>0,018</u></b>	<b><u>3,170</u></b>				1,21	8,26
BEN/BEN vs CAR/CAR TALASSEMIA (SELVAGEM)	1,146 -0,139	0,061 0,865	3,146 0,870	93,93	9,77	0,021	0,95 0,17	10,43 4,31
<b><u>HEMOGLOBINA (&gt;7G/DL)</u></b>	<b><u>1,642</u></b>	<b><u>0,008</u></b>	<b><u>5,167</u></b>				1,52	17,52
BEN/BEN vs CAR/CAR HEMOGLOBINA (>7G/DL)	0,866 -0,954	0,088 0,096	2,378 0,384	93,19	9,94	0,019	0,88 1,47	6,43 12,23
<b><u>HEMOGLOBINA (&gt;7G/DL)</u></b>	<b><u>1,447</u></b>	<b><u>0,007</u></b>	<b><u>4,252</u></b>				1,47	12,23
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L) TALASSEMIA (SELVAGEM)	-0,954 -0,250	0,096 0,601	0,384 0,778	92,98	10,88	0,012	0,12 0,30	1,18 2,01
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,188</u></b>	<b><u>0,003</u></b>	<b><u>3,282</u></b>				1,49	7,18
HEMOGLOBINA (>7G/DL) TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,424 1,010	0,362 0,123	1,528 2,746	92,73	10,58	0,014	0,61 0,76	3,80 9,912
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,938</u></b>	<b><u>0,005</u></b>	<b><u>6,949</u></b>				1,74	27,61
RETICULÓCITOS (<5%) TALASSEMIA (SELVAGEM)	0,141 -0,403	0,817 0,486	1,159 0,668	94,51	8,67	0,034	0,24 0,21	3,03 2,70
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,102</u></b>	<b><u>0,020</u></b>	<b><u>3,012</u></b>				1,18	7,63
LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L) HEMOGLOBINA (>7G/DL)	-0,904 -0,118	0,090 0,859	0,405 0,888	92,34	7,87	0,047	0,14 0,23	1,15 3,29
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,456</u></b>	<b><u>0,004</u></b>	<b><u>4,291</u></b>				1,59	11,56
RETICULÓCITOS (<5%) LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	-0,010 -0,615	0,983 0,246	0,99 0,540				0,39 0,19	2,53 1,53
<b><u>HBF (&gt;6%)</u></b>	<b><u>1,238</u></b>	<b><u>0,018</u></b>	<b><u>3,451</u></b>				1,23	9,64
RETICULÓCITOS (<5%) LEUCÓCITOS (<15X10 <sup>9</sup> /L)	0,542 -0,615	0,281 0,246	1,719 0,540	92,34	7,87	0,047	0,58 0,19	5,09 1,53

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

H&L: Teste Hosmer e Lemeshow

PAM: Percentual de Acerto do Modelo

B: coeficiente de regressão

## 6.9 ANÁLISE UTILIZANDO A CURVA ROC

A Curva ROC foi gerada para descrever a relação entre a variável de probabilidade calculada e os resultados observados. Também foi utilizado o método de riscos proporcionais de Cox para estimativa do tempo de ocorrência de um resultado adverso pelos valores hematológicos e bioquímicos.

Um total de 1800 pacientes com AF foi incluído na análise. O eixo x indica a taxa de falsos positivos, o eixo y à esquerda indica a sensibilidade (proporção de pacientes que foram corretamente classificados como portadores de doença grave), e o eixo y à direita indica o limiar utilizado para classificar um paciente como portador de doença grave. A área, o intervalo de confiança e valor de p são mostrados na figura 9.

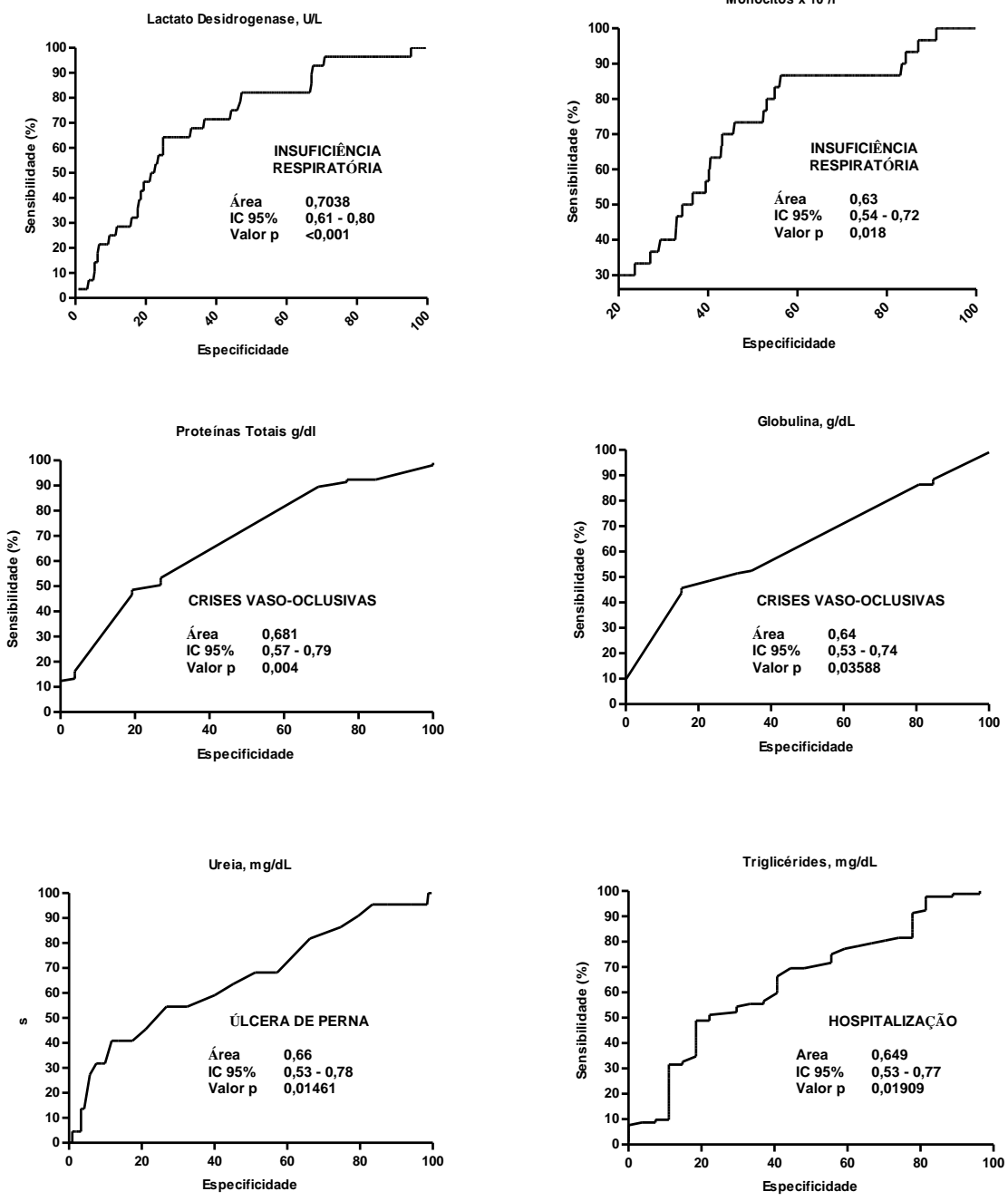


Figura 9. Curva ROC descrever a relação entre a variável clinica e dados hematológicos e bioquímicos.

## 6.10 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO (SOROPREVALÊNCIA)

Foram realizadas sorologias em 1379 pacientes com AF com soroprevalência positiva em 264 (19,6%) indivíduos (Tabela 36). Ao associarmos os eventos clínicos dos pacientes com AF com soroprevalência positiva, encontramos resultados significativos para alterações ósseas ( $p < 0,001$ ), hospitalização ( $p = 0,036$ ), úlcera de perna ( $p = < 0,001$ ), crise algica ( $p = 0,003$ ) e insuficiência respiratória ( $p < 0,001$ ) (Tabela 2).

Devido à soroprevalência positiva elevada para o vírus da hepatite C (VHC) (13,4%) e HTLV-I/II na população estudada, realizamos associações separadas para com os eventos clínicos dos pacientes. Para VHC, resultados significativos foram demonstrados para alterações ósseas (OR: 2,17, IC 95%: 1,12-4,14,  $p = 0,017$ ), úlcera de perna (OR: 1,78, IC 95%: 1,04-3,03,  $p = 0,031$ ) e crises dolorosas (OR: 1,48, IC 95%: 1,06-2,07,  $p = 0,020$ ), enquanto para HTLV-I/II, para alterações ósseas (OR: 2,79, IC 95%: 1,10-6,78,  $p = 0,022$ ), insuficiência respiratória aguda (OR: 2,66, IC 95%: 1,26-5,51,  $p = 0,012$ ) e úlcera de perna (OR: 3,67, IC 95%: 1,85-7,19,  $p < 0,001$ ) (Tabela 37).

Associação entre as soroprevalência positiva e negativa foi realizada com os dados hematológicos e bioquímicos, com resultados significativos para VHC, respectivamente colesterol de baixa densidade (LDL) ( $19,54 \pm 8,34$  e  $26,39 \pm 14,91$  mg/dl,  $p = 0,027$ ), triglicérides ( $96,78 \pm 40,98$  e  $132,23 \pm 74,82$  mg/dl,  $p = 0,021$ ) e ferritina ( $351,25 \pm 371,62$  e  $1212,74 \pm 624,22$  ng/ml,  $p = 0,007$ ), enquanto para HTLV-I/II, hemácias ( $2,86 \pm 0,66$  e  $3,10 \pm 0,68 \times 10^6/\text{mm}^3$ ,  $p = 0,029$ ), hemoglobina ( $7,78 \pm 1,49$  e  $8,38 \pm 1,46$  g/dl,  $p = 0,008$ ) e hematócrito ( $24,68 \pm 4,74$  e  $26,40 \pm 5,35$  %,  $p = 0,018$ ).

Dos 170 pacientes com soroprevalência positiva, 45 tinham soroprevalência positiva para HCV e HTLV-1 concomitantemente, com resultado significativo para úlceras de perna (OR: 3,71, IC 95% 1,65-8,14,  $p < 0,001$ ).

Tabela 36. Soroprevalência nos pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

SOROPREVALÊNCIA	N	FREQUÊNCIA (%)	
		SIM	NÃO
<b>DOENÇAS DE CHAGAS (Chagas)</b>	40 (2,8)	1374 (97,0)	1309 (97,0)
<b>VÍRUS DA HEPATITE B (VHB)</b>	44 (3,1)	1369 (96,8)	1306 (96,8)
<b>VÍRUS DA HEPATITE C (VHC)</b>	190 (13,4)	1225 (86,6)	1162 (86,1)
<b>VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV)</b>	11 (0,8)	1402 (99,2)	1338 (99,2)
<b>VÍRUS T-LINFOTRÓPICOS HUMANOS (HTLV-1/II)</b>	67 (4,7)	1345(95,1)	1283 (95,1)
<b>SÍFILIS</b>	05 (0,4%)	1369 (99,6%)	1344 (99,6%)

**N:** Número de pacientes

Tabela 37. Análise entre soroprevalência positiva e dados clínicos em pacientes com anemia falciforme de Salvador-Bahia.

HISTÓRIA CLÍNICA	SOROLOGIA NEGATIVA		SOROLOGIA POSITIVA		Valor p	RP (IC)
	SIM N (%)	NÃO N (%)	SIM N (%)	NÃO N (%)		
DOR ABDOMINAL	23	1062	05	254	0,959*	0,91 (0,30-2,57)
SÍNDROME TORÁCICA AGUDA	61	1024	19	240	0,367*	1,33 (0,75-2,34)
NECROSE AVASCULAR	32	1053	05	254	0,490*	0,65 (0,22-1,78)
<b>ALTERAÇÕES ÓSSEAS</b>	<b>37</b>	<b>1048</b>	<b>23</b>	<b>236</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>2,76 (1,55-4,91)</b>
DORES ÓSSEAS	116	969	25	234	0,705*	0,89 (0,55-1,44)
INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	27	1058	11	248	0,184*	1,74 (0,79-3,74)
COLELITÍASE	24	1061	05	251	0,545*	1,41 (0,57-3,36)
DACTILITE	38	1047	08	251	0,889*	0,88 (0,37-2,0)
<b>HOSPITALIZAÇÕES</b>	<b>778</b>	<b>308</b>	<b>203</b>	<b>56</b>	<b>0,036*</b>	<b>1,43 (1,02-2,01)</b>
INFEÇÃO	302	745	76	186	0,980*	1,01 (0,74-1,38)
<b>ÚLCERA MALEOLAR</b>	<b>33</b>	<b>1016</b>	<b>37</b>	<b>222</b>	<b>&lt;0,001*</b>	<b>2,57 (1,63-4,05)</b>
<b>CRISE ÁLGICA</b>	<b>585</b>	<b>500</b>	<b>166</b>	<b>93</b>	<b>0,003*</b>	<b>1,53 (1,14-2,05)</b>
INSUFICIÊNCIA RENAL	37	1048	11	248	0,641*	1,26 (0,59-2,62)
LITÍASE BILIAR	10	1075	06	253	0,069**	2,55 (0,81-7,76)
<b>INSUFICIÊNCIA RESPIRATÓRIA</b>	<b>70</b>	<b>1015</b>	<b>32</b>	<b>227</b>	<b>&lt;0,001*</b>	<b>2,04 (1,28-3,26)</b>
RETINOPATIA	17	1068	03	256	0,442**	0,74 (0,17-2,71)
SEQÜESTRO HEPATOESPLÊNICO	134	951	31	228	0,950*	0,96 (0,62-1,50)
<b>ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL</b>	<b>64</b>	<b>1041</b>	<b>24</b>	<b>238</b>	<b>0,046*</b>	<b>1,64 (1,05-2,67)</b>
<b>CRISE VASO- OCLUSIVAS</b>	<b>364</b>	<b>741</b>	<b>69</b>	<b>194</b>	<b>0,029*</b>	<b>1,40 (1,03-1,89)</b>

RP: Razão de Prevalência

IC: Intervalo de Confiança

\*  $\chi^2$  (Yates corrigido)

\*\* Teste exato de Fisher



## 6.10 FREQUÊNCIAS DOS POLIMORFISMOS IDENTIFICADOS NA REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS DA GLOBINA BETA

O total de 164 pacientes com anemia falciforme foi estudado para cada sítio HS-LCR (HS2 a 4). Os polimorfismos encontrados correspondem a um SNP ou a uma deleção. Para as análises de sequenciamento de DNA foi amplificado o fragmento de ~610 pb para o sítio HS2 (Coordenadas GenBank 8543 a 9165); ~615 pb para HS3 (Coordenadas GenBank 4436 a 5005) e ~702 pb para o HS4 (Coordenadas GenBank 954 a 1873). O sequenciamento gênico identificou polimorfismos somente no sítio HS2-LCR. Os polimorfismos identificados foram -10951 T>G, -10920 T>G, -10905 A>G, -10725 G>A, -10623\_10570del (AT) e -10390 A>T. As figuras de 8 a 12 correspondem aos eletroferogramas do sequenciamento automático do Segundo sítio hipersensível à ação da DNase I da região controladora do locus da *globina beta* (HS2-LCR).

Todos os polimorfismos estudados apresentaram homogeneidade genética entre os pacientes com anemia falciforme. Todos os cinco polimorfismos identificados no sítio HS2-LCR no grupo estudado já haviam sido previamente descritos.

O polimorfismo -10951 (T>A) esteve presente em heterozigose em todos os 164 pacientes analisados. O mesmo ocorreu com o polimorfismo -10623\_10570del (AT). Os polimorfismos -10620 e -10605 apresentaram frequência genotípica idêntica, com frequência de 36,3% para o genótipo selvagem e 63,70% para o mutante.

A substituição G>A na posição – 10.677 do HS2-LCR descrita nos portadores do haplótipo Ben por ADORNO e col. (2005) não foi encontrada em nosso estudo.

As figuras 10 a 13 demonstram eletroferogramas das sequências gênicas dos sítios HS da LCR analisados

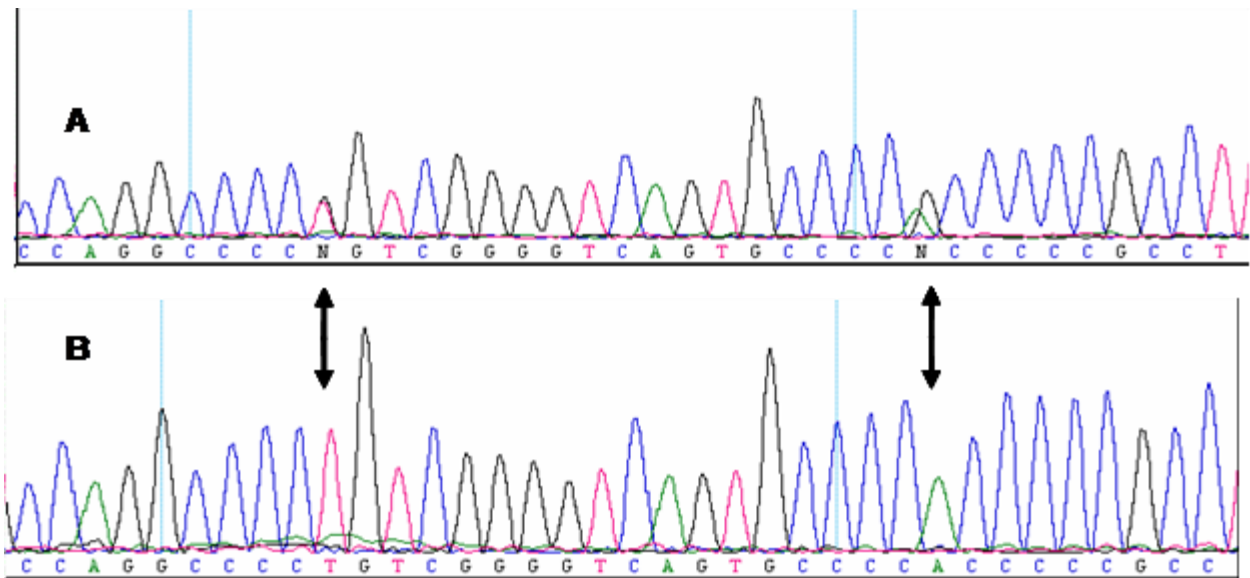


Figura 10. A – Substituições em heterozigose nas posições – 10.920 (T>G ) e -10,570 (A>G) do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme. B - Eletroferograma com sequência normal para as duas substituições em paciente com anemia falciforme.



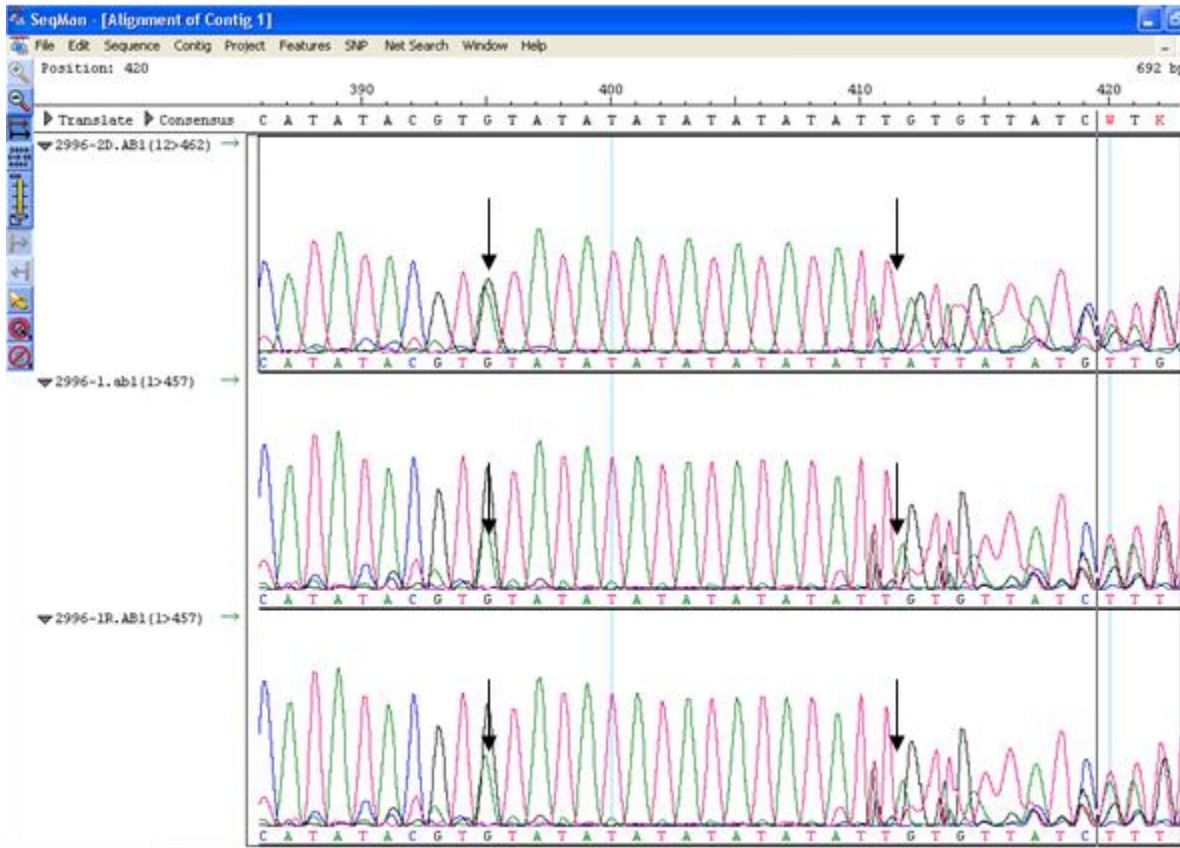


Figura 12. Deleções AT nas posições entre -10623-10570 do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme. As setas indicam ponto das deleções de um ou mais pares de bases AT. Dados de análises realizadas no programa (*DNASTAR Lasergene 8.0* - Madison, Wisconsin-USA).

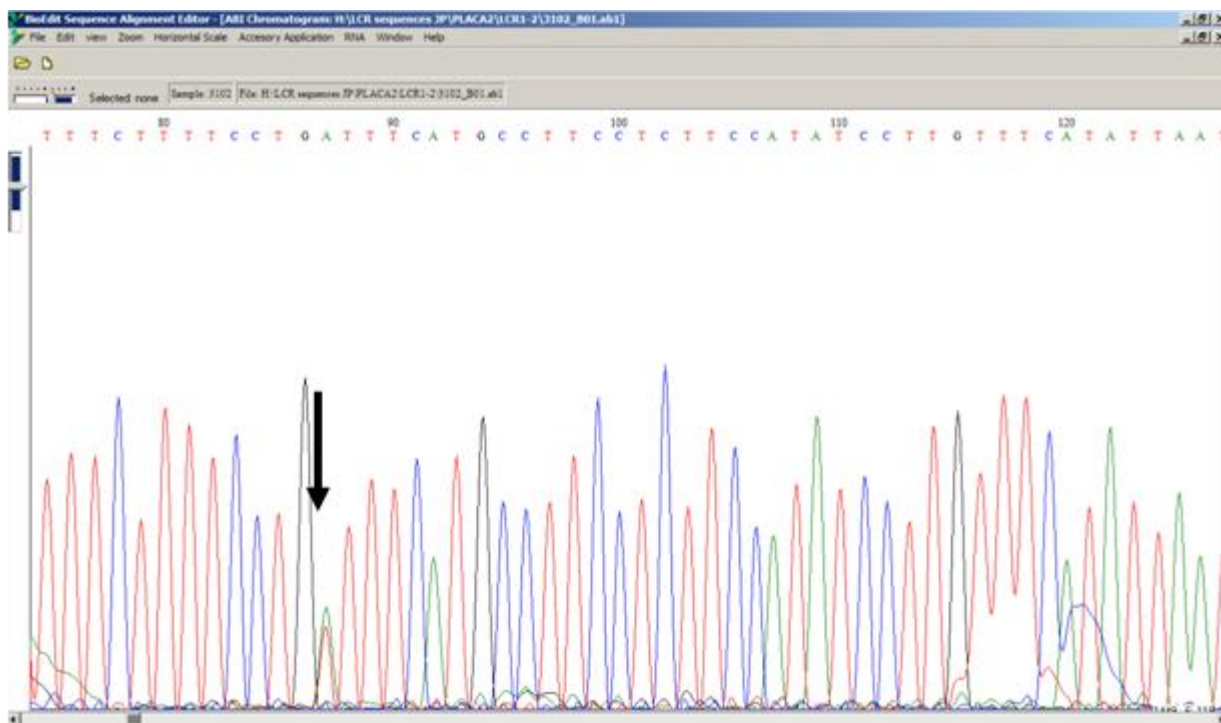


Figura 13. Substituição em heterozigose na posição – 10.390 (A>T) do HS2-LCR em pacientes com anemia falciforme.

Para os sítios HS3 e HS4 não foram identificados polimorfismos. A figura 8 demonstra o alinhamento de sequências (HS3 e HS4) realizado nos programas *MegAlign* (DNASTAR Lasergene 8.0 - Madison, Wisconsin-USA) e *BLAST* (sigla em inglês que significa: *Basic Local Alignment Search Tool*). Ambos os programas comparam uma sequência dada a um conjunto grande de outras sequências, retornando os melhores alinhamentos locais encontrados. O programa *BLAST* está disponível em [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov). As figuras 12 e 13 demonstram 100% de similaridade com a sequência referência, confirmando não haver polimorfismo nestas regiões.

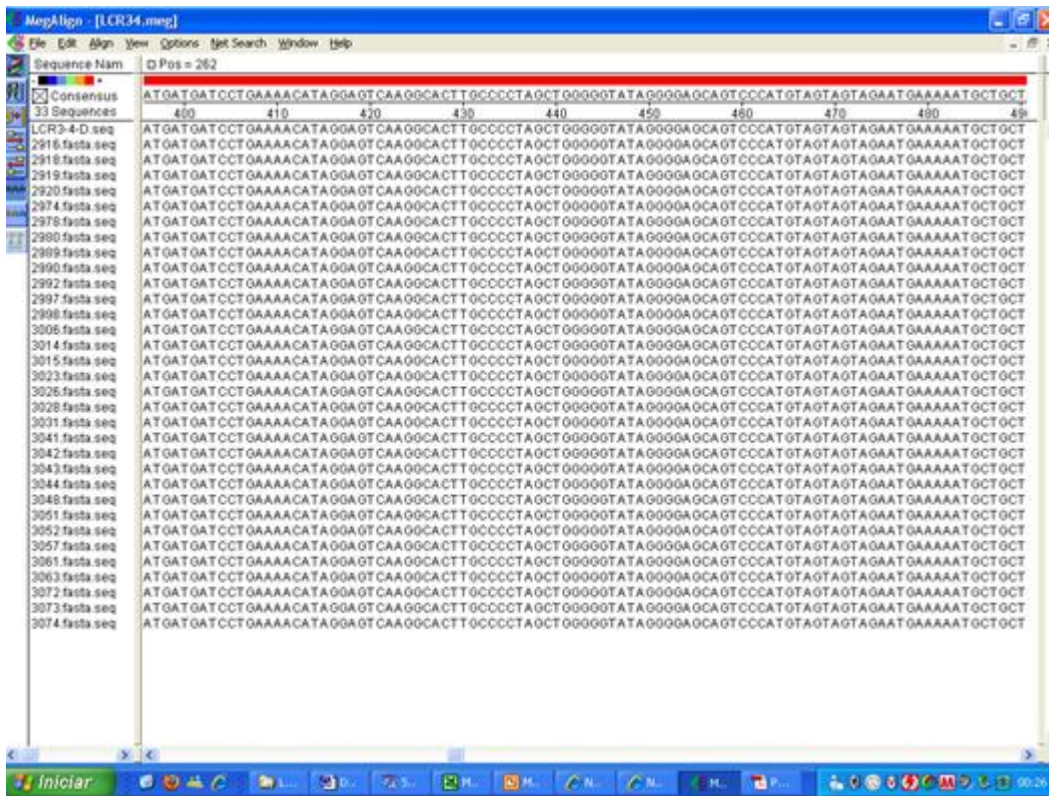


Figura 14. Demonstração de alinhamento de sequencias obtidas no sequenciamento para o HS3-LCR realizado no programa MegAlign (DNASTAR).







## **6.11 POLIMORFISMOS NA REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS DA GLOBINA BETA E SUA ASSOCIAÇÃO COM DADOS CLÍNICOS E HEMATOLÓGICOS DOS PACIENTES.**

Como dos cinco polimorfismos encontrados, três ocorreram em todos os pacientes, as análises de associação entre estes polimorfismos com dados clínicos e hematológicos foram realizados apenas com as substituições ocorridas nas posições -10920 e -10905.

## DISCUSSÃO

A heterogeneidade clínica dos indivíduos com anemia falciforme parece ser dependente das condições ambientais, sociais, econômicas e genéticas. Além disso, a avaliação, suporte e acompanhamento médico adequando contribuem para essa diversidade; todavia, não explicam toda a variabilidade observada (BENNETT, 2005; KUTLAR, 2007; STEINBERG, 2009). Rever os aspectos moleculares da anemia falciforme possibilita uma melhor compreensão dos aspectos clínicos envolvidos no curso da evolução heterogênea da doença, tornando mais claro o entendimento da existência de diferentes intensidades de sinais e sintomas que se apresentam nos pacientes acometidos aparentemente por uma doença que possui em comum a mesma origem genética.

O estado da Bahia apresenta componente genético negróide expressivo, em virtude do tráfico de escravos africanos ocorrido nessa área, dentre os séculos XVI e XIX (MARQUESE, 2006). Esse evento proporcionou a introdução de genes de origem africana na população do Estado da Bahia, com aumento consequente na frequência do alelo para a hemoglobina S. A prevalência da anemia falciforme em nosso estado apresenta-se em torno de 0,2% (ADORNO et al., 2005). Dados obtidos pelo programa de triagem neonatal da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Salvador (APAE-SSA-BA) demonstraram que um recém-nascido a cada 650 nascimentos na cidade de Salvador tem anemia falciforme (SAMPAIO et al., 2004).

Os dados hematológicos e bioquímicos do nosso estudo quando comparados o sexo, demonstraram diferenças significativas para a contagem reticulócitos ( $p= 0,043$ ) e valores de LDL colesterol ( $p= 0,009$ ) menores nos homens, com as enzimas hepáticas AST ( $p= 0,029$ ) e ALT ( $p= 0,038$ ) menores nas mulheres e sugerem que os homens com anemia falciforme possuem hemólise mais acentuada, influenciando indiretamente no aumento do metabolismo hepático.

Através das análises de regressão logística realizada em nosso estudo demonstraram que eventos clínicos como AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações foram cerca de duas vezes mais frequentes nos homens com anemia falciforme, existindo associação forte entre haplótipos ligados ao grupo de genes da *globina beta* e a presença da talassemia alfa para este modelo de regressão. Estes dados corroboram com MITCHELL e col. (2009) que descreveram associação entre o gênero e dados clínicos e no número e tempo das hospitalizações. O presente estudo descreveu resultados similares, onde os homens apresentaram número maior de eventos para a síndrome torácica aguda

(OD: 1,35- IC: 1,15-1,66,  $p= 0,005$ ) e número maior de hospitalizações (OD: 1,35- IC: 1,15-1,66,  $p= 0,005$ ). Entretanto, trabalhos não associam o gênero a alteração de enzimas hepáticas (KOTILA et al., 2005).

O fígado é um dos envolvidos na falência de órgãos que ocorre na anemia falciforme (NAULT et al., 2009), entretanto, a fisiopatologia da doença hepática nesta situação é complexa devido a causas multifatoriais. Com isso, nossos resultados reforçam que o gênero deve ser analisado na prevenção e intervenção dos pacientes com anemia falciforme, com estudos de sua associação com eventos considerados importante na clínica desses pacientes.

Apesar dos valores de hemoglobina fetal terem sido semelhantes entre o grupo de homens e mulheres estudados ( $p= 0,331$ ), alguns trabalhos demonstram diferenças, embora não completamente explicadas, de longevidade maior e sintomatologia mais branda em pacientes do sexo feminino (ADEKILE & HUISMAN, 1993; EMBURY et al., 1994; STEINBERG, 1995). Estes dados estão de acordo com a literatura que demonstra que as hospitalizações nesses pacientes são dependentes da idade, sexo e da intensidade das crises de dor (FOSDAL et al., 2007).

Nosso estudo demonstrou frequências semelhantes para ambos os sexos para os episódios dolorosos, enquanto os homens apresentaram mais hospitalizações. Nossos dados foram diferentes de alguns estudos na literatura que demonstraram que a dor e as internações são mais frequentes nas mulheres (GILL et al., 1995; FRANCK et al., 2002) enquanto MCCLISH e col. (2006) descreveram não haver diferenças entre sexo para as crises de dor. Tal como acontece com as diferenças de idade, há fatores fisiológicos que ainda devem ser investigados quando relacionados a diferenças ligadas ao sexo e crises de dor na AF. Além disso, o desenvolvimento psicossocial, fatores culturais e grupo étnico podem contribuir para estas diferenças.

Embora seja difícil determinar o exato motivo para internar um paciente com anemia falciforme relativo à crises de dor, alguns autores citam fatores que são determinantes para a hospitalizações como: (1) Aumento da intensidade e duração da dor com a idade (CONNER-WARREN, 1996; SHAPIRO et al., 1995); (2) Aumento do número de partes do corpo afetadas com idade (FRANCK et al., 2002; SPORRER et al., 1994) e (3) Maior tempo necessário para conseguir controlar da dor com a idade (SPORRER et al., 1994).

As frequências descritas no presente estudo para a talassemia alfa  $2^{3,7kb}$  (23,9% de heterozigotos e 2,60% homozigotos) foram similares as descritas por ADORNO e col. (2005) e LYRA e col. (2005), que descreveram as frequências de 27,3% a 28,2% para a heterozigose e 1,8%

para a homozigose em recém-nascidos e em portadores de anemia falciforme de Salvador-BA, respectivamente.

Os resultados referentes aos dados hematológicos em portadores da talassemia alfa  $2^{3.7kb}$  no presente estudo, corroboram com os dados da literatura (BEUTLER et al., 1990; WILLIAMS et al., 1996; NAGEL & STEINBERG, 2001), sendo observado também o aumento no número de hemácias ( $p= 0,004$ ), redução nos índices hematimétricos de VCM ( $p= 0,015$ ) e HCM ( $p= 0,006$ ). Apesar dos valores significativos referentes aos dados hematológicos, os mesmos não parecem interferir na história clínica dos pacientes, sendo que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre a frequência de eventos clínicos e a presença da talassemia alfa  $2^{3.7kb}$ . Entretanto, o único evento que foi significativo na presença da talassemia alfa foi o priapismo com razão de prevalência de 3,54 (IC: 1,26-11,74) ( $p= 0.039$ ). Este achado corrobora com o trabalho de AHMED e col. (2006) que descreveram que os pacientes com priapismo tiveram menor taxa de hemólise, resultando em concentração maior do hematócrito, com aumento da viscosidade sanguínea e do risco de falcização e bloqueio dos corpos cavernosos peniano, descrevendo que o hematócrito relativamente elevado pode ser fator de risco para o desenvolvimento de priapismo em pacientes com AF.

Entretanto, apesar de diversos trabalhos não terem associada a talassemia alfa a alteração clínica na anemia falciforme, existem alguns que associam a presença da talassemia na redução da gravidade clínica desses pacientes (MOUÉLÉ et al., 2000; VILACHÁ & SALAZAR, 2005; TARER et al., 2006). ITÁLIA e col. (2009). Um trabalho que associa a talassemia alfa a clínica nos pacientes com anemia falciforme foi o de STEINBERG (2008), porém os pacientes estavam em uso de hidroxiureia.

A talassemia alfa esteve associada parâmetros de MCV, MCH e CHCM baixos, melhorando algumas características clínicas na anemia falciforme de nossos pacientes. No entanto, sua associação com maior níveis de hemoglobina pode ser prejudicial se não houver uma aumento também da HbF, sendo desta forma um fator de risco para a crise dolorosa.

O curso clínico dos pacientes com anemia falciforme é caracteristicamente muito variável, e a talassemia alfa apesar de ser estabelecida como moduladora da anemia falciforme, ainda não pode explicar toda a sua heterogeneidade clínica. Para esclarecermos esta modulação genética, estudos de associação genótipo-fenótipo, onde SNPs em genes candidatos estão relacionados a fenótipos específicos, podem ajudar neste contexto. Estudos de associação ampla de genoma deverão ajudar a

confirmar estas observações e também descrever outros moduladores genéticos. Estudos de associação genética podem ter valor prognóstico imediato, pois eles também podem ajudar a identificar vias fisiopatológicas novas que podem ser suscetíveis à modulação (MORRIS, 2008).

Com relação aos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S*, nossos resultados confirmam a frequência elevada do genótipo CAR/Ben em nosso grupo de pacientes de Salvador, seguida pelo haplótipo Ben/Ben, CAR/CAR, com número reduzido dos haplótipos Camarões, Senegal e atípicos. Estes resultados estão de acordo com os estudos de GONÇALVES e col. (2003), ADORNO e col. (2004), ADORNO e col. (2008) e BARBOSA e col. (2010), que descreveram frequências semelhantes ao estudarem a mesma população.

Resultados semelhantes foram descritos por SILVA e col. (2010) demonstrando que o haplótipo Ben foi também o mais prevalente no estado brasileiro do Ceará. Todavia, segundo os dados disponíveis na literatura nacional, nossa amostra não é semelhante a grande maioria dos estados brasileiros que mostram a predominância dos cromossomos tipo CAR (Quadro 1).

No presente estudo, os níveis de HbF não estiveram associados aos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* (tabela 06). Os valores de HbF foram ligeiramente menores nos haplótipos CAR/CAR quando comparados ao CAR/Ben ( $\pm 1\%$ ) e Ben/Ben ( $\pm 1.5\%$ ), todavia não significativos ( $p = 0,191$ ). Esses resultados, em parte, estão de acordo com a literatura que relata níveis maiores de hemoglobina fetal associados ao haplótipo Senegal e Saudí, seguidos pelo haplótipo Ben e, por último, ao haplótipo CAR, ratificando a descrição na literatura do haplótipo Ben como mais benigno quando comparado ao haplótipo CAR, devido principalmente a concentração elevada desta hemoglobina (ADORNO et al., 2004). Em nosso estudo, os pacientes homens com genótipo CAR e portador da talassemia alfa foram mais propensos à ocorrência de eventos clínicos como AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações, enquanto o genótipo Ben mostrou-se protetor.

GONÇALVES e col., (2003) demonstraram diferenças nos níveis de HbF ( $p < 0,05$ ) e HbS ( $p < 0,05$ ) em um grupo de pacientes com anemia falciforme e portadores de diferentes haplótipos de Salvador, observando que aqueles com o genótipo CAR/Atp ou CAR/CAR apresentavam níveis diminuídos de HbF e elevados de HbS, quando comparados aos portadores de haplótipo não CAR. FIGUEIREDO e col. (1996) encontraram resultados similares ao descreverem que indivíduos Ben/Ben apresentaram níveis maiores de HbF quando comparados a grupos de indivíduos com haplótipo CAR ( $p < 0,05$ ).

Os níveis de HbF são descritos na literatura como haplótipo dependente e diretamente correlacionados ao curso clínico da doença (STEINBERG, 2009). Porém, em nosso grupo de pacientes os valores observados para HbF não apresentaram variações importantes entre os haplótipos, mostrando que os níveis dessa hemoglobina não foram influenciados pelos haplótipos.

No presente estudo, a associação entre os diferentes haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S* e os perfis hematológico e de hemoglobina não demonstraram diferenças estatísticas. O mesmo ocorreu com os dados bioquímicos (dados não mostrados). A única exceção ocorreu nos valores de reticulócitos, que foram mais elevados nos portadores do genótipo Ben/Ben, seguidos dos CAR/Ben e CAR/CAR ( $p= 0,014$ ). Uma hipótese para este resultado pode ser o fato dos pacientes com genótipo CAR/CAR terem estresse medular maior devido a frequência ligeiramente elevada de eventos clínicos e hemólise graves, que apresenta efeito no sequestro esplênico e medular elevados.

A análise dos aspectos clínicos e genótipos dos haplótipos demonstrou frequência maior de dactilite nos pacientes CAR/CAR e Ben/Ben quando associados aos CAR/Ben ( $p= 0,005$ ) e a Síndrome torácica aguda foi mais frequente nos pacientes Ben/Ben (11,4%) que nos CAR/Ben (5,30%) ( $p= 0,018$ ). Trabalhos na literatura não demonstram correlação entre o haplótipo Ben e STA. POWARS e col. (1990) demonstraram que o risco de eventos mais graves, incluindo síndrome torácica aguda é equivalente naqueles com haplótipos Ben vs CAR.

As análises estatísticas que envolveram dados hematológicos e bioquímicos demonstraram associações diversas com os eventos clínicos dos pacientes com AF. As hospitalizações foram diretamente relacionadas ao perfil de hemoglobinas, onde a HbS estava elevada enquanto a HbF diminuída. Os pacientes com insuficiência renal e AVC não apresentaram diferenças estatísticas nos valores analisados relacionados a idade dos pacientes. Nossos dados corroboram com outros estudos que descrevem o envolvimento da HbF e de drogas que aumentam a sua produção a redução da gravidade clínica, crises de dor, transfusões e hospitalizações, além da diminuição da mortalidade entre pacientes com anemia falciforme (ODENHEIMER et al., 1987; ENOSOLEASE et al., 2005). Neste contexto, a principal droga utilizada é a hidroxiuréia (STUART & NAGEL, 2004; ATAGA, 2009; THEIN et al., 2009; WARE & AYGUN, 2009).

A classificação em dois grupos de acordo com os marcadores clássicos demonstrou que os pacientes com anemia falciforme e concentração de HbF  $\leq 6.0\%$  são mais acometidos por eventos de úlcera maleolar ( $p= 0,016$ ), enquanto que as crises vaso-oclusivas são mais frequentes naqueles

que possuem contagem de reticulócitos  $>5\%$  ( $p= 0,002$ ). Já a insuficiência respiratória foi mais frequente naqueles que tinham contagem de leucócitos  $\leq 15,0 \times 10^9/L$  e plaquetas  $>375 \times 10^9/L$ . Ao realizarmos análises semelhantes para os valores de hemoglobina, encontramos resultados significativos para os níveis de hemoglobina quando  $\leq 7,0$  g/dl associados a necrose avascular ( $p= 0,009$ ), STA ( $p= 0,011$ ) e infecções ( $p= <0,001$ ), enquanto que níveis  $>7,0$  g/dl estiveram associados a dor abdominal e crises vaso-oclusivas. Esses resultados corroboram com outros estudos que afirmaram que concentrações diminuídas de hemoglobina estavam associadas a risco elevado de morte em crianças e adultos com anemia falciforme (LEIKIN et al., 1989; OHENE-FREMPONG et al., 1989; PLATT et al., 1994; MILLER et al., 2000). Entretanto, apesar de não serem significativos, outros eventos clínicos aumentaram sua frequência a medida que os valores de hemoglobina também aumentavam tais como dores ósseas (13,9 para 18,1%), colelitíase (6,7 para 8,4%) e acidente vascular cerebral (0,1 pra 4,3%).

A análise de correlação bivariada demonstrou que a elevação dos valores de hemoglobina ( $> 7,0$  g/dl), diminuiu a frequência de síndrome torácica aguda ( $p= 0,024$ ) que é a causa mais comum de morte e a segunda mais comum de hospitalização na anemia falciforme. No entanto, outros trabalhos demonstraram que níveis elevados de hemoglobina favorecem a presença de síndrome torácica aguda (PLATT et al., 1991; CASTRO et al., 1994). Esta diferença de resultados talvez ocorra pelo fato da etiologia da STA ainda não estar bem definida. O diagnóstico clínico da STA pode se desenvolver como um evento isolado ou durante o curso de uma crise álgida vaso-oclusiva. A dor pleurítica é o sintoma predominante em adultos. Em crianças pequenas, febre, tosse e taquipnéia são geralmente os únicos sinais e sintomas. Devido a isso, erros no diagnóstico podem ocorrer.

Baseados em trabalhos previamente publicados na literatura que descrevem valores de número de leucócitos acima de  $14,5 \times 10^9/L$  como fator de risco para eventos clínicos (BEUTLER et al., 1990; HINCHLIFFE, 1992), dividimos em dois grupos ( $\leq$  e  $> 15,0 \times 10^9/l$ ) para as análises estatísticas envolvendo contagem global de leucócitos com eventos clínicos. Para esta associação, encontramos significância clínica com insuficiência respiratória no grupo com leucócitos  $\leq 15,0 \times 10^9/l$  (RP: 2,47,  $p=0,034$ ). BALKARAN e col. (1992) demonstraram que números de leucócitos elevados são preditores independentes na gravidade da doença falciforme enquanto MILLER e col. (2009) demonstraram contagem global de leucócitos elevada associada com AVC. Estudos relacionam os efeitos dos neutrófilos na patogênese da anemia falciforme, ao fato de sua adesão

anormal no endotélio vascular (CONRAN et al., 2009; KAUL et al., 2009; DK). Trabalhos recentes têm identificado em pacientes com anemia falciforme portadores quadro de hemólise grave, níveis baixos de óxido nítrico (NO) e seus precursores (ABBOUD & MUSALLAM, 2009). A diminuição do NO está relacionado a clínicas diversas, que incluem desde a hipertensão pulmonar, úlceras de perna, priapismo e AVC. Entre os fatores que correlaciona a vasculopatia incluem a ativação de moléculas de adesão das células endoteliais e leucócitos, bem como as vias relacionadas ao estresse oxidativo.

O conceito de que a crise álgica evolui em fases foi proposta por BALLAS & SMITH (1992) e AKINOLA e col. (1992) que descreveram em ambos os estudos, a presença de duas. Uma inicial associada com aumento da dor, diminuição da deformabilidade de hemácias, aumento no número de células densas, de reticulócitos, de leucócitos, e uma diminuição no número de plaquetas. A segunda fase caracterizada por uma dor intensa e reversão gradual das anomalias da primeira fase. Posteriormente, BALLAS (1995) redefiniu a evolução da crise álgica em quatro fases com média de duração de 10 dias, sendo nos terceiros ao sexto dia os momentos de maior intensidade da crise de dor.

Uma abordagem abrangente para a avaliação da dor nos pacientes com anemia falciforme requer além de avaliação adequada realizada pelo profissional que atende o paciente, também de respostas fisiológicas e comportamentais do próprio paciente. Cumpre ressaltar que em nosso estudo, não acompanhamos o paciente nessas fases e sim em estado estável da doença. Todos os dados foram retirados dos prontuários médicos.

As análises significativas encontradas em nosso estudo relativas à crise álgica nos pacientes com anemia falciforme demonstraram que pacientes com haplótipo CAR são mais propensos a desenvolver crises de dor. Outra análise interessante foi à presença da talassemia alfa com haplótipo CAR influenciar no aumento de eventos de crise álgica nos pacientes, enquanto que a ausência da talassemia alfa associada a concentração da hemoglobina fetal maior que 6% proteger até 2,4 vezes eventos de crise álgica. Nosso estudo demonstrou que pacientes com anemia falciforme possuem frequência maior de hospitalização acima dos 16 anos de idade. Os eventos mais frequentes para essas hospitalizações foram crises vaso-oclusivas, Sequestro esplênico, dores ósseas e STA, estando de acordo com SPORRER e col. (1994) e SOLUCIENT LLC (2005).

Apesar do evento de vaso-oclusão ser o mais presente nos pacientes com anemia falciforme, processos fisiopatológicos que levam-na a acontecer são complexos e dependentes da variação e



gravidade clínica observada nesses pacientes. Atualmente, trabalhos demonstram que a fisiopatologia associada a vaso-oclusão na anemia falciforme não se limita as hemácias, envolvendo também plaquetas, leucócitos além de outros componentes do plasma como lipídeos (BUNN, 1997; HARLAN, 2000; HEBBEL, DE 1997; LUBIN, 1.997 ROSSE; NARLA, PETZ, & STEINBERG, 2000). Apesar de não termos analisados o endotélio vascular, nossas análises corroboram com estes estudos quando demonstramos que um fator isolado não é suficiente para provocar um evento clínico, mas sim o sinergismo entre marcadores clássicos como a hemoglobina fetal, a talassemia e os haplótipos com associados com os dados hematológicos e bioquímicos.

Eventos clínicos como Acidente vascular cerebral, síndrome torácica aguda, episódios dolorosos, hipertensão pulmonar e priapismo são eventos característicos na anemia falciforme, assim como diferentes resultados laboratoriais são tipicamente encontrados (PEGELow et al., 1997; ATAGA et al., 2006). No entanto, cada complicação clínica é individual, com exceção talvez da hipertensão pulmonar. O mesmo acontece com os valores laboratoriais que possuem limitado valor preditivo para definir a gravidade da doença. Integrando as complicações e testes individuais na anemia falciforme, podemos pressupor valores preditivos que consigam descrever um grau de gravidade para a AF.

Trabalhos prévios já demonstravam que a viscosidade sanguínea e eventos de vaso-oclusão estão relacionados a clínicas como STA e episódios (PLATT et al., 1994). Outros estudos têm sugerido além desses fatores, que a hemólise na anemia falciforme, talvez através de seu papel na hipertensão pulmonar possui importante papel na gravidade maior nesses pacientes (GLADWIN et al., 2005; TAYLOR et al., 2006). Nosso trabalho identificou complicações clínicas relacionados principalmente ao aumento da viscosidade sanguínea como também a contagem elevada do número de leucócitos, reticulócitos e plaquetas como fator de risco para gravidade clínica maior nos pacientes com AF.

Na literatura existem trabalhos relacionando também a intensidade da hemólise a gravidade clínica desses pacientes (GLADWIN et al., 2004; MORRIS et al., 2005; LEZCANO et al., 2006). Trabalhos mais recentes associam também a intensidade da anemia hemolítica os níveis de LDH, AST, ALT e de bilirrubina. No entanto, devemos ter cautela na observância de saber separar estes indicadores das doenças hepáticas.

A contagem de reticulócitos foi outro parâmetro que estimou a gravidade da doença em nossos pacientes. Essa associação talvez seja estabelecida devida a relação de que quanto mais

elevada é a contagem de reticulócitos, maior a intensidade da hemólise. SEBASTIANI e col. (2007) também demonstraram a associação dos reticulócitos na gravidade clínica desses pacientes. Além disso, nosso trabalho corrobora com a literatura onde a concentração da HbF elevada inibe a polimerização da hemoglobina S, reduzindo assim o dano a membrana das hemácias, aumentando desta forma a vida média das hemácias, reduzindo indiretamente a reticulocitose (STUART & NAGEL, 2004; HEBBEL et al., 2004; STEINBERG, 2005)

Nosso achado de que a gravidade clínica dos pacientes com anemia falciforme é dependente de fatores que em sinergismo modulam a expressão da clínica corrobora com outros trabalhos na literatura. Entre os fatores importantes encontrados em nossos estudo que interage para modular a gravidade da doença estão contagem de leucócitos, plaquetas, reticulócitos e concentração da HbF (FREMPONG & STEINBERG, 2001; STEINBERG, 2005; MICHALOWSKI et al., 2006).

Nossos resultados demonstraram que a globulina sérica e proteínas totais estavam elevadas nos pacientes que apresentavam maiores frequências de vaso-oclusão, corroborou com outros trabalhos na literatura (POWARS, 1991; FALK et al., 1992; STEINBERG et al., 2003). SEBASTIANI e col. (2007) demonstraram que pacientes que apresentam proteinúria aumentava a probabilidade de morte precoce em 63%, confirmando o prognóstico adverso desta medida na doença real crônica deste pacientes.

Em nossas análises, a gravidade clínica foi determinada por uma série de variáveis que interagiam entre si. Porém, o papel de prognóstico de algumas dessas variáveis, pode não ter ação sozinha, mas sim em conjunto. Por exemplo, PLATT (1994) demonstrou efeitos isolados da elevação global de leucócitos ou da bilirrubina como risco de óbito precoce em pacientes pediátricos. Nosso trabalho demonstrou elevação da bilirrubina direta em até duas vezes em pacientes com eventos de infecções e diminuição de até três vezes nas crises vaso-oclusivas. Ao mesmo tempo, a elevação da bilirrubina total esteve diretamente proporcional ao aumento dos valores de leucócitos e reticulócitos ( $p= 0,006$ ) e com a diminuição dos valores de hemoglobina ( $p<0,001$ ).

Sabemos que o fenótipo dos pacientes com anemia falciforme é heterogêneo e dependente de diversos fatores, principalmente localidade geográfica. Salvador possui a maior frequência da população brasileira em casos de AF. Apesar de nossos pacientes serem representativos apenas da população da Bahia, acreditamos que nossos resultados de regressão logística possam ser aplicados a outras populações devido a alta especificidade e sensibilidade que o método utilizado possui, onde

os percentuais do modelo de regressão (PAM) variou entre 57,65 a 95,51% de acerto, embora uma avaliação em outras populações de pacientes com anemia falciforme seriam necessárias para consolidar estes modelos.

Desta forma, esses modelos sugerem decisões úteis para ajudar no acompanhamento e tratamento clínicos dos pacientes. A avaliação dos eventos clínicos concomitantemente com marcadores hematológicos, bioquímicos e moleculares interligados poderia ser utilizado como verificação da gravidade destes pacientes, levando a um tratamento ideal e adequado. Se durante uma consulta, soubermos que o paciente caminha para um quadro grave, o médico poderá escolher de forma mais ampla e rápida opções terapêuticas diferenciadas, como a transfusão de sangue, medicamentos para dor ou drogas como a hidroxureia ou até mesmo transplante de células-tronco.

Do total de 1379 pacientes com anemia falciforme, 52% (717) receberam pelo menos 1 transfusão sanguínea nos últimos 2 anos. Ao investigarmos a soroprevalência em nosso grupo de pacientes com anemia falciforme, encontramos 267 (19.4%) pacientes positivos. Se analisarmos que a soroprevalência positiva ocorreu devido às transfusões sanguíneas e que apenas 717 (52,5%) dos pacientes com anemia falciforme receberam transfusão, então este percentual elevaria sua prevalência passando para 37,23%. As soroprevalências positivas encontradas em nosso estudo em ordem de frequência foram VHC, HTLV-I/II, VHB, doença de Chagas e sífilis.

A soroprevalência da infecção pelo VHC entre pacientes com anemia falciforme tem sido descrita previamente entre 2 a 30% (HASAN et al., 1996). Sabe-se também que a presença do VHC e sobrecarga de ferro estão diretamente relacionadas ao número de transfusões sanguíneas entre os pacientes com anemia falciforme, além da incidência elevada de doença hepática crônica (FRIED, 1999). Associação entre a infecção pelo VHC e sobrecarga de ferro tem sido relacionada a múltiplas transfusões sanguíneas, a qual contribui para aumento na absorção de ferro pela hemólise crônica. Esta hemólise acarreta lesão hepática devido à hipóxia tecidual durante o fenômeno de vaso-oclusão (FRIED, 1999; LOPES et al., 2005). Nossos resultados demonstram que mesmo os pacientes soroprevalentes para VHC devido as transfusões sanguíneas previamente relatados, a maioria dos pacientes com anemia falciforme possui função hepática normal, como demonstrado pelos resultados dos parâmetros bioquímicos (AULT & JONES, 2009).

É interessante ressaltar que a hemoglobina liberada a partir de hemólise intravascular consome o óxido nítrico (ON), reduzindo sua biodisponibilidade, aumentando as espécies de oxigênios reativas, e prejudicando a homeostase vascular, tais como a inibição da ativação

plaquetária e repressão da transcrição de moléculas de adesão celular (GLADWIN et al., 2004). Nossos resultados sugerem que o aumento dos triglicerídeos, LDL-C, concentração do ferro sérico e ferritina podem estar relacionados com estados de hemólise crônica e inflamatória, como previamente descrito (NOFER et al., 2002; JACOBSON et al., 2007).

Baseado em nossos resultados demonstrando aumento de alterações ósseas, úlceras de perna e crises algícas entre os pacientes com anemia falciforme, acreditamos que esses indivíduos com soroprevalência positiva para infecção pelo VHC necessitam ser melhor analisados para esclarecer a forma adequada de se verificar a intensidade de danos hepáticos, além dos mecanismos pelos quais o VHC modula e aumenta a gravidade da doença.

Há na literatura poucos estudos sobre o risco de infecção por HTLV-I/II em pacientes com anemia falciforme, porém, as consequências da infecção pelo HTLV em pacientes com anemia falciforme são atualmente bem desconhecidas. Trabalhos anteriores já demonstravam que a terapia com transfusões sanguíneas seria um fator de risco importante infecção para do HTLV-I/II (LE TURDU-CHICOT et al., 2002). Estudos anteriores realizados na Bahia confirmaram a alta prevalência de infecção pelo HTLV-I/II. Através de estudos moleculares realizados em cidades do estado da Bahia, foi demonstrado que a espécie mais prevalente para HTLV-I/II é do subtipo Cosmopolita. Este estudo sugeriu que foram os sul-africanos que introduziram o subtipo Cosmopolita em Salvador e, possivelmente, em outras áreas da América Latina (DOURADO et al., 2003; REGO et al., 2008).

Em pacientes com anemia falciforme, envolvimento do tecido ósseo varia desde manifestações agudas, tais como crises vaso-oclusivas ou osteomielite à complicações crônicas e debilitantes, como osteonecrose, osteoporose e osteopenia, diminuição do crescimento e infecções crônicas (GUREVITCH & SLAVIN, 2006; SARRAI et al., 2007; ATSUMI et al., 2009). A relação entre a infecção pelo HTLV-I e osteoporose foi demonstrada por SCHACHTER e col. (2003) como alterações na matriz extracelular do tecido neural importante para a deposição óssea mineral.

De acordo com nossos resultados, os pacientes com anemia falciforme soroprevalentes positivos para HTLV-I/II apresentaram mais alterações ósseas, sugerindo que o HTLV-I/II contribua para a gravidade clínica da doença. Além disso, nossos resultados demonstraram um aumento nos parâmetros hematológicos, como a hemoglobina, hematócrito e hemácias, que podem contribuir para gravidade maior nesses pacientes, principalmente no tecido ósseo devido ao aumento da viscosidade sanguínea secundária à infecção.

A associação encontrada a insuficiência respiratória e soroprevalência positiva para HTLV-I/II ainda não está clara e deve ser melhor explorada para descrever o mecanismo da modulação clínica exercida pelo HTLV-I/II nos casos de alterações pulmonares como pneumonia. Recentemente, ATSUMI et al. (2009) descreveram associação entre a infecção pelo HTLV-I e a presença de pneumonia adquirida na comunidade, concluindo que pacientes positivos para HTLV-I podem desenvolver uma forma relativamente grave de pneumonia. Nossos resultados demonstraram que a infecção pelo HTLV-I/II esteve associada com o desenvolvimento de insuficiência respiratória em pacientes com anemia falciforme, corroborando LITTLETON et al. (2002), que descreveram dois pacientes soroprevalentes para HTLV-I/II com insuficiência respiratória.

A infecção por chagas e sífilis não demonstrou associação com a clínica nos pacientes com AF. Talvez devido a baixa soroprevalência em nossos pacientes. Todavia, há trabalhos que descreveram uma evolução clínica mais grávida em pacientes com anemia falciforme soroprevalentes para chagas ou sífilis (SUCHETT-KAYE, 1948; MATSUBARA et al., 1993). Acreditamos que pesquisas adicionais relacionadas a essas infecções e sua influência em pacientes com anemia falciforme será importante para definir um possível papel na modulação clínica da AF.

Já a infecção pelo HIV tem sido associada com um aumento da hipertensão pulmonar em pacientes com anemias hemolíticas, o qual é um aspecto clínico muito importante associado a uma gravidade clínica mais grave nos pacientes com anemia falciforme (OHENE-FREMPONG & STEINBERG, 2001; (BARNETT et al., 2008)).

De acordo com nossos resultados, existe uma complexa associação entre a soroprevalência para VHC e/ou HTLV-I/II com eventos clínicos que modulam o risco de uma gravidade clínica mais grave nos pacientes com AF. Desta forma, nossos dados demonstram que estudos relacionados as características clínicas dos pacientes com anemia falciforme e soroprevalência positiva, principalmente para VHC e HTLV-I/II possuem interesse biológico, podendo contribuir para a compreensão dos mecanismos através dos quais agentes infecciosos interagem na presença das hemoglobinas.

## CONCLUSÕES

1. A contagem de reticulócitos quando analisada isoladamente, apresentou diferenças significativas como fator de risco para o sexo em pacientes com AF, sendo mais elevado nas mulheres;
2. Homens com AF apresentaram frequências mais graves dos eventos clínicos, ocorrendo até duas vezes mais eventos de STA e hospitalizações;
3. A frequência genotípica de 26,5% para a talassemia alfa em nossos pacientes corroborou com dados da literatura sobre a frequência elevada em nossa população;
4. A talassemia alfa  $2^{3,7kb}$  esteve associada ao aumento do número de hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito e diminuição dos valores de VCM e HCM, mas não mostrou associação com os eventos clínicos estudados;
5. Os valores de triglicérides estiveram aumentado com a presença da talassemia alfa  $2^{3,7kb}$ ;
6. A presença da talassemia alfa  $2^{3,7kb}$  com os eventos clínicos estudados demonstrou forte associação com priapismo;
7. A frequência dos haplótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S*, corroborou os dados da literatura sobre a presença elevada do haplótipo Ben, seguido do haplótipo CAR e predomínio do genótipo CAR/Ben em nossa população;
8. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significante entre as concentrações de hemoglobinas quando comparados pacientes com diferentes genótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S*;

9. Diferenças estatisticamente significante foram encontradas para os valores de reticulócitos quando comparados pacientes com diferentes genótipos ligados ao grupo de genes da globina *beta S*, tendo o CAR/CAR os menores valores;
10. Os fenômenos vaso-oclusivos, crises dolorosas e as infecções do trato respiratório constituíram as causas mais frequentes de eventos clínicos na população de pacientes estudados em todas as faixas etárias, sendo STA e dor abdominal as manifestações clínicas mais comuns;
11. Os dados hematológicos e bioquímicos demonstraram associação significativa com quase todos os eventos clínicos nos pacientes com AF, principalmente para hospitalizações e infecções;
12. Quando analisado isoladamente, pacientes com concentração de hemoglobina fetal menor que 6% apresentaram maior frequência para úlcera maleolar;
13. Quando analisado isoladamente, pacientes com contagem global de leucócitos menores que  $15,0 \times 10^9/L$  apresentaram maior frequência para insuficiência respiratória;
14. Quando analisado isoladamente, pacientes com contagem de plaquetas maior que  $375 \times 10^9/L$ , apresentaram maior frequência para insuficiência cardíaca;
15. Quando analisado isoladamente, pacientes com contagem de reticulócitos maior que 5%, apresentaram maior frequência para crises vaso-oclusivas;
16. Quando analisado isoladamente, pacientes com valores de hemoglobina menores que 7,0 g/dl, apresentaram maiores frequências para crises vaso-oclusivas e dores abdominais, enquanto valores menores que 7,0 g/dl para necrose avascular e STA;
17. O evento da STA diminui sua frequência a medida o paciente elevava seus valores de hemoglobina;

18. Os pacientes com idade menor que 21 anos apresentaram as maiores razões de prevalências para insuficiência cardíaca e dores ósseas enquanto os maiores que 21 anos para úlcera maleolar;
19. Análises multivariadas de regressão logística binária demonstraram significância clínica para:
  - a. Eventos de AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações são cerca de duas vezes mais frequentes nos homens com associação dependente do sinergismo entre HAPLO e TA;
  - b. Pacientes com haplótipo CAR e portador da talassemia alfa foram mais propensos à ocorrência de AVC, crises vaso-oclusivas e hospitalizações, enquanto o genótipo Ben foi protetor;
  - c. A presença da talassemia alfa em pacientes com haplótipo CAR influenciou um aumento de 2,3 vezes naqueles com contagem de reticulócitos acima de 5%;
  - d. A ausência da talassemia alfa influenciou de maneira protetora para eventos de sequestro esplênico quando associadas a concentrações de HbF maiores que 6%;
  - e. As análises para STA demonstraram que os genótipos HAPLO e TA com o sexo são fatores que influenciam diretamente a prevalência deste evento;
  - f. Para os eventos de úlcera maleolar, verificamos que a concentração da HbF é um fator de risco importante, influenciando na frequência entre os sexos a depender da presença ou não da TA, HAPLO e a contagem de reticulócitos.
20. A análise da curva ROC demonstrou que valores de albumina sérica e proteínas totais podem ser marcadores de gravidade para crises vaso-oclusivas, enquanto a desidrogenase lática e a contagem global de monócitos porá a insuficiência respiratória;
21. A soroprevalência positiva mais frequente em nossa população foi do vírus da hepatite C, seguida por HTLV;
22. Associação significativa foi demonstrada para soroprevalência positiva para VHC e HTLV-I/II e alterações ósseas, úlcera de perna, crises dolorosas e insuficiência;



23. O sequenciamento gênico do HS2-LCR demonstrou a presença de polimorfismos já anteriormente descritos, sendo -10951 T>G, -10920 T>G, -10905 A>G, -10725 G>A, -10623\_10570del (AT) e -10390 A>T.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ABBOUD, M. R.; MUSALLAM, K. M. Sickle cell disease at the dawn of the molecular era. **Hemoglobin. Vol.33** Suppl 1:S93-S106. 2009.

ADAMS, R. J.; KUTLAR, A.; MCKIE, V.; CARL, E.; NICHOLS, F. T.; LIU, J. C.; MCKIE, K.; CLARY, A. Alpha thalassemia and stroke risk in sickle cell anemia. **Am. J. Hematol., Vol.45:** 279-282, 1994.

ADEKILE, A. D.; HUISMAN, T. H. Level of fetal hemoglobin in children with sickle cell anemia: influence of gender, haplotype and alpha-thalassemia-2 trait. **Acta Haematol., Vol.90** (1):34-8. 1993.

ADEKILE, A. D.; KITUNDU, M. N.; GU, L. H.; LANCLOS, K. D.; ADEODU, O. O.; HUISMAN, T. H. Haplotypes in SS patients from Nigeria; characterization of one atypical beta S haplotype no. 19 (Benin) associated with elevated HB F and high G gamma levels. **Ann. Hematol., Vol.65:** 41-5,1992.

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

ADORNO, E. V.; ZANETTE, A.; LYRA, I.; SOUZA, C. C.; SANTOS, L. F.; MENEZES, J. F.; DUPUIT, M. F.; ALMEIDA, M. N.; REIS, M. G.; GONCALVES, M. S. The beta-globin gene cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from Northeast Brazil: a clinical and molecular view. **Hemoglobin. Vol.28:** 267-271, 2004.

AHMED, S. G.; IBRAHIM, U. A.; HASSAN, A. W. Hematological parameters in sickle cell anemia patients with and without priapism. **Ann Saudi Med., Vol.26(6):**439-43. 2006

AKINOLA, N. O.; STEVENS, S. M.; FRANKLIN, I. M.; NASH, G. B.; STUART, J. Rheological changes in the prodromal and established phases of sickle cell vaso-occlusive crisis. **Br J Haematol.**, Vol.81:598–602. 1992.

ALBUQUERQUE, A. B. L. **Talassemia  $\alpha^1$  e  $\alpha^2$  e gestação em Salvador – Bahia.** 2002. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Molecular). Fundação Oswaldo Cruz. Salvador.

AL-HAGGAR, M.; AL-MARSAFAWY, H.; ABDEL-RAZEK, N.; AL-BAZ, R.; MOSTAFA, A. H. Acute painful crises of sickle cell disease in Egyptian children: predictors of severity for a preventive strategy. **Int. J. Hematol.**, Vol.83: 224-228, 2006.

ALMEIDA, A.; ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. **Br J Haematol.**, Vol.29:482-90. 2005.

ALVARES FILHO, F.; NAOUM, P. C.; MOREIRA, H. W.; CRUZ, R.; MANZATO, A. J.; DOMINGOS, C. R. B. Distribución geográfica etaria y racial de la hemoglobina S en Brasil. **Sangre.** Vol.40: 97-102, 1995.

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

ANTONARAKIS, S. E.; KAZAZIAN Jr., H. H.; ORKIN, S. H. DNA polymorphism and molecular pathology of the human globin gene clusters. **Hum Genet.**, Vol.69, p. 1-14, 1985.

ARAUJO, A. N. Acute splenic sequestration in children with sickle cell anemia. **J Pediatr.**, Vol.85(4):373. 2009.

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

ARENDS, A.; ALVAREZ, M.; VELAZQUEZ, D.; BRAVO, M.; SALAZAR, R.; GUEVARA, J. M.; CASTILLO, O. Determination of beta-globin gene cluster haplotypes and prevalence of alpha-thalassemia in sickle cell anemia patients in Venezuela. **Am J Hematol., Vol.64:** 87-90, 2000.

ATAGA KI. Novel therapies in sickle cell disease. **Hematology Am Soc Hematol., Educ Program.** 54-61. 2009.

ATAGA, K. I.; MOORE, C. G.; JONES, S.; OLAJIDE, O.; STRAYHORN, D.; HINDERLITER, A.; ORRINGER, E. P. Pulmonary hypertension in patients with sickle cell disease: a longitudinal study. **Br J Haematol., Vol.134:**109- 115. 2006

ATSUMI, E.; YARA, S.; HIGA, F.; HIRATA, T. HARANAGA, S.; TATEYAMA, M.; FUJITA, J. Influence of human T lymphotropic virus type I infection on the etiology of community-acquired pneumonia. **Intern Med., Vol.48:**959-65. 2009.

AULT, P.; JONES, K. Understanding iron overload: screening, monitoring, and caring for patients with transfusion-dependent anemias. **Clin J Oncol Nurs., Vol.13:**511-17. 2009.

AZEVEDO, E. Historical note on inheritance of sickle cell anemia. **Am. J. Hum. Genet., Vol.25:** 457-58, 1973.

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

AZEVEDO, E. S.; SILVA, K. M.; DA SILVA, M. C.; LIMA, A. M.; FORTUNA, C. M.; SANTOS, M. G. Genetic and anthropological studies in the island of Itaparica, Bahia, Brazil. **Hum. Hered., Vol.31:**353-57. 1981.

BALKARAN, B. CHAR, G.; MORRIS, J. S.; THOMAS, P. W.; SERJEANT, B. E.; SERJEANT, G. R. Stroke in a cohort of patients with homozygous sickle cell disease. **J Pediatr.**, **Vol.120**:360-6. 1992.

BALLAS, S. K. Current issues in sickle cell pain and its management. **Hematology Am Soc.**, **Vol.97**-105. 2007

BALLAS, S. K. The sickle cell painful crisis in adults: phases and objective signs. **Hemoglobin.** **Vol.19**:323–333. 1995.

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

BALLAS, S. K.; SMITH, E. D. Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis. **Blood.**, **Vol.79**:2154–2163. 1992

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

BARBOSA, C. G.; GONCALVES-SANTOS, N. J.; SOUZA-RIBEIRO, S. B.; MOURA-NETO, J. P.; TAKAHASHI, D.; SILVA, D. O.; HURTADO-GUERRERO, A. F.; REIS, M. G.; GONCALVES, M. S. Promoter region sequence differences in the A and G gamma globin genes of Brazilian sickle cell anemia patients. **Braz J Med Biol Res.**, 2010 .

BARNETT, C. F.; HSUE, P. Y.; MACHADO, R. F. Pulmonary hypertension: an increasingly recognised complication of hereditary hemolytic anemias and HIV infection. **JAMA.** **Vol.299**:324-31. 2008.

BAYSAL, E. & HUISMAN, T. H. J. Detection of Common Deletional  $\alpha$ -Thalassemia-2 Determinants By PCR. **Am. J. Hematol.**, Vol.46: 208-213, 1994.

BEHRINGER, R. R.; RYAN, T. M.; PALMITER, R. D.; BRINSTER, R. L.; TOWNES, T. M. Human gamma to beta globin gene switching in transgenic mice. **Gene Develop.**, Vol.4: 380-389, 1990.

BEIGUELMAN, B. **Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações**. 2a ed. Editora da Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, SP,460p. 1995.

BENNETT, L. Understanding sickle cell disorders. **Nurs Stand.**, Vol.20-26;19(32):52-61. 2005.

BERGER, E.; SAUNDERS, N.; WANG, L.; FRIEDMAN, J. N. Sickle cell disease in children: differentiating osteomyelitis from vaso-occlusive crisis. **Arch Pediatr Adolesc Med.**, Vol.163(3):251-5. 2009.

BEUTLER, E.; LICHTMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J. **In: Williams Hematology**. eds., 5<sup>o</sup> ed. McGraw-Hill, Inc. New York, 1990.

BHAUMIK, K. Fetal hemoglobin synthesis in sickle cell anemia: some molecular considerations. **Am. J. Hematol.**, Vol.46:101-106, 1994.

BILLET, H. H.; KIM, K.; FABRY, M. E.; NAGEL, L. E. The percentage of dense red cells does not predict incidence of sickle cell painfull crisis. **Blood**. Vol.68: 301-303. 1986.

BOOKCHIN, R. M.; BALAZS, T.; NAGEL, R. L.; TELLEZ, I. Polymerisation of haemoglobin SA hybrid tetramers. **Nature**. 269:526-527, 1977.

BORSATO, M. L.; BRUNIERA, P.; CUSATO, M. P.; SPEWIEN, K. E.; DURIGON, E. L.; TOPOROVSKI, J. Aplastic crisis in sickle cell anemia induced by parvovirus B19. **J. Pediatr.**, Vol.76:458-460, 2000.

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

BUCHANAN, G. R.; DEBAUN, M. R.; QUINN, C. T.; STEINBERG, M. H. Sickle cell disease. **Hematology**. 35-47, 2004.

BUNN, H. F. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. **N. Engl. J. Med.**, Vol.337: 762-769, 1997.

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

BUNN, H. F.; FORGET, B. G.: Sickle cell disease-molecular and cellular pathogenesis; In BUNN, H. F.; FORGET, B. G. **Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects**. Philadelphia, PA, USA, 1986, p. 453-501.

BUZINA, A., LO, M. Y., MOFFETT, A., HOTTA, A., FUSSNER, E., BHARADWAJ, R. R., PASCERI, P., GARCIA-MARTINEZ, J. V., BAZETT-JONES, D. P., ELLIS, J. Beta-globin LCR and intron elements cooperate and direct spatial reorganization for gene therapy. **PLoS Genet.**, Vol.11;4(4). 2008.

CARDOSO, G. L.; GUERREIRO, J. F. African gene flow to North Brazil as revealed by HBBS gene haplotype analysis. **Am J Hum Biol.**, Vol.18:93-98. 2006.

CASTRO, O.; BRAMBILLA, D. J.; THORINGTON, B.; REINDORF, C. A.; SCOTT, R. B.; GILLETTE, P.; VERA, J. C.; LEVY, P. S. The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. **Blood**. Vol.84:643-9. 1994.

CASTRO, V.; ALBERTO, F. L.; COSTA, R. N.; LEPIKSON-NETO, J.; GUALANDRO, S. F.; FIGUEIREDO, M. S.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J. M.; SAAD, S. T.; COSTA, F. F. Polymorphism of the human platelet antigen-5 system is a risk factor for occlusive vascular complications in patients with sickle cell anemia. **Vox. Sang., Vol.87:** 118-123, 2004.

CHANG, J. C.; LIU, D.; KAN, Y. W. A 36-base-pair core sequence of locus control region enhances retrovirally transferred human beta-globin gene expression. **Proc. Natl. Acad. Sci., Vol.88:**3107-3110, 1992.

CHANG, Y. P.; MAIER-REDELSPERGER, M.; SMITH, K. D.; CONTU, L.; DUCROCO, R.; DE MONTALEMBERT, M.; BELLOY, M.; ELION, J.; DOVER, G. J.; GIROT, R. The relative importance of the X-linked FCP locus and beta-globin haplotypes in determining haemoglobin F levels: a study of SS patients homozygous for beta S haplotypes. **Br. J. Haematol., Vol.96:** 806-814, 1997.

CHARACHE, S. Fetal Hemoglobin., **Vol.sickling**, and sickle cell disease. **Adv. Pediatr., Vol.37:**1-31, 1990

CHULAMOKHA, L.; SCHOLAND, S. J.; RIGGIO, J. M.; BALLAS, S. K.; HORN, D.; DESIMONE, J. A. Bloodstream infections in hospitalized adults with sickle cell disease: a retrospective analysis. **Am J Hematol., Vol.81(10):**723-8. 2006.

CLARE, A.; FITZHENLEY, M.; HARRIS, J.; HAMBLETON, I.; SERJEANT, G. R. Chronic leg ulceration in homozygous sickle cell disease: the role of venous incompetence. **Br J Haematol., Vol.119(2):**567-71. 2002.

COHEN, J. A Power Primer. **Psychological Bulletin**, Washington, v. 112, n. 1, p. 155-159, 1992.

CONNER-WARREN RL. Pain intensity and home pain management of children with sickle cell disease. **Issues Compr Pediatr Nurs.,** 1996



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

CONRAN, N.; FRANCO-PENTEADO, C. F.; COSTA, F. F. Newer aspects of the pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. **Hemoglobin**. **Vol.33**(1):1-16. 2009

CONRAN, N.; SAAD, S. T.; COSTA, F. F.; IKUTA, T. Leukocyte numbers correlate with plasma levels of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in sickle cell disease. **Ann Hematol.**, **Vol.86**, n. 4, p. 255-261, 2007.

CORCORAN, A.; DOYLE, S. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19. **J Med Microbiol.**, **Vol.53**(Pt 6):459-75. 2004.

CORRAR, L. J.; PAULO, E., DIAS FILHO, J. M. Análise multivariada para os cursos de administração, ciências contábeis e economia: Fundação Instituto de Pesquisas Contábeis, **Atuarias e Financeiras (FIPECAFI)**. São Paulo: Atlas, 2009.

COSTA, F. F. Anemia Falciforme. In: ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia, Fundamentos e Prática**. 1 ed, São Paulo: Atheneu, 2001, cap. 7, p. 289-308.

COSTA, F. F.; ARRUDA, V. R.; GONÇALVES, M. S.; MIRANDA, S. R. P.; CARVALHO, M. H.; SONATI, M. F.; SAAD, S. O. T.; GESEIRA, F.; FERNANDES, D.; NASCIMENTO, M. L.; QUEIROZ, I. L.  $\beta$ S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from two regions of Brazil. **Am. J. Hemat.**, **Vol.46**:96-97,1994.

COUTO, F. D.; DE ALBUQUERQUE, A. B.; ADORNO, E. V.; DE MOURA NETO, J. P.; DE FREITAS, A. L.; DE OLIVEIRA, J. L.; DOS REIS, M. G.; GONCALVES, M. Alpha-Thalassemia 2, 3. 7 kb deletion and hemoglobin AC heterozygosity in pregnancy: a molecular and hematological analysis. **Clin. Lab. Haematol.**, **Vol.25**:29-34, 2003.

CUELLAR-AMBROSI, F.; MONDRAGON, M. C.; FIGUEROA, M.; PREHU, C.; GALACTEROS, F.; RUIZ-LINARES, A. Sickle cell anemia and beta-globin gene cluster haplotypes in Colombia. **Hemoglobin**. Vol.24:221-5, 2000.

CUMMING, V.; KING, L.; FRASER, R.; SERJEANT, G.; REID, M. Venous incompetence, poverty and lactate dehydrogenase in Jamaica are important predictors of leg ulceration in sickle cell anaemia. **Br J Haematol.**, Vol.142(1):119-25. 2008.

CURTIN, P. B. **The slave trade of the nineteenth Century**. In *The Atlantic slave trade;The University of Wisconsin press;Madison, Milwaukee, London*, 1969. p. 231-264.

DACIE, SIR. J. V.; LEWIS, S. M. **Practical haematology**. 6<sup>a</sup> ed. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984.

DAUDT, L. E.; ZECHMAISTER, D.; PORTAL, L.; NETO, E. C.; SILLA, L. M.; GIUGLIANI, R. Neonatal screening for hemoglobinopathies: a pilot study in Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. **Cad. Saude. Publica**. Vol.18:833-41, 2002.

DAVIES, S. C.; ONI, L. Fortnightly review: Management of patients with sickle cell disease. **Brit. Med. J.**, Vol.315 (13) 656-660. 1997.

DE OLIVEIRA, M. S.; MATUTES, E.; FAMADAS, L. C.; SCHULZ, T. F.; CALABRO, M. L.; NUCCI, M.; ANDRADA-SERPA, M. J.; TEDDER, R. S.; WEISS, R. A.; CATOVSKY, D. Adult T-cell leukaemia/lymphoma in Brazil and its relation to HTLV-I. **Lancet**. Vol.336:987-90. 1990.

DE VAULT, K.; LAWRENCE, S, Friedman et al. Hepatitis C in sickle cell anemia. **J Clin Gastroenterol**. Vol.18:206-9. 1994.

DI NUZZO, D. V.; FONSECA, S. F. Sickle cell disease and infection. **J. Pediatr.**, Vol.80:347-354, 2004.

DODÉ, C.; KRISHNAMOORTHY, R.; LAMB, J.; ROCHETE, J. Rapids analysis of -  $\alpha^{3.7}$  thalassemia and  $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti } 3.7}$  triplication by enzymatic amplification analysis. **Br. J. Haematol.**, **2**: 105-111, 1993.

DOURADO, I.; ALCANTARA, L. C.; BARRETO, M. L.; DA GLORIA TEIXEIRA, M.; GALVÃO-CASTRO, B. HTLV- I in the General Population of Salvador, Brazil A City With African Ethnic and Sociodemographic Characteristics. **J Acquir Immune Defic Syndr.**, **Vol.34**:527-31. 2003.

EL-HAZMI, M. A.; WARSY, A. S.; BASHIR, N.; BESHAWI, A.; HUSSAIN, I. R.; TEMTAMY, S.; QUBAILI, F. Haplotypes of the beta-globin gene as prognostic factors in sickle-cell disease. **East. Mediterr. Health. J.**, **Vol.5**: 1154-1158, 1999.

EMBURY SH, HEBBEL RP, MOHANDAS N, STEINBERG MH. Sickle cell disease: basic principles and clinical practice. **Raven Press**: New York, 1994.

EMBURY, S. H. Sickle cell disease. In: HOFFMAN, R.; BENZ JUNIOR, E. J.; SHATTIL, S. J.; FURIE, B.; COHEN, H. J.; SILBERSTEIN, L. E. **Hematology**. 2. ed. New York: Churdhill Livingstone, p. 611-640. 1995.

EMBURY, S. H.; HEBBEL, R. P.; MOHANDAS, N.; STEINBERG, M. H. Sickle cell disease: basic principles and clinical practice. Raven Press: **New York**, 1994.

ENOSOLEASE, M. E.; EJELE, O. A.; AWODU, O. A. The influence of foetal haemoglobin on the frequency of vaso-occlusive crisis in sickle cell anaemia patients. **Niger Postgrad Med J.**, **Vol.12**(2):102-5. 2005

FALK, R. J.; SCHEINMAN, J.; PHILLIPS, G.; ORRINGER, E.; JOHNSON, A.; JENNETTE, J. C. Prevalence and pathologic features of sickle cell nephropathy and response to inhibition of angiotensin-converting enzyme. **N Engl J Med.**, **Vol.326**:910-915. 1992

FALUSI, A. G.; KULOZIK, A. E. Relationship of foetal haemoglobin levels and beta s haplotypes in homozygous sickle cell disease. **Eur. J. Haematol., Vol.45**, 1-4, 1990.

FIGUEIREDO, M. S.; KERBAUY, J.; GONÇALVES, M. S.; ARRUDA, V. R.; SAAD, S. T. O.; SONATI, M. F.; STOMING, T.; COSTA, F. F. Effect of  $\alpha$ -thalassemia and  $\beta$ -globin gene cluster haplotypes on the hematological and clinical features of sickle-cell anemia in Brazil. **Am. J. Hematol., Vol.53**:72-76, 1996.

FIGUEIREDO, M. S.; STEINBERG, M. H. 5' Hyersensitive site-2 and fetal hemoglobin in Brazilians. **Hemoglobin. Vol.20**: 435-438, 1996.

FLEURY, M. K. Beta globin haplotypes in sickle cell anemia in patients from Rio de Janeiro: clinical and laboratory aspects. **Rev. bras. anal. Clin., Vol.39(2)**:89-93. 2007

FLORENTINO, M. **Em costas negras**. Companhia das letras Press. Rio de Janeiro, Brazil. 1997.

FOGLIETTA, E.; DEIDDA, G.; GRAZIANE, B., MODIANO, G.; BIANCO, I. Detection of  $\alpha$ -globin gene disorders by a simple PCR methodology. **Haematologica., Vol.84**: 387-396, 1996.

FORRESTER, W. C.; NOVAK, U.; GELINAS, R.; GROUDINE, M. Molecular analysis of the human beta-globin locus activation region. **Proc Natl Acad Sci., Vol.86(14)**:5439-43. 1989.

FORRESTER, W. C.; TAKEGAWA, S.; PAPAYANNOPOULOU, T.; STAMATOYANNOPOULOS, G.; GROUDINE, M. Evidence for a locus activation region: The formation of developmentally stable hypersensitive sites in globin-expressing hybrids. **Nucleic Acids Res., Vol.15**:10159-10177. 1987.

FOSDAL, M. B.; WOJNER-ALEXANDROV, A. W. Events of hospitalization among children with sickle cell disease. **J PEDIATR NURS., Vol.22(4)**:342-6. 2007.

FRANCK, L. S.; TREADWELL, M.; JACOB, E.; VICHINSKY, E. Assessment of sickle cell pain in children and young adults using the adolescent pediatric pain tool. **J Pain Symptom Manage.** **Vol.23(2):**114-20. 2002.

FREMPONG, K. O.; STEINBERG, M. H. Clinical aspects of sickle cell anemia in adults and children. In: Steinberg MH, Forget BG, Higgs DR, Nagel RL, eds. **Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management.** 1st ed. Cambridge, England: Cambridge University Press;611-670. 2001.

FRIED, M. W. Management of hepatitis C in the hemophilia patients. **AM J MED., Vol.107:**85-8. 1999.

FRIEDMAN, N. Pediatric stroke: past, present and future. **Adv Pediatr., VOL.56:**271-99. 2009.

GALIZA-NETO, G. C. et al. Análise dos haplótipos do gene da beta S globina no Ceará. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial,** v. 41, n. 5, p. 315-21, 2005.

GARNER, C. P.; TATU, T.; BEST, S.; CREARY, L.; THEIN, S. L. Evidence of genetic interaction between the beta-globin complex and chromosome 8q in the expression of fetal Hemoglobin., **Am. J. Hum. Genet., Vol.70:** 793-739, 2002.

GARY, D. O. Prevention of invasive pneumococcal infection in sickle cell disease on the threshold of a new era of successes? **J. Pediatr., Vol.143:** 438, 2003.

GELLER, A. K.; O'CONNOR, M. K. The sickle cell criss: a dilemma in pain relief. **Mayo Clin Proc., Vol.83 (3):**320-3. 2008.

GERMAIN, S.; BRAHIMI, L.; ROHRLICH, P.;BENKERROU, M.; GEROTA, I.; BALLERINI, P. Transfusion in sickle cell anemia. **Pathol Biol (Paris), Vol.47(1):**65-72. 1999.

GIANNI, A. M.; BREGNI, M.; CAPPELLINI, M. D.; FIORELLI, G.; TARAMELLI, R.; GIGLIONI, B.; COMI, P. A gene controlling fetal hemoglobin expression in adults is not linked to the non-alpha globin cluster. **Ottolenghi S. EMBO J., Vol.2(6):921-5.1983.**

GILL, F. M.; SLEEPER, L. A.; WEINER, S. J.; BROWN, A. K.; BELLEVUE, R.; GROVER, R.; PEGELOW, C. H.; VICHINSKY, E. Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. **Blood.** 1995 Jul 15;86(2):776-83.

GLADWIN, M. T.; SACHDEV, V.; JISON, M. L.; SHIZUKUDA, Y.; PLEHN, J. F.; MINTER, K.; BROWN, B.; COLES, W. A.; NICHOLS, J. S.; ERNST, I.; HUNTER, L. A.; BLACKWELDER, W. C.; SCHECHTER, A. N.; RODGERS, G. P.; CASTRO, O.; OGNIBENE, F. P., Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. **N Engl J Med., Vol., Vol.350:886-895. 2004.**

GLADWIN, M. T.; CRAWFORD, J. H.; RAKESH, P. P. Serial review: Biomedical Implications for Hemoglobin Interactions with Nitric Oxide. The Biochemistry of Nitric Oxide, Nitrite, and Hemoglobin: Role in Blood flow regulation. **Free. Radic. Biol. Med., Vol.6:707-17. 2004.**

GONCALVES, M. S.; BOMFIM, G. C.; MACIEL, E.; CERQUEIRA, I.; LYRA, I.; ZANETTE, A.; BOMFIM, G.; ADORNO, E. V.; ALBUQUERQUE, A. L.; PONTES, A.; DUPUIT, M. F.; FERNANDES, G. B.; REIS, M. G.  $\beta^S$  – Haplotypes in sickle cell anemia patients from Salvador, Bahia, Northeastern Brazil. **Braz. J. Med., Vol.36: 1283-1288, 2003.**

GONCALVES, M. S.; NECHTMAN, J. F.; FIGUEIREDO, M. S.; KERBAUY, J.; ARRUDA, V. R.; SONATI, M. F.; SAAD, S. O. T.; COSTA, F. F.; STOMING, T. A. Sickle cell disease in a brasilian population from São Paulo: a study of the  $\beta^S$  haplotypes. **Hum. Hered., Vol.44: 322-327, 1994.**

GUREVITCH, O.; SLAVIN, S. The hematological etiology of osteoporosis. **Med Hypotheses. Vol.67:729-35. 2006.**

HALABI-TAWIL M, LIONNET F, GIROT R, BACHMEYER C, LÉVY PP, ARACTINGI S. Sickle cell leg ulcers: a frequently disabling complication and a marker of severity. **Br J Dermatol.**, Vol.158(2):339-44. 2008.

HARDISON, R. Organization, evolution and regulation of the globin genes; In: STEINBERG, M. H.; FORGET, B. G.; HIGGS, D. R.; NAGEL, R (eds. ). **Disorders of hemoglobin- genetics, pathophysiology and clinical management.** Cambridge University press, NY, USA, 2001. p. 174-196.

HASAN, M. F.; MARSH, F.; POSNER, G.; BELLEVUE, R.; DOSIK, H.; SUATENGCO, R.; RAMANI, N. Chronic hepatitis C in patients with sickle cell disease. **Am J Gastroenterol.** 1996.

HASSAN, M.; HASAN, S.; GIDAY, S.; ALAMGIR, L.; BANKS, A.; FREDERICK, W.; SMOOT, D.; CASTRO, O. Hepatitis C virus in sickle cell disease. **J Natl Med Assoc.**, Vol.95(10):939-42. 2003.

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

HEBBEL, R. P. Adhesion of sickle red cells to endothelium: myths and future directions. **Transfus Clin Biol.**, Vol.15(1-2):14-8.

HIGGS, D. R.; PRESSLEY, L.; CLEGG, J. B.; WEATHERALL, D. J.; SERJEANT, G. R.  $\alpha$  Thalassemia in black populations. **The Johns hopkins Medical Journal.** Vol.146: 300-310, 1980.

INATI, A.; AHER, A.; BOU ALAWI, W.; KOUSSA, S.; KASPAR, H.; SHBAKLO, H.; ZALLOUA, P. A. Beta-globin gene cluster haplotypes and HbF levels are not the only modulators of sickle cell disease in Lebanon. **Eur. J. Haematol.**, Vol.70: 79-83, 2003.

ITALIA, K.; JAIN, D.; GATTANI, S.; JIJINA, F.; NADKARNI, A.; SAWANT, P.; NAIR, S.; MOHANTY, D.; GHOSH, K.; COLAH, R. Hydroxyurea in sickle cell disease--a study of clinico-

pharmacological efficacy in the Indian haplotype. **Blood Cells Mol Dis., Vol.42(1):25-31.** Epub 2008 Oct 26.

JACOBSON, T. A.; MILLER, M.; SHAEFER, E. J. Hypertriglyceridemia and Cardiovascular risk reduction. **Clin Ther., Vol.29:763-77.** 2007

JAKUBIK, L. D. & THOMPSON, M. Care of the child with sickle cell disease: acute complications. **Pediatr. Nurs., Vol.26: 373-379,** 2000.

JESUS, L. E.; DEKERMACHER, S. Priapism in children: review of pathophysiology and treatment. **J Pediatr., Vol.85(3):194-200.** 2009.

KAUL, D. K.; FINNEGAN, E.; BARABINO, G. A. Sickle red cell-endothelium interactions. **Microcirculation., Vol.16(1):97-111.** 2009.

KOKO, J.; DUFILLOT, D.; M'BA-MEYO, J.; GAHOUMA, D.; KANI, F. Mortality of children with sickle cell disease in a pediatric department in Central Africa. **Arch. Pediatr., Vol.5:965-969,** 1998.

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

KRIEGER, H.; MORTON, N. E.; MI, M. P.; AZEVEDO, E.; FREIRE-MAIA, A.; YASUDA, N. Racial admixture in north-eastern Brazil. **Ann. Hum. Genet., Vol.29: 113-125,** 1965.

KUTLAR, A. Sickle cell disease: a multigenic perspective of a single gene disorder. **Hemoglobin. Vol.31(2):209-24.** 2007.

LANCLOS, K. D.; ÖNER, C.; DIMOVSKI, A. J.; GU, Y. C.; HUISMAN, T. H. J. Sequence variations in the 5' flanking and IVS-II regions of the <sup>G</sup>γ- and <sup>A</sup>γ – globin genes of β<sup>S</sup> chromosomes with five different haplotypes. **Blood. Vol.77: 2488-2496,** 1991.



LE TURDU-CHICOT, C.; FOUCAN, L.; ETIENNE-JULAN-OTTO, M. Viral seroprevalence, transfusion and alloimmunization in adults with sickle cell anemia in Guadeloupe. **Transfus Clin Biol., Vol.9**:115-20. 2002.

LEIKIN, S. L.; GALLAGHER, D.; KINNEY, T. R.; SLOANE, D.; KLUG, P.; RIDA, W. Mortality in children and adolescents with sickle cell disease. **Pediatrics., Vol.84**:500-8. 1989.

LESPRIT, E.; LESPRIT, P. Infection in sickle cell disease. **Rev. Praticien, Vol.54**: 1574-1577, 2004.

LEZCANO, N. E.; ODO, N.; KUTLAR, A.; BRAMBILLA, D.; ADAMS, R. J. Regular transfusion lowers plasma free hemoglobin in children with sickle-cell disease at risk for stroke. **Stroke. Vol.37**:1424-1426. 2006.

LIONNET, F.; BACHMEYER, C.; STANKOVIC, K.; THARAUX, P. L.; GIROT, R.; ARACTINGI, S. Efficacy of the endothelin receptor blocker bosentan for refractory sickle cell leg ulcers. **Br J Haematol., Vol.142**(6):991-2. 2008.

LISOT, C. L.; SILLA, L. M. Screening for hemoglobinopathies in blood donors from Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brazil: prevalence in an Italian colony. **Cad. Saude Publica., Vol.20**:1595-16601, 2004.

LITTLETON, E. T.; MAN, W. D.; HOLTON, J. L.; LANDON, D. N.; HANNA, M. G.; POLKEY, M. I.; TAYLOR, G. P. Human T cell leukaemia virus type I associated neuromuscular disease causing respiratory failure. **J Neurol Neurosurg Psychiatry., Vol.72**:650-52. 2002

LOPEZ, L.; LÓPEZ, P.; ARAGO, A.; RODRÍGUEZ, I.; LÓPEZ, J.; LIMA, E.; INSAGARAY, J.; BENTANCOR, N. Risk factors for hepatitis B and C in multi-transfused patients in Uruguay. **J Clin Virol., Vol.34**:69-74. 2005.

LU, R. P.; CLARK, P.; MINTZ, P. D. Hyperhemolysis syndrome: a relative contraindication for transfusion. **J Hosp Med.**, Vol.3(1):78-80. 2008.

LU, Z. H.; STEINBERG, M. H. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: relation to regulatory sequences cis to the beta-globin gene. Multicenter Study of Hydroxyurea. **Blood.** Vol.87: 1604-1611, 1996.

LYRA, I. M.; GONCALVES, M. S.; BRAGA, J. P.; GESTEIRA, M. F.; CARVALHO, M. H.; SAAD, S. T. O.; FIGEUIREDO, M. S.; COSTA, F. F. Clinical, hematological, and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brazil. **Cad. Saude Publica.** Vol.21: 109-118, 2005.

MAGANA, M. T.; ONGAY, Z.; TAGLE, J.; BENTURA, G.; COBIAN, J. G.; PEREA, F. J.; CASAS-CASTANEDA, M.; SANCHEZ-LOPEZ, Y. J.; IBARRA, B. Analysis of betaS and betaA genes in a Mexican population with African roots. **Blood Cells Mol Dis.**, Vol.28:121-126, 2002.

MARQUESE, R. B. A DINÂMICA DA ESCRAVIDÃO NO BRASIL. Resistência, tráfico negroiro e alforrias, séculos XVII a XIX. *Novos Estudos*, 74: 107-123, 2006.

MARZOUKI, Z. M.; KHOJA, S. M. Plasma and red blood cells membrane lipid concentration of sickle cell disease patients. **Saudi Med J.**, Vol.24(4):376-9. 2003.

MATSUBARA, L. S.; TREZZA, E.; LUIZ, V. J.; KRIEGER, H.; MACHADO, P. E.; PADOVANI, C. R. Hemoglobinopathy S in patients with Chagas' disease. **Rev Paul Med.**, Vol.101:14-6. 1983.

MCCLISH, D. K.; LEVENSON, J. L.; PENBERTHY, L. T.; ROSEFF, S. D.; BOVBJERG, V. E.; ROBERTS, J. D.; AISIKU, I. P.; SMITH, W. R. Gender differences in pain and healthcare utilization for adult sickle cell patients: **J Womens Health (Larchmt).**, Vol.15(2):146-54. 2006.

MEARS, J. G.; LACHMAN, H. M.; LABIE, D.; NAGEL, R. Alpha - thalassemia is related to prolonged survival in sickle cell anemia. **Blood.** Vol.62: 286-290, 1983.

MICHALOWSKI, W.; WILK, S.; THIJSEN, A.; LI, M. Using a Bayesian belief network model to categorize length of stay for radical prostatectomy patients. **Health Care Manag Sci.** 9:341-348. 2734 SEBASTIANI et al BLOOD, 1 OCTOBER 2007 VOLUME 110, NUMBER 7. 2006/2007

MILLER ST, SLEEPER LA, PEGELOW CH, ENOS LE, WANG WC, WEINER SJ, WETHERS DL, SMITH J, KINNEY TR. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease. **N Engl J Méd., Vol.13;342(2):83-9.** 2000.

MILLER, R. G.; SEGAL, J. B.; ASHA,R B. H.; LEUNG, S.; AHMED, S.; SIDDIQUE, S.; RICE, T.; LANZKRON, S. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. **Am J Hematol., Vol.81:236-41.** 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: **Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes. Brasília.** Anvisa, 2001.

MITCHELL, M. J.; CARPENTER, G. J.; CROSBY, L. E.; BISHOP, C. T.; HINES, J.; NOLL, J. Growth status in children and adolescents with sickle cell disease. **Pediatr Hematol Oncol., Vol.26(4):202-15.** 2009.

MORRIS, C. R. Mechanisms of vasculopathy in sickle cell disease and thalassemia. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program.** 177-85. 2008.

MORRIS, C. R.; KATO, G. J.; POLJAKOVIC, M.; WANG, X.; BLACKWELDER, W. C.; SACHDEV, V.; HAZEN, S. L.; VICHINSKY, E. P.; MORRIS, S. M. . JR.; GLADWIN. M. T. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. **JAMA. Vol.294:81-90.** 2005.

MOUÉLÉ R, PAMBOU O, FEINGOLD J, GALACTÉROS F. Alpha-thalassemia in Bantu population from Congo-Brazzaville: its interaction with sickle cell anemia. **Hum Hered., Vol.50(2):118-25.** 2000.

MOUELE, R.; GALACTEROS, F.; FEINGOLD, J. Haemoglobin F (HbF) levels in sickle-cell anaemia patients homozygous for the Bantu haplotype. **Eur. J. Haematol.**, Vol.63: 136-137, 1999.

MOUSA, S. A.; MOMEN, A. AL. ;, AL SAYEGH, F.; S JAOUNI, AL.; NASRULLAH, Z.; H SAEED, AL.; ALABDULLATIF, A.; SAYEGH, M.; AL ZAHRANI, H.; M HEGAZI; AL MOHAMADI, A.; ALSULAIMAN, A.; OMER, A.; AL KINDI ; TARAWA, A.; OTHMAN, AL. F.; M QARI. Review: management of painful vaso-occlusive crisis of sickle-cell anemia: consensus opinion. **Clin Appl Thromb Hemost.**, Vol.16(4):365-76. 2010.

MOUSA,S. A.; QARI, M. H. Diagnosis and management of sickle cell disorders. **Methods Mol Biol.**, Vol.663:291-307. 2010.

MUKHERJEE, M. B.; CHANG, Y. L.; DUCROCQ, R.; GANGAKHERDKAR, R. R.; COLAH, R. B.; KADAM, M. D.; MOHANTY, D.; NAGEL, R. L.; KRISHNAMOORTHY, R. Effect of  $\alpha$ -Thalassemia on sickle cell anemia linked to the Arab-Indian Haplotype in India. **Am. J. Hematol.**, Vol.55: 104-109, 1997.

MURTUZA, B.; GUPTA, P.; LALL, K. S. The acute chest syndrome of sickle cell disease following aortic valve replacement. **Interact Cardiovasc Thorac Surg.** **Interact Cardiovasc Thorac Surg.**, Vol.9(4):746-7. 2009.

NAGEL, R. L. Hemoglobinopathies. **Hematology/Oncology clinics of North America.** (5):1991.

NAGEL, R. L.; BOOKCHIN,R. M.; JHONSON, J.; LABIE, D.; WAJCMAN, H.; ISAAC-SODEYE, W. A.; HONG, G. R.; SCHILIRO, G.; CROOKSTON, J. H.; MATSUTOMO, W. A. Structural basis of the inhibitory effects of hemoglobin F and hemoglobin A<sub>2</sub> on the polymerization of hemoglobinS. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Vol.76: 670-672, 1979.

NAGEL, R. L.; RANNEY, H. M. Genetic Epidemiology of Structural Mutations of the  $\beta$ -Gobin Gene. **Semin. Hematol.**, Vol.27: 342-359, 1990.

NAGEL, R. L.; STEINBERG, M. H. Genetics of the  $\beta^S$  gene: origins, genetic epidemiology, and epistasis in sickle cell anemia. In: STEINBERG, M. H.; FORGET, B. G.; HIGGS, D. R.; NAGEL, R. L. (eds. ). **Disorders of hemoglobin –genetics, pathophysiology, and clinical management.** New York, USA, 2001. p. 711-755.

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

NAGEL, RL. Hemoglobinopathies. **Hematology/Oncology clinics of North America.** (5):1991

NAULT, J. C.; AMATHIEU, R.; LUIS, D.; DHONNEUR, G. Acute hepatic failure in sickle cell vaso-occlusive crisis. **Ann Fr Anesth Reanim., Vol.28(4):**393-5. 2009.

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

ODENHEIMER, D. J.; SARNAIK, S. A.; WHITTEN, C. F.; RUCKNAGEL, D. L.; SING, C. F. The relationship between fetal hemoglobin and disease severity in children with sickle cell anemia. **Am. J. med. Genet., Vol.27:** 525-535, 1987.

ODEY, F.; OKOMO, U.; OYO-ITA, A. Vaccines for preventing invasive salmonella infections in people with sickle cell disease. **Cochrane Database Syst Rev., Vol.7;(4):**CD006975. 2009.

OFORI-ACQUAH, S. F.; LALLOZ, M. R.; LAYTON, D. M. Localization of cis regulatory elements at the beta-globin locus: analysis of hybrid haplotype chromosomes. **Bioch. Biophys. Res. Comm., Vol.254:** 181-187, 1999.

OFORI-ACQUAH, S. F.; LALLOZ, M. R.; LAYTON, D. M. Nucleotide variation regulates the level of enhancement by hypersensitive site 2 of the beta-globin locus control region. **Blood Cells Mol. Dis., Vol.27**:803-811, 2001.

OFORI-ACQUAH, S. F.; LALLOZ, M. R.; SERJEANT, G.; LAYTON, D. M. Dominant influence of gamma-globin promoter polymorphisms on fetal haemoglobin expression in sickle cell disease. **Cell Mol. Biol., Vol.50**: 35-42, 2004.

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

OHENE-FREMPONG, K.; WEINER, S. J.; SLEEPER, L. A.; MILLER, S. T.; EMBURY, S.; MOOHR, J. W., WETHERS, D. L.; PEGELOW, C. H.; GILL, F. M. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. **Blood. Vol.91**:288-94. 1998.

OKPALA, I. Leukocyte adhesion and the pathophysiology of sickle cell disease. **Curr Opin Hematol., Vol.13**(1):40-4. 2006

OKPALA, I.; DANIEL, Y.; HAYNES, R.; ODOEMENE, D.; GOLDMAN, J. Relationship between the clinical manifestations of sickle cell disease and the expression of adhesion molecules on white blood cells. **Eur J Haematol., Vol.69**(3):135-44. 2002.

ONER, C.; DIMOVSKI, A. J.; ALTAY, C.; GURGEY, A.; GU, Y. C.; HUISMAN, T. H.; LANCLOS, K. D. Sequence variations in the 5' hypersensitive site-2 of the locus control region of beta S chromosomes are associated with different levels of fetal globin in hemoglobin S homozygotes. **Blood. Vol.79**, 813-819, 1992.

ORLANDO, G. M.; NAOUM, P. C.; SIQUEIRA, F. A. M.; BONINI-DOMINGOS, CR. Diagnóstico laboratorial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. **Rev Bras Hematol Hemoter., Vol22(2)**111-21. 2000.

OVERTURF, G. D. Prevention of invasive pneumococcal infection in sickle cell disease: on the threshold of a new era of successes? **J. Pediatr., Vol.143:** 423-425, 2003.

PAGNIER, R. J.; MEARS, J. G.; DUNDA-BELKHODJA, O.; SCHAEFER-REGO, K. E.; BELDJORD, C.; NAGEL, R. L.; LABIE, D. Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. **Proc. Natl. Acad. Sci., Vol.81:** 1771-1773, 1984.

PANTE-DE-SOUZA, G.; MOUSINHO-RIBEIRO, R. C.; DOS SANTOS, E. J. M.; ZAGO, M. A.; GUERREIRO, J. F. Origin of the hemoglobin S gene in a northern Brazilian population: the combined effects of slave trade and internal migrations. **Genet. Mol. Biol., Vol.21:** 1-9, 1998.

PANTE-DE-SOUZA, G.; MOUSINHO-RIBEIRO, R. C.; SANTOS, E. J. M.; GUERREIRO, J. F. Beta-globin haplotypes analysis in Afro-Brazilians from the Amazon region: evidence for a significant gene flow from Atlantic West Africa. **Ann. Hum. Biol., Vol.26(4):** 365-373, 1999.

PASHANKAR FD, CARBONELLA J, BAZZY-ASAAD A, FRIEDMAN A. Prevalence and risk factors of elevated pulmonary artery pressures in children with sickle cell disease. **Pediatrics., Vol.121(4):**777-82. 2008.

PEGELOW, C. H.; COLANGELO, L.; STEINBERG, M.; WRIGHT, E. C.; SMITH, J.; PHILLIPS, G.; VICHINSKY, E. Natural history of blood pressure in sickle cell disease: risks for stroke and death associated with relative hypertension in sickle cell anemia. **Am J Med., Vol.102:**171-177. 1997.

PERUTZ, N. F. Molecular anatomy and physiology of Hemoglobin., **Vol.In:** STEINBERG, M. H.; FORGET, B. G.; HIGGS, D. R.; NAGEL, R (eds. ). **Disorders of hemoglobin- genetics,**

**pathophysiology and clinical management.** New York: Cambridge University press, p 174-196. 2001.

PLATT OS, BRAMBILLA DJ, ROSSE WF, MILNER PF, CASTRO O, STEINBERG MH, KLUG PP. Mortality in sickle cell disease: life expectancy and risk factors for early death. **N Engl J Med., Vol.300:**1639-1644. 1994.

PLATT, O. S. The acute chest syndrome of sickle cell disease. **N Engl J Med., Vol.342:**1904-7, 1998.

PLATT, O. S., THORINGTON, B. D., BRAMBILLA, D. J. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. **N. Engl. J. Med., Vol.325,** 11-6. 1991.

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

PLONCZYNSKI, M.; FIGUEIREDO, M. S.; STEINBERG, M. H. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: examination of phylogenetically conserved sequences within the locus control region but outside the cores of hypersensitive sites 2 and 3. **Blood Cells Mol Dis., Vol.23:**188-200, 1997.

POIESZ, B. J.; RUSCETTI, F. W.; GAZDAR, A. F.; BUNN, P. A; MINNA, J. D.; GALLO, R. C. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proc Natl Acad Sci., Vol.77:**7415-419. 1980.

POWARS, D. R. Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features. **Hematol., Oncol. Clin. North Am., Vol.5:** 475-493, 1991.

POWARS, D. R. Sickle cell anemia and major organ failure. **Hemoglobin. Vol.14(6),** p. 573-598, 1990.



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

POWARS, D. R.; CHAN, L.; SCHROEDER, W. A. Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia: clinical implications. **Am J Pediatr Hematol Oncol.**, **Vol.12(3):367-74**. 1990.

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

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**. **Vol.63: 921-926**, 1984.

POWARS, D. R.; HITI, A. Sickle cell anemia. Beta S gene cluster haplotypes as genetic markers for severe disease expression. **Am. J. Dis. Child.**, **Vol.147:1197-1202**, 1993.

PRENGLER, M.; PAVLAKIS, S. G.; PROHOVNIK, I.; ADAMS, R. J. Sickle cell disease: the neurological complications. **Ann Neurol.**, **Vol.51:543-52**. 2002.

PROIETTI, F. A.; CARNEIRO-PROIETTI, A. B.; CATALAN-SOARES, B.; MURPHY, E. Global epidemiology of HTLV-1 infection and associated diseases. **Oncogene**. **Vol.24:6058-68**. 2005.

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

RAMALHO, A. S. **As hemoglobinopatias hereditárias: um problema de saúde pública no Brasil**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1986.

REGO, F. F.; ALCANTARA, L. C.; MOURA NETO, J. P.; MIRANDA, A. C.; PEREIRA O. S.; GONÇALVES, M. S.; GALVÃO-CASTRO, B. HTLV Type 1 Molecular Study in Brazilian Villages with African Characteristics Giving Support to the Post-Columbian Introduction Hypothesis. **AIDS Res Hum Retroviruses.**, Vol.24:673-77. 2008.

REZENDE, P. V.; VIANA, M. B.; MURAO, M.; CHAVES, A. C.; RIBEIRO, A. C. Acute splenic sequestration in a cohort of children with sickle cell anemia. **J Pediatr.**, Vol.85(2):163-9. 2009.

RIEDER, R. F.; SAFAYA, S.; GILLETTE, P.; FRYD, S.; HSU, H.; ADAMS, J. G. 3RD, STEINBERG MH. Effect of beta-globin gene cluster haplotype on the hematological and clinical features of sickle cell anemia. **Am J Hematol.**, Vol.36(3):184-9. 1991.

ROGOVIK, A. L.; FRIEDMAN, J. N.; PERSAUD, J.; GOLDMAN, R. D. Bacterial blood cultures in children with sickle cell disease. **Am J Emerg Med.**, Vol.28(4):511-4. 2010.

ROSEFF, S. D. Sickle cell disease. **Immunohematology.**, Vol.25(2):67-74. 2009.

SAIKI R. K.; GEELFOND D. H.; STOFFEL S.; SCHARF S. J.; HIGUCHI R.; HORN G. T.; MULLIS K. B.; ERLICH H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science.** Vol.239:487-491, 1988.

SALZANO, F. M. Incidence, effects, and management of sickle cell disease in Brazil. **Am J Pediatr Hematol Oncol.**, Vol.7; 240-244, 1985.

SAMAKOGLU, S.; PHILIPSEN, S.; GROSVELD, F.; LULECI, G.; BAGCI, H. Nucleotide changes in the gamma-globin promoter and the (AT)<sub>x</sub>Ny(AT)<sub>z</sub> polymorphic sequence of beta LCRHS-2 region associated with altered levels of HbF. **Eur J Hum Genet.**, Vol.7:345-56, 1999.

SAMPAIO, J.; PIMENTEL, H. M.; RIBEIRO, R.; FONTES, M.; PURIFICAÇÃO, A. C.; PRATES, S. L.; AMORIM, T. Perfil dos pacientes portadores de hemoglobinopatias triados e atendidos no serviço de referência em triagem neonatal - Associação de Pais e Amigos dos

Excepcionais de salvador (SRTN - APAE - SSA - BA) no período de junho/2000 a setembro/2004.

**Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Vol.26:24-24, 2004.**

SAMPIERI, R. H.; COLLADO, C. F.; LÚCIO, P. B. **Metodologia de pesquisa**. 3. ed. São Paulo: McGraw-Hill. 583 p. 2006.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proc. Natl. Acad. Sci., Vol.74:5463, 1977.**

SANHADJI, K.; GESSAIN, A.; CHOUT, R.; SASCO, A. J.; YOYO, M.; TOURAINE, J. L.; DE THÉ G. HTLV-I antibody and cell-mediated immunity status in sickle cell anemia. **Clin Immunol Immunopathol., Vol.43:140-4. 1987.**

SARNAIK, S. A.; BALLAS, S. K. Molecular characteristics of pediatric patients with sickle cell anemia and stroke . **Am. J. Hematol., Vol.67: 179-182, 2001.**

SARRAI, M.; DUROSEAU, H.; D'AUGUSTINE, J.; MOKTAN, S. BELLEVUE, R. Bone mass density in adults with sickle cell disease. **Br J Haematol., Vol.136:666-72. 2007.**

SAWHNEY H, WEEDON J, GILLETTE P, SOLOMON W, BRAVERMAN A. Predilection of hemolytic anemia-associated leg ulcers for the medial malleolus. **VASA. Vol.31(3):191-3. 2002.**

SCHACHTER, D.; CARTIER, L.; BORZUTZKY, A. Osteoporosis in HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). **Bone. Vol.33:192-6. 2003.**

SEBASTIANI, P.; NOLAN, V. G.; BALDWIN, C. T.; ABAD-GRAU, M. M.; WANG, L.; ADEWOYE, A. H.; MCMAHON, L. C.; FARRER, L. A.; TAYLOR, J. G. 6<sup>TH</sup>.; KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. **Blood.** 2007 Oct 1;110(7):2727-35.

SERJEANT, G. R. Red cell size and the clinical and haematological features of homozygous sickle cell disease. **Br J Haematol., Vol.48:** 445. 1981.

SERJEANT, G. R. Screening for sickle-cell disease in Brazil. **Lancet. Vol.356:** 168-169, 2000.

SERJEANT, G. R. The determinants of irreversibly sickled cells in homozygous sickle cell disease. **Br J Haematol., Vol.40:** 431. 1978

SERJEANT, G. R.; SERJEANT, B. E.; MOHAN, J. S.; CLARE, A. Leg ulceration in sickle cell disease: medieval medicine in a modern world. **Hematol Oncol Clin North Am.,** 2005 Oct;19(5):943-56, viii-ix

SERJEANT, G. R: Geography and the clinical picture of sickle cell disease. **Ann. N. Y. Acad. Sci., Vol.565:** 109-119. 1990.

SHAPIRO, B. S. The management of pain in sickle cell disease. **Pediatr Clin North Am., Vol.36(4):**1029-45. 1989.

SHARPSTEEN, J. R.; POWARS, D.; JOHNSON, C.; ROGERS, Z. R.; WILLIAMS, W. D.; POSCH, R. J. Multisystem damage associated with tricorporal priapism in sickle cell disease. **American Journal of Medicine. Vol.94(3),** p. 289-295, 1993

SILVA & GONÇALVES. Phenotypic characteristics of patients with sickle cell anemia related to  $\beta$ S-Globin gene haplotypes in Fortaleza, Ceara. **Rev. Bras. Hematol, Hemoter., Vol.32(1):**40-44. 2010.

SILVA, R. B. P.; RAMALHO, A. S.; CASSORLA, R. M. S. **A anemia falciforme como problema de saúde pública no Brasil.** *Rev. Saúde Pública,* v. 27, n. 1, p. 54-8, 1993.

SILVA, W. S.; LASTRA, A.; OLIVEIRA, S. F.; GUIMARÃES, N. K.; GRISOLIA, C. K. **Evaluation of coverage by a neonatal screening program for hemoglobinopathies in the Recôncavo region of Bahia, Brazil.** *Cad. Saúde Pública*, v. 22, n. 12, p. 2561-6, 2006.

SMITH, I. I.; C. M.; KUETTNER, J. F.; TUREY, D. P.; BURRIS, S. M.; WHITE, J. G. Variable deformability of irreversibly sickled erythrocytes. **Blood**. **Vol.58**: 71-77, 1981.

SMITH, W. R.; PENBERTHY, L. T.; BOVBJERG, V. E.; MCCLISH, D. K.; ROBERTS, J. D.; DAHMAN, B.; AISIKU, I. P.; LEVENSON, J. L.; ROSEFF, S. D. Daily assessment of pain in adults with sickle cell disease. **Ann Intern Med.**, **Vol.15**;148(2):94-101. 2008.

SOLUCIENT LLC. (2005). **Pediatric length of stay by diagnosis and operation**, United States. Evanston, IL: Solucient LLC.

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

SPORRER, K. A., JACKSON, S. M., AGNER, S., LAVER, J., & ABOUD, M. R. Pain in children and adolescents with sickle cell anemia: A prospective study utilizing self-reporting. **American Journal of Pediatric Hematology/Oncology**. **Vol.16**, 219–224. 1994.

STAMATOYANNOPOULOS, G. Control of globin gene expression during development and erythroid differentiation. **Exp. Hematol.**, **Vol.33**:259-271, 2005.

STAMATOYANNOPOULOS, G.; NIENHUIS, A. W. Hemoglobin switching. In: STAMATOYANNOPOULOS, G.; NIENHUIS, A. W., MAJERUS, P. W.; VARNUS, H. **The molecular basis of blood diseases**. 2 ed, Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1994. cap. 4, p. 107-156.

STEINBERG MH, BARTON F, CASTRO O, PEGELOW CH, BALLAS SK, KUTLAR A, ORRINGER E, BELLEVUE R, OLIVIERI N, ECKMAN J, VARMA M, RAMIREZ G, ADLER

B, SMITH W, CARLOS T, ATAGA K, DECASTRO L, BIGELOW C, SAUNTHARARAJAH Y, TELFER M, VICHINSKY E, CLASTER S, SHURIN S, BRIDGES K, WACLAWIW M, BONDS D, TERRIN M. . Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. **JAMA**. **Vol.289**:1645-1651. 2003.

STEINBERG, M. H. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. **Scientific World Journal**. 2009

STEINBERG, M. H. Modulation of fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Hemoglobin**, **Vol.25**:195-211, 2001.

STEINBERG, M. H. Predicting clinical severity in sickle cell anaemia. **Br J Haematol**, **Vol.129**:465-481. 2005.

STEINBERG, M. H. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. **Scientific World Journal**. **Vol.25**;8:1295-324. 2008.

STEINBERG, M. H., B. G. FORGET, D. R. HIGGS, AND R. L. NAGEL. Disorders of Hemoglobin. Frenette & Atweh, **Clin. Invest.**, **Vol.117**:850-8, 2007.

STEINBERG, M. H.; BARTON, F.; CASTRO, O.; PEGELOW, C. H.; BALLAS, S. K.; KUTLAR, A.; ORRINGER, E.; BELLEVUE, R.; OLIVIERI, N.; ECKMAN, J.; VARMA, M.; RAMIREZ, G.; ADLER, B.; SMITH, W.; CARLOS, T.; ATAGA, K.; DECASTRO, L.; BIGELOW, C.; SAUNTHARARAJAH, Y.; TELFER, M.; VICHINSKY, E.; CLASTER, S.; SHURIN, S.; BRIDGES, K.; WACLAWIW, M.; BONDS, D.; TERRIN, M. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. **JAMA**. **Vol.289**:1645-1651. 2003

STEINBERG, M. H.; BENZ JUNIOR, E. J. Hemoglobin synthesis, structure, and function. In: HOFFMAN, R.; BENZ JUNIOR, E. J.; SHATTIL, S. J.; FURIE, B.; COHEN, H. J.; SILBERSTEIN, L. E. **Hematology**. 2. ed. New York: Churdhill Livingstone, 1995. p. 458-468.

STEINBERG, M. H.; EMBURY, S. H.  $\alpha$  - Thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. **Blood**. **Vol.68**: 985-990, 1986.

STEINBERG, M. H.; HEBBEL, R. P. Clinical diversity of sickle cell anemia: genetic cellular modulation of disease severity. **Am J Hematol.**, **Vol.14**: 405-416. 1983.

STEINBERG, M. H.; HSU, H.; NAGE, R. L.; MILNER, P. F.; ADAMS, J. G.; BENJAMIN, L.; FRYD, S.; GILLETTE, P.; GILMAN, J.; JOSIFOVSKA, O.; HELLMAN-ERLINGSSON, S.; SAFAYA, S.; HUEY, L.; RIEDER, R. F. Gender and haplotype effects upon hematological manifestations of adult sickle cell anemia. **Am. J. Hematol.**, **Vol.48**:175-181. 1995.

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

STUART, M. J.; NAGEL, R. L. Sickle-cell disease. **Lancet.**, **Vol.364**: 1343-1360, 2004.

SUCHETT-KAYE, A. I. Syphilis, tuberculosis, and sickle-cell anaemia; report of a case. **Br J Vener Dis.**, **Vol.24**(4):148-50.1948

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

TABACHNICK, B. G.; FIDELL, L. S. Using Multivariate Statistics. New York: **Harper Collings College Publishers**. 2000.

TAKEKOSHI, K. J.; OH, Y. H.; WESTERMAN, K. W.; IRVING, M. L.; LEBOULCH. Retroviral transfer of a human beta-globin/delta-globin hybrid gene linked to beta locus control region hypersensitive site 2 aimed at the gene therapy of sickle cell disease. **Proc. Natl. Acad. Sci., Vol.92**:3014-3018,1995.

TARER, V.; ETIENNE-JULAN, M.; DIARA, J. P.; BELLOY, M. S.; MUKIZI-MUKAZA, M.; ELION, J.; ROMANA, M. Sickle cell anemia in Guadeloupean children: pattern and prevalence of acute clinical events. **Eur J Haematol., Vol.76(3)**:193-9. 2006.

TAYLOR VI, J. G.; NOLAN, V. G.; KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. The hyperhemolysis phenotype in sickle cell anemia: increased risk of leg ulcers, priapism, pulmonary hypertension and death with decreased risk of vasoocclusive events. **Blood. Vol.108**:236a-abstract 787. 2006

THEIN, S. L.; MENZEL, S.; LATHROP, M.; GARNER, C. Control of fetal hemoglobin: new insights emerging from genomics and clinical implications. **Hum Mol Genet., Vol.15**;18(R2):R216-23. 2009.

TRENT JT, KIRSNER RS. Leg ulcers in sickle cell disease. **Adv Skin Wound Care., Vol.17(8)**:410-6. 2004.

TROISI, C. L.; HOLLINGER, F. B.; HOOTS, W. K.; CONTANT, C.; GILL, J.; RAGNI, M.; PARMLEY, R.; SEXAUER, C.; GOMPERTS, E.; BUCHANAN, G.; SCHWARTZ, B.; ADAIR, S.; FIELDS, H. A multicenter study of viral hepatitis in the United States hemophilic population. **Blood. Vol.8**:412-418. 1993.

UDEZUE, E.; GIRSHAB, A. M. Differences between males and females in adult sickle cell pain crisis in eastern Saudi Arabia. **Ann Saudi Med., Vol.24(3)**:179-82. 2004.

VERDUZCO, LA.; NATHAN, D. G. Sickle cell disease and stroke. **Blood., Vol.114(25)**:5117-25. 2009.



VERGER, P. **Flux at flux de la traite des négres entre le Golfe de Benin at Bahia de Todos os Santos**. Paris, France, 1968.

VERGER, P. **Fluxo e refluxo do tráfico de escravos entre o Golfo do Benin e a Bahia de Todos os Santos**: dos séculos XVII a XIX. São Paulo: Corrupio, 1987.

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

VILACHÁ, D.; SALAZAR, R. Hematological and clinical profile in sickle cell or thalassemic patients. **Rev Invest Clin.**, Vol.58(2):94-100. 2006.

VIVENES DE LUGO, M.; RODRIGUEZ-LARRALDE, A.; CASTRO DE GUERRA, D. Beta-globin gene cluster haplotypes as evidence of African gene flow to the northeastern coast of Venezuela. **Am J Hum Biol.**, Vol.15:29-37, 2003.

VRIELINK, H.; REESINK, H. W. HTLV-I/II prevalence in different geographic location. **Transfus Med Rev.**, Vol.18:46-57. 2004.

WALLIS, J. P.; WELLS, A. W.; MATTHEWS, J. N.; CHAPMAN, C. E. Long-term survival after blood transfusion: a population based study in the North of England. **Transfusion.** Vol.44:102-32. 2004.

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

WANG, W. C.; KOVNAR, E. H.; TONKIN, I. L.; MULHERN, R. K.; LANGSTON, J. W.; DAY, S. W.; SCHELL, M. J.; WILIMAS, J. A. High risk of recurrent stroke after discontinuance of five to twelve years of transfusion therapy in patients with sickle cell disease. **J Pediatr.**, **Vol.118**:377-82. 1991.

WARE, R. E.; AYGUN, B. Advances in the use of hydroxyurea. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*, **Vol.62-9**. 2009.

WEATHERALL, D. J. The thalassemias. In: BEUTLER, E.; LICHTMAN, M. A.; COOLER, B. S.; KIPPS, T. J. **Williams hematology**. 5 ed. New York: Mc. Graw - Hill, Inc., 1995. cap. 55, p. 581-585.

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

WEST, D. C.; ANDRADA, E.; AZARI, R.; RANGASWAMI, A. A.; KUPPERMANN N. Predictors of bacteremia in febrile children with sickle cell disease. **J. Pediatr. Hematol., Oncol.**, **Vol.24**: 279-283, 2002.

WILIMAS, J.; GOFF, J. R.; ANDERSON, H. R.; JR LANGSTON, J. W.; THOMPSON, E. Efficacy of transfusion therapy for one to two years in patients with sickle cell disease and cerebrovascular accidents. **J Pediatr.**, **Vol.96**:205-8. 1980.

WILLIAMS, T. N.; MAITLAND, K.; GANCZAKOWSKI, M.; PETO, T. E. A.; CLEGG, J. B.; WEATHERALL, D. J.; BOWDEN, D. K. Red blood cell phenotypes in the  $\alpha^+$  thalassemias from early childhood to maturity. **Br. J. Haematol.**, **Vol.95**: 266-272, 1996.

WIN, N.; NEW, H.; LEE, E.; DE LA FUENTE, J. Hyperhemolysis syndrome in sickle cell disease: case report (recurrent episode) and literature review. **Transfusion**. **Vol.48**(6):1231-8. 2008.

WYSZYNSKI, D. F.; BALDWIN, C. T.; CLEVES, M. A.; AMIRAULT, Y.; NOLAN, V. G.; FARRELL, J. J.; BISBEE, A.; KUTLAR, A.; FARRER, L. A.; STEINBERG, M. H. Polymorphisms near a chromosome 6q QTL area are associated with modulation of fetal hemoglobin levels in sickle cell anemia. **Cell. Mol. Biol., Vol.50:** 23-33, 2004.

YANG, Y. M.; PACE, B. Pharmacologic induction of fetal hemoglobin synthesis: cellular and molecular mechanisms. **Ped. Pathol. Mol. Med., Vol.20:** 87-106, 2001.

YUSUF, H. R.; ATRASH, H. K.; GROSSE, S. D.; PARKER, C. S.; GRANT, A. M. Emergency department visits made by patients with sickle cell disease: a descriptive study, 1999-2007. **Am J Prev Med. Vol.38**(4 Suppl):S536-41. 2010.

ZAGO, M. A.; COSTA, F. F.; TONE, L. G.; BOTTURA, C. Hereditary hemoglobin disorders in a Brazilian population. *Hum Herd*, v. 33, p. 125-9, 1983. National Institute of Health. **The Management of Sickle Cell Disease**. NIH Publication, 2002.

ZAGO, M. A.; FIGUEIREDO, M. S.; OGO, S. H. Bantu beta s cluster haplotype predominates among Brazilian blacks. **Am J Phys Anthropol., Vol.88**, n. 3, p. 295-98, 1992.

ZAGO, M. A.; SILVA, W. A. J. R.; DALLE, B.; GUALANDRO, S.; HUTZ, M. H.; LAPOUMEROLIE, C.; TAVELLA, M. H.; ARAUJO, A. G.; KRIEGER, J. E.; ELION, J.; KRISHNAMOORTHY, R. Atypical beta(s) haplotypes are generated by diverse genetic mechanisms. **Am. J. Hematol., Vol.63:** 79-84, 2000.

ZAGO, M. A.; SILVA, W. A.; FRANCO, R. F. Hemoglobinopathies and other hereditary hematological diseases in the Brazilian population. **Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science., Vol.51:**226-34, 1999.

## TERMO DE CONSENTIMENTO

### ANEXO I

Eu, \_\_\_\_\_, com 18 anos de idade ou mais, (nome do pai ou responsável) detentor de integral competência dou consentimento para participar como voluntário do estudo denominado **“DIVERSIDADE FENOTÍPICA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS (LCR) DO GENE DA GLOBINA BETA NA ANEMIA FALCIFORME.”**, sob a coordenação de Dra. Marilda de Souza Gonçalves. As implicações de sua participação voluntária, incluindo a natureza, duração e objetivo do estudo, os métodos e meios através dos quais deve ser conduzido e as inconveniências e riscos que podem ser naturalmente esperados foram explicados por \_\_\_\_\_ (nome do investigador no(a) \_\_\_\_\_ (endereço e telefone).

Entendo também que eu tenho permissão para a qualquer momento revogar o meu consentimento e retirar o paciente do estudo sem sofrer nenhuma punição ou perda de direitos. Entretanto, o paciente poderá ser solicitado a realizar exames, caso o médico que o assiste, julgue-os necessários para sua saúde e bem estar. Minha recusa em permitir que meu filho ou tutelado participe do estudo não resultará em punições ou perdas de benefícios a que ele/ela tenha direito.

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

Assinatura do responsável \_\_\_\_\_ Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Endereço \_\_\_\_\_

Número de identidade \_\_\_\_\_

Número no estudo \_\_\_\_\_

Eu presenciei a explicação acima descrita, confirmando a oportunidade concedida ao responsável de formular perguntas e testemunho a assinatura do pai ou responsável pelo menor neste documento.

Nome da testemunha - 1 (letra de forma) \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha-1 \_\_\_\_\_ Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Nome da testemunha - 2 (letra de forma) \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha-2 \_\_\_\_\_ Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura do investigador \_\_\_\_\_ Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

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

## EXPLICAÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO

### TÍTULO DO ESTUDO

**“DIVERSIDADE FENOTÍPICA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DA REGIÃO CONTROLADORA DO LOCUS (LCR) DO GENE DA GLOBINA BETA NA ANEMIA FALCIFORME.”**

Investigador principal

Dra. Marilda de Souza Gonçalves

Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ – BA

Faculdade de Farmácia – Universidade Federal da Bahia

Informações sobre a sua participação.

As anemias são doenças que podem ocorrer mais frequentemente por falta de alimentação adequada, por parasitoses, mas também existe uma causa muito encontrada na nossa população e que pode ser herdada do pai e da mãe, devido a um defeito na substância que se une ao oxigênio e o leva por todo o nosso corpo. Esta substância é chamada de hemoglobina e uma das doenças mais comuns é a anemia falciforme.

A anemia falciforme é uma doença grave e os indivíduos transmissores da herança representam 7% da nossa população. Por isso, é importante realizar estudos que possam ajudar a compreender melhor esta doença e também colaborar para o surgimento de um novo tipo de tratamento.

Por esses motivos, você está sendo convidado a participar de uma pesquisa médica, que envolverá diagnóstico, assistência e informações sobre esta anemia hereditária. É de grande importância que você entenda os princípios gerais que se seguem e que serão aplicados a todos os participantes do nosso estudo: a) sua participação é totalmente voluntária; b) você poderá interromper sua participação antes ou em qualquer momento do estudo. Sua recusa em participar não envolverá punições ou perda de seus direitos constituídos; c) depois de lidas as explicações, você pode fazer qualquer pergunta necessária ao seu entendimento.

## **OBJETIVO DO ESTUDO**

O objetivo deste estudo é fornecer o diagnóstico desta anemia, com as suas características, fornecendo acompanhamento médico aos portadores e proporcionando uma melhor qualidade de vida aos mesmos. Caso você concorde em participar, deve permitir a coleta de 5 mL de sangue, que será realizado pela equipe responsável na Fundação Hemocentro da Bahia / HEMOBA, destinados à realização das análises laboratoriais.

### **Duração da sua participação**

O tempo previsto para a realização do nosso estudo será de aproximadamente 04 (quatro) anos. Entretanto, todos os portadores da anemia serão assistidos pela equipe médica do HEMOBA para acompanhamento clínico e aconselhamento genético.

### **Riscos, danos e desconfortos**

O sangue será coletado através da utilização de materiais novos, estéreis e descartáveis, por pessoal habilitado e especializado. As amostras para análise molecular serão retiradas das mesmas amostras coletadas para o diagnóstico, sem a necessidade de coletas extras.

### **Benefícios**

A participação neste projeto proporcionará benefícios aos indivíduos portadores de anemia, uma vez que possibilitará a realização do acompanhamento clínico, laboratorial e aconselhamento genético.

### **Compromisso com a confidencialidade da identidade do voluntário**

Os registros da participação da criança no estudo serão mantidos confidencialmente, sendo do conhecimento dos participantes do projeto e do médico que o acompanha.

### **Novos achados significativos**

Qualquer informação importante que surgir durante a sua participação no estudo e que possa contribuir para o melhor desenvolvimento clínico da doença em estudo será levada imediatamente ao seu conhecimento e do seu médico.

### **Cuidados médicos**

Os participantes do estudo serão atendidos para acompanhamento no HEMOBA - Hemocentro da Bahia. As análises laboratoriais serão realizadas no CPqGM-FIOCRUZ e na Faculdade de Farmácia-UFBA.

Pessoas e locais a serem contatadas para a obtenção de respostas, e formulação de perguntas e maiores informações

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

**Dra. Marilda de Souza Gonçalves** – Coordenadora do projeto – Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz – FIOCRUZ

Tel: 356-8783 R- 265

**Dra. Isa Lyra** - Médica - Especialização em Hematologia - Centro de Hematologia e Hemoterapia / HEMOBA

Tel: 357 - 2496

**Dra. Ângela Zanette** - Médica - Especialização em Hematologia - Centro de Hematologia e Hemoterapia / HEMOBA

Tel: 357 - 2496

**José Pereira de Moura Neto** – Farmacêutico Bioquímico que desenvolverá a tese de doutorado com a realização do presente projeto no Laboratório LPBM – CPqGM – FIOCRUZ . Tel : 356-8783 R- 265

Caso você não tenha entendido alguma parte deste documento/explicação, pergunte ao investigador antes de assinar.

Atesto o recebimento da cópia deste acordo, que é constituído pelos termos de explicação e de consentimento.

Assinatura do paciente \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

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

Assinatura do pai/responsável \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

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

Assinatura da testemunha 1 \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome da testemunha 1 (letra de forma) \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha 2 \_\_\_\_\_ Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome da testemunha 2 (letra de forma) \_\_\_\_\_