

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Farmácia

NÉLIO GOMES DE MOURA JUNIOR

ANEMIA FALCIFORME: UM PANORAMA ATUAL DA DOENÇA

Brasília

2017

Universidade de Brasília
Faculdade de Ciências da Saúde
Departamento de Farmácia

ANEMIA FALCIFORME: UM PANORAMA ATUAL DA DOENÇA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado a Faculdade de Ciências da Saúde – Departamento de Farmácia, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aluno: Nélio Gomes de Moura Junior

Orientador: Prof. Felipe Saldanha de Araújo
PhD

Brasília

2017

Agradecimentos

A Deus por sua infinita misericórdia e estar sempre a mostrar que está ao meu lado nos momentos em que pensei desistir;

Aos meus pais, Nélio e Adélia, minhas irmãs, Meire e Janaina, meus sobrinhos, Arthur e Gabriel, meu cunhado Pietro por sempre acreditarem em mim e fazer possível o sonho da graduação;

Ao meu companheiro de vida, Van, por todo amor e paciência desde o início dessa jornada, seu apoio foi fundamental para que chegasse até o fim;

Aos amigos que fiz na farmácia, em especial, Dessa, Gi, Thais, Aldê e Nayra a caminhada durante esses longos quase 6 anos foi bem mais fácil com todos, dividindo as alegrias, as frustrações, no fim tudo deu certo;

E ao meu orientador, Felipe Saldanha, que aceitou me ajudar a passar por mais uma fase. Todos os ensinamentos foram muito bem vindos e sei que serão úteis no futuro.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura da hemoglobina representada pelas cadeias globínicas	13
Figura 2. Movimento migratório da HbS para o mundo	15
Figura 3. Mutação na posição 6 que resulta na produção da HbS	17
Figura 4. Coleta do Teste do Pezinho em papel filtro	24
Figura 5. Eletroforese em pH alcalino (aceto de celulose) e pH ácido (ágar citrato)	25
Figura 6. Pool de Hemoglobinas.....	26
Figura 7. Escala Analógica da Dor.....	29
Figura 8. Adesão das Fases do PNTN no Brasil	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Valores de referência para concentração de hemoglobina segundo faixa etária...	12
Tabela 2. Incidência mundial de hemoglobinopatias.....	14
Tabela 3. Protocolo de Emergência para pacientes com AF	29

LISTA DE ABREVIACÕES

AF - Anemia Falciforme

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BAAR – Bacilo Álcool-Ácido Resistente

BCAM – *Basal Cell Adhesion Molecule*

cGMP – *Cyclic Guanosine Monophosphate*

CLAE/HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência/*High Performace Liquid Chromatography*

G-6-PD – *Glucose-6-phosfate dehydrogenase*

Glu – Ácido Glutâmico

Hb – Hemoglobina

HbF – Hemoglobina Fetal

HbS – Hemoglobina S

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

HPFH – Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal

HU – Hidroxiuréia

ICAM-1 – *Intercelular Adhesion Molecule 1*

IEF - Eletroforese por Focalização Isoelétrica

IL – Interleucina

NF- κ B – *Nuclear Factor Kappa B*

NO – *Nitric Oxide*

OMS - Organização Mundial de Saúde – OMS

ONU – Organização das Nações Unidas

PNTN – Programa Nacional de Triagem Neonatal

POC – *Point of Care*

PS – *Phosphatidylserine*

REREME – Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea

ROS – Espécies Reativas de Oxigênio do inglês *Reactive Oxygen Species*

STA – Síndrome Torácica Aguda

TCTH – Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas

TF – Fator tecidual do inglês *Tissue Factor*

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral α do inglês *Tumor Necrosis Factor α*

Val – Valina

VCAM-1 – *Vascular Cell Adhesion Molecule 1*

VCM – Volume Corpuscular Médio

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética hereditária causada por uma mutação pontual (GAG → GTG) no códon 6 do gene β da hemoglobina (Hb). Essa alteração faz com que o aminoácido ácido glutâmico (Glu) seja substituído por valina (Val). Com isso, as hemácias passam a apresentar formato de foice quando expostas a situações de desoxigenação. Além da mudança de formato, as hemácias falciformes com o tempo, perdem a capacidade de deformação e apresentam maior expressão de moléculas de adesão. Caracterizada por crises dolorosas causada pela vaso-oclusão, a AF é considerada um problema de saúde pública e muitos são os esforços de todos os países para proporcionar melhores condições de vida aos doentes desde o nascimento. Programas de aconselhamento genético, triagem neonatal, medidas profiláticas com base em tratamento, medicamento e vacinas contra infecções são alguns dos métodos utilizados em todo o mundo. Apesar do aumento na expectativa de vida desta população, todos os anos cerca de 300 mil recém-nascidos apresentam a doença.

Palavras chave: Anemia Falciforme; Problema de Saúde Pública; Panorama atual.

ABSTRACT

SCD is an inherited genetic disease causes by a point mutation (GAG → GTG) at codon 6 of the β hemoglobin gene. This mutation substitution of glutamic acid to valine. With this, red blood cells become sickle shaped when exposed to deoxygenation. In addition to the change in shape, sickle cells lose the ability to deform and have incised expression of adhesion molecules. Characterized by painful crisis caused by vaso-occlusion. SCD is considered a public health problem and many efforts are being made worldwide to provide better conditions for patients. Genetic counseling programs, neonatal screening, prophylactic measures based on drug treatment and vaccines against infections are some of the methods used around the world. Despite the increase in the life expectancy of this population, every year about 300 thousand newborns present the disease.

Keywords: Sickle Cell Anemia; Public health problem; Current overview.

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. OBJETIVOS	11
3. METODOLOGIA.....	11
4. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
4.1 Anemia.....	11
4.2 Hemoglobinopatias.....	13
4.3 Prevalência da Anemia Falciforme.....	15
4.4 Fisiopatologia	16
4.5 Traço Falciforme e Doença Falciforme	19
4.6 Sinais e Sintomas	20
4.7 Diagnóstico.....	24
4.8 Tratamento	28
4.8.1 Transfusão Sanguínea.....	30
4.8.2 Hidroxiuréia (HU)	30
4.8.3 Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH)	33
4.8.4 Terapia Gênica.....	34
4.9 Novos alvos terapêuticos.....	35
5. DISCUSSÃO	36
6. CONCLUSÃO	44
7. BIBLIOGRAFIA.....	46

1. INTRODUÇÃO

O primeiro relato de anemia falciforme ocorreu em 1910. James Herrick identificou hemácias alongadas com formato de foice em um estudante de 20 anos (Wailoo, 2017). Em 1948, Janet Watson percebeu que os recém-nascidos com AF não manifestavam complicações até os 6 meses de vida. A hipótese foi de que as hemácias dos bebês eram protegidas pela maior concentração de Hb fetal circulante. Anos depois, essa teoria se confirmou em pacientes falciformes afetados com o fenótipo de persistência hereditária da hemoglobina fetal (HPFH), pois se mostravam assintomáticos (Lettre & Bauer, 2016). Linus Pauling, em 1949, por meio de experimentos com eletroforese identificou uma diferença na Hb dos pacientes falciformes quando comparados com várias Hb conhecidas na época e determinou que a doença era molecular (Naik & Haywood, 2015).

Após a descoberta de Linus Pauling, Ingram, em 1956, avaliou as moléculas de Hb A e S e descobriu que a doença molecular era causada pela troca de um aminoácido na cadeia polipeptídica (Ingram, 1956). A fisiopatologia da doença se define pela substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da extremidade N-terminal da cadeia β de hemoglobina que confere ao eritrócito a forma de foice em situações de estresse (de Souza et al. 2016). Além da mutação pontual, as hemácias falciformes apresentam maior capacidade de adesão e recrutamento de moléculas inflamatórias o que confere a característica de uma doença inflamatória e explica as principais complicações como as crises dolorosas vaso-oclusivas (Manfredini et al., 2007; Gladwin & Ofori-Acquah, 2014; Alapan et al., 2015).

É interessante, pois acredita-se que o gene da AF seja uma forma de seleção natural contra a malária, uma vez que os pacientes com traço falciforme, através de um mecanismo desconhecido, se mostram mais resistentes a infecção pelo parasita. (Naik & Haywood, 2015; de Souza et al., 2016).

Considerada a doença hereditária mais prevalente no mundo, estima-se que cerca de 7% da população apresente alguma hemoglobinopatia e 300 mil bebês por ano nasçam com AF. Desde 2008, a Organização das Nações Unidas (ONU) reconheceu a AF como um problema de saúde pública. A resolução nº 63/237 da ONU reforça a necessidade da facilidade do diagnóstico e tratamento para incentivar a cooperação internacional com intuito de aumentar os incentivos nas áreas de pesquisa e atenção à saúde.

Desde os anos 60, a Organização Mundial de Saúde (OMS) atenta para a necessidade de programas de triagem neonatal para proporcionar melhor forma de tratamento aos recém-nascidos (Brasil, 2002). Os Estados Unidos, desde os anos 70, conta com programas de *screening* para AF (Nayk & Haywood, 2015). No Brasil, a triagem de doenças hereditárias por meio do teste do pezinho começou em 1992, mas a AF só entrou no programa em 2001, após o Programa de Direitos Humanos de 1995 (Fry, 2005, Torres & Guedes, 2015).

O tratamento da AF se baseia em anti-inflamatórios e derivados de opioídes contra a dor. A transfusão sanguínea e a hidroxiuréia (HU) foram alternativas encontradas para tentar evitar as crises dolorosas e as complicações como AVC, priapismo, entre outros. Apesar dos possíveis efeitos adversos como a sobrecarga de ferro (no caso da transfusão) e mielosupressão (no caso da HU), a introdução dessas terapias mostrou-se bastante eficaz e com boa aceitação pelos pacientes (Brasil, 2009).

Atualmente, muitos são os avanços em busca de melhorias na qualidade de vida dos pacientes. A procura por novas medidas terapêuticas cresce a cada dia como forma de aumentar as possibilidades de tratamento. Além dos novos alvos terapêuticos, se busca encontrar uma medida definitiva como o transplante de medula óssea (Walters, 2015; Telen, 2016) e a terapia gênica (Chang et al., 2017; Ribeil et al., 2017).

2. OBJETIVOS

Esse trabalho tem por objetivo revisar a literatura, a fim de apresentar uma atualização sobre a AF, bem como discutir as medidas de saúde pública que são desenvolvidas com vistas a propiciar melhor qualidade de vida aos pacientes acometidos por essa patologia.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho consiste em uma revisão da literatura, em que consideramos entre os anos 1956 a 2017. Utilizamos como base de dados os sítios: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> e <http://www.scielo.org/php/index.php>. Ademais, consultamos informações contidas no sítio do Ministério da Saúde.

Nos referidos sites de pesquisa científica utilizamos buscas pelos seguintes termos: “*sicklecelldisease / sicklecell anemia*” and “*physiopathology*”; “*global burden*”; “*diagnosis*”, “*treatment*” “*hemoglobinopatias/hemoglobinopathies*”.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ANEMIA

O termo anemia deriva do latim *anaemia*, que significa falta de sangue (anaima – an: falta de e aim: sangue). Atualmente, considera-se anêmico o indivíduo que apresenta concentração de Hb abaixo do definido para sua faixa etária e sexo (tabela 1) ou alteração na morfologia das células vermelhas. Segundo a OMS, a concentração de hemoglobina deve ser respectivamente inferior que 12 g/dL e 1 g/dL para mulheres e homens para que sejam diagnosticados com anemia. As anemias possuem fisiopatologia diversa e multifatorial, sendo as principais causas relacionadas à deficiência nutricional, a doenças (hemorragia, câncer) ou alterações no processo de eritropoese (Kassebaum et al., 2014; Naoum, 2015).

Além da concentração de Hb, a classificação da anemia depende da avaliação dos índices hematimétricos (hemoglobina corpuscular média - HCM e volume corpuscular médio - VCM), o que permite determinar se é microcítica/hipocrômica, normocítica/normocrômica ou macrocítica. Através desses índices, a análise microscópica confirma os achados e

exames complementares determinam o tipo de anemia para a melhor conduta terapêutica (Naoum, 2015).

Tabela 1. Valores de referência para concentração de hemoglobina segundo faixa etária.

Faixa Etária	Hb(g/dL)
Nascido a termo	13,5 – 18,5
2 a 6 meses	9,5 – 13,5
6 meses a 6 anos	11,0 – 14,0
6 – 12 anos	11,5 – 15,5
Homem > 12 anos	13,0 – 17,0
Mulheres não grávidas	12,0 – 15,0
Mulheres Grávidas	
1º Trimestre (0-12 semanas)	11,0 – 14,0
2º Trimestre (13-28 semanas)	10,5 – 14,0
3º Trimestre (29 semanas-Nascimento)	11,0 – 14,0

Fonte: OMS, 2011.

Os principais sintomas da anemia, no geral, estão relacionados com a redução do transporte de oxigênio causando dispneia, palpitações, sonolência dependendo da gravidade e velocidade de instalação. No caso das anemias hemolíticas é frequente o aparecimento de icterícia devido ao aumento de bilirrubina indireta e esplenomegalia como processo de retirada dos resíduos de hemácias pelo baço (Cliquet, 2010).

A detecção de anemia normocítica e normocrômica nem sempre é indicativo de que as hemácias estejam com tamanho, forma e cor normais, pois as diversidades morfológicas encontradas apresentam o VCM normal e, em relação a cor, a diferença entre os micrócitos hipocrômicos e macrócitos normocrômicos resulta em um valor de HCM normal. Portanto, os achados morfológicos encontrados na visualização do esfregaço sanguíneo devem ser sempre relatados (Nauom, 2015). A hemólise é situação comum de anemia normocítica normocrômica, podendo ser desenvolvida por fator intrínseco ou extrínseco. A destruição prematura das hemácias promove a estimulação da eritropoiese e, conseqüentemente, aumenta o número de reticulócitos no sangue periférico. Em condições normais as hemácias são destruídas no fígado ou no baço por macrófagos, após 90 e 120 dias de circulação. O processo de hemólise pode se manifestar de várias maneiras, como episódios agudos, súbito, autolimitado, intra ou extravascular (hemólise autoimune) ou por defeitos hereditários, como no caso da anemia falciforme, deficiência de piruvatoquinase e glicose-6-fosfatodesidrogenase (G-6-PD) (Alegre & Carvalho, 2009).

A anemia hemolítica pode se tornar crônica e, em geral, apresentar pouca sintomatologia, ou mostrar icterícia, cálculos biliares e esplenomegalia como resultado do catabolismo aumentado da Hb. Um dos principais exemplos é a AF, que apresenta manifestações com acentuação das crises de falcização (Alegre & Carvalho, 2009).

4.2 HEMOGLOBINOPATIAS

A estrutura da Hb humana sofre mudanças durante a fase embrionária, fetal e adulta. As moléculas de Hb consistem em um tetrâmero composto de duas subunidades α (α ou ζ) e duas subunidades β (β , δ , γ , $A\gamma$ ou ϵ) (figura 1) que se mantem unidas por ligações não covalentes. Cada globina acopla um grupo prostético heme constituído de uma parte orgânica e um átomo de ferro (ferroso [Fe(II)]). As cadeias globínicas se ligam covalentemente com um centro de ligação ao oxigênio (Weatherall & Clegg, 2001; Sankaran & Orkin, 2013).

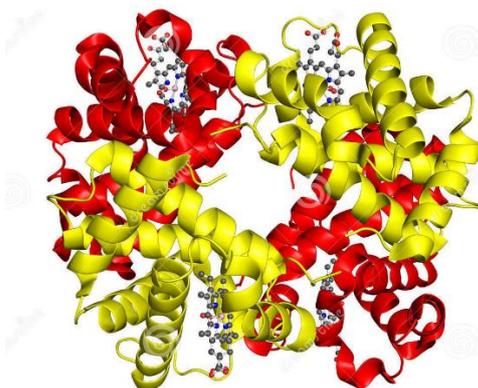


Fig. 1. – Estrutura da hemoglobina representada pelas cadeias globínicas.

Fonte: <https://pt.dreamstime.com/fotos-de-stock-royalty-free-estrutura-da-hemoglobina-humana-image34873928> Acesso em: 06/2017

A região telomérica do braço curto do cromossomo 16 é responsável pela síntese do cluster α , enquanto o braço curto do cromossomo 11 codifica as cadeias do cluster β . Da fase embrionária até a vida adulta, existem hemoglobinas diferentes para cada momento. No período embrionário, são produzidas as embrionárias Gower I ($\zeta 2\epsilon 2$), Gower II ($\alpha 2\epsilon 2$) e Portland I ($\zeta 2\gamma 2$); no período fetal, estas são substituídas pela Hb fetal ou F ($\alpha 2\gamma 2$), que, por sua vez, dá lugar às Hb A ($\alpha 2\beta 2$) e A2 ($\alpha 2\delta 2$) na vida adulta (Sonati & Costa, 2008).

Durante a fase embrionária, a Hb é sintetizada em cadeias zeta e posteriormente cadeias alfas e épsilon que formarão cadeias gamas e depois beta. As cadeias alfa possuem 141 aminoácidos e as cadeias betas 146 aminoácidos. As cadeias $\alpha 2\gamma 2$ compõem a Hb fetal. No decorrer do desenvolvimento, as cadeias gama dão lugar as cadeias beta,

formando a Hb A ($\alpha_2\beta_2$), sendo cerca de 2% A2 ($\alpha_2\delta_2$). A interação das subunidades são responsáveis pela capacidade de transportar O_2 , CO_2 , H^+ de acordo com as necessidades fisiológicas (Weatherall & Clegg, 2001).

As hemoglobinopatias constituem o grupo de doenças hereditárias e são classificadas de acordo com a alteração estrutural da Hb. As principais alterações são formação de Hb S, C, D e E e/ou uma ou mais alterações no número das cadeias globínicas α e β , originando as talassemias (Tavares *et al.*, 2015). Além das alterações nas cadeias globínicas, há a Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal, uma alteração rara caracterizada pelo aumento da HbF em adultos com níveis de HbA e HbA2 normais e concentração de HbF 30% maior que o normal (Piqueras *et. al* 2016). Estima-se que cerca de 300-400 mil recém-nascidos tenham alguma hemoglobinopatia grave (tabela 2), onde a maior parte se concentra em países subdesenvolvidos (Williams & Weatherall, 2012).

Tabela 2 – Incidência mundial de hemoglobinopatias.

Hemoglobinopatia	Incidência
β -talassemia maior	22.989
HbE β -talassemia	19.128
Doença HbH	9.568
Hidropsia Fetal – Hb Bart	5.183
Anemia Falciforme	217.331
HbS β -talassemia	11.074
Doença SC	54.736

Fonte: Williams & Weatherall, 2012

As talassemias podem ocorrer a partir de alterações nas cadeias alfa ou beta. Na talassemia alfa o portador pode ser α^+ heterozigoto ($-\alpha/\alpha$), que é praticamente assintomático e não possui alterações marcantes em exames laboratoriais. Os indivíduos traço talassemico α^+ homozigoto ($-\alpha/-\alpha$) ou α^0 heterozigoto ($--/\alpha\alpha$) apresentam anemia microcítica e hipocrômica branda (Hb entre 11 e 13 g/dL). Quando afetados três genes alfa, caracteriza-se o paciente como portador da Doença de Bart ou doença da HbH. Nesse caso, apresenta-se Hb de Bart na infância (4 genes gama) e sintomas mais exacerbados com Hb entre 8 e 11g/dL, microcitose e poiquilocitose (hemácias policromatófilas e em alvo). A homozigose α^0 ($--/--$), é denominada hidropsia fetal, que há morte do feto ou logo após ao nascimento (Cançado, 2006).

Em pacientes homocigotos β^0 para β -talassemia há ausência completa das cadeias betas, enquanto que os indivíduos heterocigotos β^+ apresentam apenas uma diminuição da produção das cadeias betas variando entre 5 a 90%. Esta doença pode se manifestar sob três formas: talassemia maior, intermediária e menor. A talassemia maior é a forma mais grave da doença, em que o paciente é dependente de transfusões. A talassemia intermediária é uma forma mais branda, em que os níveis de Hb ficam entre 8 e 10 g/dL. Na talassemia menor, os heterocigotos são clinicamente assintomáticos, mas apresentam alterações laboratoriais. A falta de cadeias β limita a formação completa da hemoglobina, causando microcitose e hipocromia. O excesso de cadeias α promove a precipitação dessa proteína nos eritoblastos favorecendo a hemólise celular (Zago, 2013).

4.3 PREVALÊNCIA DA ANEMIA FALCIFORME

A AF é uma doença hereditária monogênica descrita pela primeira vez em 1910 por Herrick. Essa doença é conhecida há séculos em várias regiões da África, sendo que estudos populacionais demonstram a presença do gene alterado em populações do Mediterrâneo, Caribe, América Central e Sul, Arábia e Índia. O fluxo migratório (figura 2), explica a presença da AF no Brasil, sendo essa doença hereditária mais comum (Manfredini et al., 2007; de Souza et al., 2016).

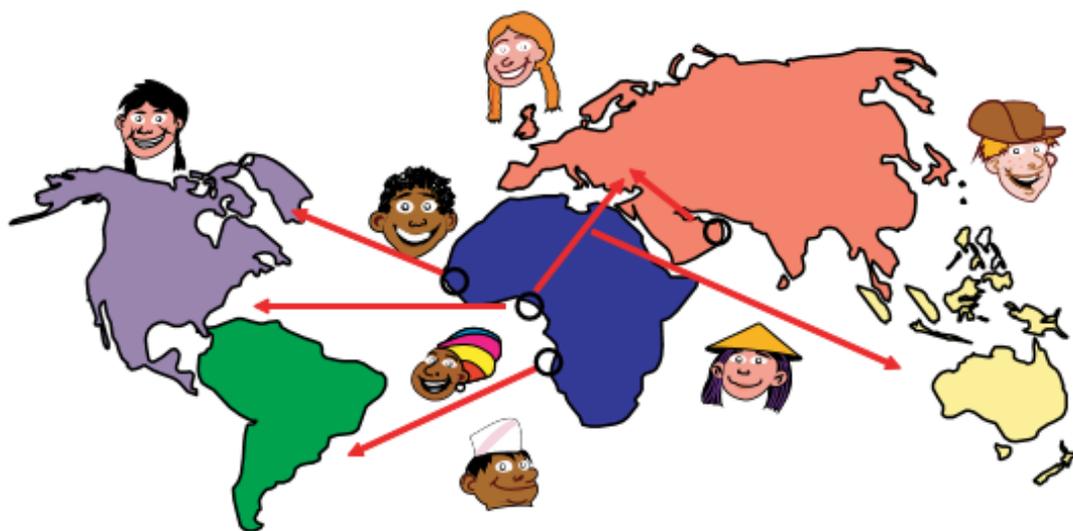


Fig. 2. Movimento migratório da HbS para o mundo. Fonte: Manual da Anemia Falciforme para a População, 2007

Acredita-se que o gene que codifica a HbS seja um exemplo de seleção natural como forma de proteção contra a malária, pois pacientes falciformes mostram maior resistência à infecção pelo *Plasmodium falciparum*. A teoria surgiu com base na presença

de portadores do traço falciforme em regiões endêmicas da África (de Souza *et al.*, 2016). Alguns relatos indicam que o gene da HbS surgiu em mais de uma região da África, Arábia Saudita e Índia (Piel *et al.*, 2013; Serjeant, 2013; de Souza *et al.*, 2016; Piel & Williams, 2016).

Fatores como a falta de recursos, deficiência de programas de screening neonatal e de tratamentos simples, afetam o número de casos de AF no mundo. Dados de 2010, mostram que nascem cerca de 300 a 400 mil bebês por ano com alguma hemoglobinopatia severa, sendo cerca de 1 portador de AF dentre 380 nascidos vivos principalmente na Nigéria, Congo e Índia e mais de 500 mil com traço falciforme com maior prevalência na África Equatorial. Estima-se que, em 2050, aumente 30% o número de afetados, especialmente na África (Serjeant, 2013; Ware *et al.*, 2017).

Estima-se que 7% da população apresente doenças relacionadas a Hb, sendo mais comum a AF. Somente no Brasil, são descritos entre 25-30 mil casos de AF, com cerca de 3.500 nascimentos/ano (Weatherall e Clegg, 2001; AAFESP, 2007; Brasil, 2007; Gomes *et al.*, 2014). Como doença hereditária mais prevalente no Brasil, a AF acomete cerca de 0,1 a 0,3% da população negra. Devido à alta taxa de miscigenação, aproximadamente 270 milhões de pessoas são portadoras do traço falciforme (cerca de 200 mil/ano) (Brasil, 2007; de Souza *et al.*, 2016).

Nos Estados Unidos, cerca de 100 mil americanos afetados pela doença falciforme são de comunidades afro-americanas e hispânica, onde 1 em cada 365 afro-americanos e 1 em 16.300 hispânico-americano nascem com AF. Segundo um estudo de coorte de 2010, nos Estados Unidos, a prevalência era de 1:365 para doentes falciformes e 1:601 para AF. No Reino Unido, segundo o Serviço Nacional de Saúde, cerca de 15 mil pessoas possuem doença falciforme, sendo essa a doença genética mais comum (Hassell, 2010; Alapan *et al.* 2015; Hassell, 2016).

Estima-se que em toda América do Norte tenha entre 2 e 3 milhões de portadores do traço falciforme; na África Equatorial, entre 10 e 40% da população possui o gene da HbS; em algumas partes da África Ocidental e Central, a prevalência do traço falciforme é maior que 25% (Alapan *et al.* 2015).

4.4 FISIOPATOLOGIA

A fisiopatologia da AF envolve uma mutação pontual no gene β da globina com a mudança do códon GAG para GTG (figura 3). Isso acarreta na troca do aminoácido Glu por Val na posição 6 da extremidade N-terminal, dando origem a molécula de Hb anormal, HbS.

Essa mudança estrutural altera as propriedades físico-químicas da molécula no estado de desoxigenação, desencadeando o processo de falcização, em que o eritrócito assume forma de foice ou lua crescente (Manfredini et al., 2007; de Souza et al., 2016).

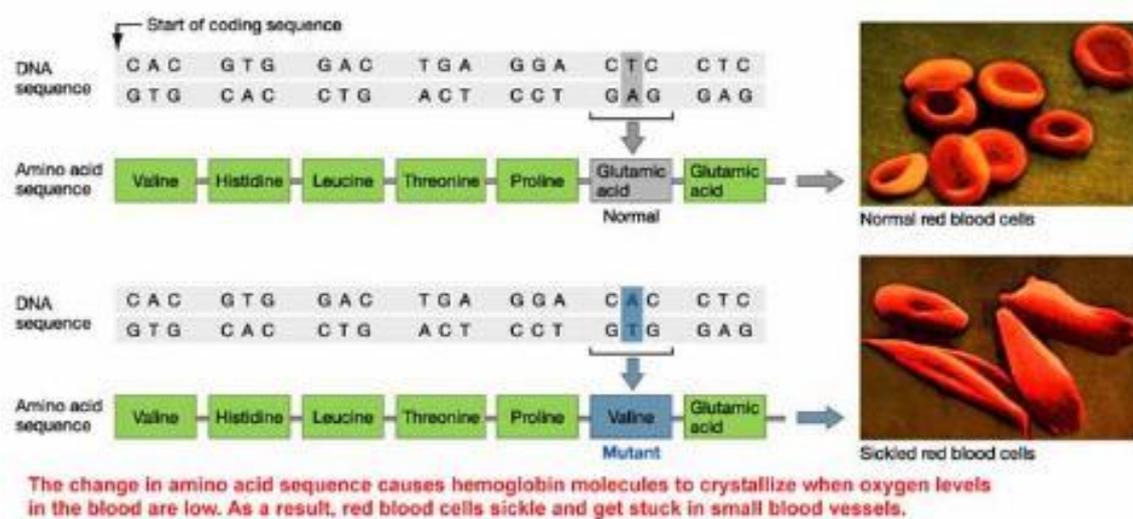


Fig. 3 – Mutação na posição 6 que resulta na falcização na produção da HbS
 Fonte: <http://www.ebah.com.br/content/ABAAABvSQAk/tese-ufrgs-inicio?part=2> Acesso em 04/2017

A principal característica da HbS é o fato que quando desoxigenadas, se organizam em longos polímeros de filamentos duplos e se associam em feixes com duplo filamento central rodeado de seis filamentos duplos de polímeros que determinam a deformidade da hemácia. Além da organização dos filamentos, a HbS deve estar em alta concentração e em estado de desoxigenação, pois facilita sua associação. A circulação sofre um retardo que ocorre de forma heterogênea e predomina em alguns órgãos como o baço, que facilita a falcização devido as condições de circulação (Zago & Pinto, 2007).

Além da principal característica de deformação da hemácia, há inúmeras alterações como aumento do cálcio intracelular e de membrana, efluxo de potássio e água causando desidratação celular, aumento da densidade dos eritrócitos, redução da capacidade de deformação, formação de polímeros da Hb com proteínas de membrana (em especial, a banda 3) e exposição de moléculas da membrana celular como fosfatidil-serina (PS) e CD36. A membrana celular é o principal constituinte celular afetado, o que reflete as alterações moleculares e explica um pouco das manifestações clínicas como: aumento da adesão de hemácias ao endotélio, que influencia granulócitos e plaquetas; enrijecimento da membrana que diminui a sobrevivência celular; lesão microvascular; e depleção de óxido nítrico (NO), que contribui para vasoconstrição e ativação da inflamação (Alapan et al., 2015).

Considerada uma doença inflamatória crônica, as manifestações clínicas da doença estão inter-relacionadas por três mecanismos: adesão de eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas ao endotélio; fenômenos inflamatórios crônicos exacerbados por episódios agudos e produção de intermediários inflamatórios como citocinas, diminuição do NO e aumento das espécies reativas de oxigênio (ROS) (Gladwin & Ofori-Acquah, 2014).

O mecanismo primário relacionado as alterações nas hemácias é responsável pela inflamação, obstrução e hipóxia local presentes na doença. A obstrução fere o endotélio levando a manifestações que afetam a maioria dos órgãos vitais e altera a coagulação por aumentar a expressão do fator tecidual (TF). A exposição de PS influencia a geração de trombina que ativa a coagulação causando hipercoagulação e complicações trombóticas (Zhang et al., 2016; Zago & Pinto, 2007).

As células falciformes expressam em maior quantidade moléculas de adesão como PS, Cluster of Differentiation (CD) 36, BCAM/LU (*Basal Cell Adhesion Molecule*) e CD47, CD49d (somente nos reticulócitos) na superfície externa - proteínas que favorecem a interação com o endotélio e, conseqüentemente, o processo de vaso-oclusão, em que há recrutamento de células inflamatórias, como granulócitos, na fase aguda, e monócitos, na fase crônica. O CD36, receptor glicoproteico na matriz extracelular, intermedia a ligação da célula com o endotélio. A ativação tardia é mediada pela integrina VLA-4, que promove ligação direta por meio do VCAM-1 (*Vascular-Cell Adhesion Molecule 1*). O CD47, também uma glicoproteína, que está associada ao complexo Rh e serve como receptor da trombospondina que facilita a quimiotaxia dos leucócitos. O BCAM/LU é uma proteína do gene sanguíneo Lutheran e promove as interações célula-célula e célula-matriz (Wallace et al., 2009; Mawani & Frenette, 2013; Zhang et al., 2016).

Os leucócitos têm importante papel nos fenômenos inflamatórios de pacientes com AF. Nesses pacientes, os neutrófilos apresentam baixa expressão de L-selectina e maior expressão de CD64, favorecendo as propriedades adesivas e de recrutamento de neutrófilos, que secretam peróxido de hidrogênio lesionando o endotélio vascular. Apesar de NO e cGMP (*Cyclic Guanosine Monophosphate*) possuírem propriedades vasodilatadoras e antitrombogênicas, estas estão diminuídas na AF, resultando na ativação de células endoteliais e *up-regulation* das moléculas de adesão. As moléculas de adesão no plasma servem como marcadores da função endotelial e inflamação (Zago & Pinto, 2007; Vilas-Boas et al. 2016).

Pacientes falciformes apresentam maiores níveis de citocinas pró-inflamatórias como TNF- α (Tumor Necrosis Factor α), interleucinas 1B, 3 e 6, endotelinas e prostaglandina E2.

Estas citocinas, ativam NF- κ B, levando ao aumento de expressão de VCAM-1 e ICAM-1 (*Intercelular Adhesion Molecule1*), P-selectina e E-selectina que promovem a adesão dos leucócitos, acarretando em vaso-oclusão. Estudos recentes demonstram que a hemólise está envolvida na ativação do TNF- α e IL-1B (Zhang et al., 2016).

4.5 TRAÇO FALCIFORME E DOENÇA FALCIFORME

Os pacientes com AF podem ser homozigotos (HbSS) ou heterozigotos (AS). Em alguns casos, podem estar associados com HbC, HbD, HbE e talassemia, o que altera o curso da doença, podendo se manifestar mais brandamente ou não.

Quando heterozigoto, o paciente portador não apresenta alterações hematológicas e os processos de vaso-oclusão são inexistentes, não havendo morbi-mortalidade. A taxa de hemoglobina A é mais elevada que a hemoglobina S, e a falcização *in vivo* só ocorre em casos de anestesia geral, infecções, vôos em avião não-pressurizado e excesso de esforço físico. Portanto, o portador do traço falciforme consegue viver normalmente sem a necessidade de tratamento, e geralmente só descobre que é portador em estudos populacionais ou de análise familiar. Uma vez descoberto o gene da AF, o portador deve estar ciente da possibilidade de ter uma criança homozigota, caso estabeleça relação com outra pessoa com traço falciforme (BRASIL, 2007; Manfredini et. al 2007).

Os pacientes homozigotos são sintomáticos devido ao predomínio da HbS. A substituição do ácido glutâmico por valina leva a alterações estruturais na molécula de hemoglobina. A alteração de pH favorece a polimerização da hemoglobina em condições de baixa oxigenação e a interação das moléculas de desoxiemoglobina, alterando a morfologia do eritrócito o tornando semelhante a uma foice (Neto & Pitombeira, 2002).

Segundo Tomé-Alves (2000), a presença de α -talassemia com AF promove uma melhora do quadro clínico do paciente devido aos níveis variados de hemoglobina fetal, que levam a diminuição da anemia hemolítica, inibição da polimerização intracelular e da intensidade da hemólise. Contudo, segundo a avaliação de Naoum (2000), os eventos vaso-oclusivos não diminuem, ocorre maior ocorrência de episódios de dores e doenças ósseas, (chances de necrose asséptica do fêmur), mas diminuem as úlceras em membros inferiores e doenças vasculares da retina.

Quando os pais apresentam traço para AF e talassemia, o indivíduo pode apresentar S-talassemia. Mesmo que sintomática essa condição se apresenta de forma moderada, com crises de dor óssea e, muitas das vezes, levando os pacientes a transfusões recorrentes.

Devido ao caráter hemolítico da doença há presença de icterícia nos pacientes (mucosas amareladas) (Hemorio, 2014).

Os pacientes com AF e β -talassemia apresentam fenótipo altamente variado, o que influencia nos padrões clínicos apresentados. A degradação da síntese das cadeias beta nesses pacientes depende do tipo de mutação que o paciente com β -talassemia possui (Belisário *et al.*, 2015). No caso da $S\beta^0$ -talassemia, na qual a quantidade de HbF é baixa, o quadro é mais grave, pois a HbS está livre para a formação dos polímeros responsáveis pelos sintomas característicos de dor da AF. No caso da $S\beta^+$ -talassemia, há maior produção de HbA, ainda que esta seja menor que a HbS, sendo capaz de inibir em parte os polímeros, tornando a anemia um pouco mais branda (Zago & Pinto, 2007).

4.6 SINAIS E SINTOMAS

O processo de falcização das hemácias influencia no fluxo sanguíneo, aumentando a viscosidade sanguínea, por aumentar a capacidade de adesão celular ao endotélio. As crises dos pacientes com AF podem se intensificar com a diminuição da temperatura, gerando hipóxia tecidual e conseqüentemente aumentando o número de moléculas de hemoglobina S no estado de desoxigenação. Esse processo pode causar lesão tecidual, infarto com necrose e formação de fibrose principalmente no baço e medula. O estado de hipóxia também pode causar lesões tissulares com crises dolorosas em órgãos com sinus venoso, onde a circulação do sangue é lenta e a tensão de oxigênio e pH são baixos, como rins, fígado, medula, olhos e cabeça do fêmur (de Souza *et al.*, 2016; Manfredini *et al.*, 2007). Os principais sintomas apresentados por pacientes com AF são apresentados a seguir:

- **Crises algicas** – correspondem a um dos principais sinais da doença. Ocorrem inesperadamente ou geralmente após uma crise infecciosa, resfriamento súbito e estresse físico e/ou emocional afetando diretamente a qualidade de vida do paciente. As crises podem ser agudas, subagudas ou crônicas, e podem ser acompanhadas de febre com edema e calor na área, afetando geralmente o úmero, tíbia e fêmur. Contudo, o infarto ósseo pode ocorrer em qualquer local, sendo muitas das vezes confundido com artrite ou osteomielite, pois os exames radiológicos geralmente são inconclusivos. Geralmente, as crises podem durar de 4 a 6 dias e, em alguns casos, semanas devendo-se considerar como fatores de risco: febre $>38^{\circ}\text{C}$, desidratação, palidez, vômitos recorrentes, dor abdominal e priapismo. Cerca de 37% das mulheres apresentam crises no período menstrual, podendo ser atenuado com o uso de contraceptivos (Brasil, 2006; Lobo *et al.*, 2007).

- **Síndrome torácica aguda (STA)** consiste em um sintoma pulmonar caracterizado por infiltrado pulmonar com dor torácica aguda intensa, com febre, sibilância, tosse, dispnéia e hipoxemia (Brasil, 2006).

As manifestações variam de acordo com a idade; em crianças são mais propícias a apresentar tosse e febre, já os adultos, dificuldade na respiração e dor no tórax. As radiografias mostram que em crianças não há preferência quanto ao lobo dos pulmões, enquanto nos adultos ambos são afetados. A STA é a segunda maior causa de hospitalização e a maior causa de internação nas unidades de terapia intensiva e mortalidade precoce nos pacientes com doença falciforme. Praticamente 9% dos casos em adultos resulta em morte, em crianças, menos de 1%. No entanto, há necessidade de um exame clínico mais detalhado, uma vez que 40% dos casos se mostram sem alteração (DeBaun & Strunk, 2016).

A fisiopatologia da STA é extremamente complexa, devido aos mecanismos que envolvem o desenvolvimento como infecção, embolia gordurosa decorrente a necrose óssea, trombose pulmonar e as crises vaso-oclusivas. A STA pode ser desencadeada por infecções, embolia da medula óssea ou após crises de vaso-oclusão em membros ou tórax. Os pacientes devem ser investigados quanto a BAAR (Bacilo Álcool Ácido Resistente), *Mycoplasma pneumonia*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* e pneumococo para descobrir a etiologia. Exames complementares como gasometria arterial e mapeamento cardíaco auxiliam para definir o melhor tratamento, entretanto, o tratamento empírico é baseado em cefalosporinas de 3ª e 4ª geração ou beta lactâmico associado a macrolídeo (Brasil, 2006; Brunetta et al., 2010).

Os pacientes com STA devem evitar a hiper-hidratação devido ao aumento da permeabilidade vascular, como forma de prevenção contra a congestão pulmonar. O balanço hídrico e a avaliação diária do peso são utilizados como parâmetros de controle na ingestão de líquidos (Brunetta et al., 2010).

- **Infecções** - As crianças com AF apresentam 600 vezes mais chances de contrair infecções, comparadas as crianças saudáveis. Os quadros infecciosos representam a principal causa de morte dos pacientes com AF. Devido os processos vaso-oclusivos no baço, esse órgão tem sua função diminuída, reduzindo drasticamente a capacidade imunológica devido a dificuldade de opsonização. Na primeira infância o baço geralmente fica sobrecarregado pelo sequestro esplênico de eritrócitos falcizados evoluindo para trombose, infarto, atrofia e fibrose- fenômeno denominado de auto-esplenectomia. As principais infecções são por *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae*. Então, os episódios de febre devem ser vistos como situação de risco e tratados imediatamente. Nestes casos, é de extrema importância a

imunização a fim de evitar a asplenia funcional e profilaxia, devido as transfusões necessárias, uma vez que as infecções são acompanhadas de acidose, hipóxia e desidratação que favorecem a produção de citocinas inflamatórias e intensificam as crises de falcização (Di Nuzzo & Fonseca, 2004; Brasil, 2006).

- **Crises aplásticas** - apesar de pouco frequentes, essas crises podem ocorrer após processos infecciosos e duram entre 7 – 10 dias. As crises estão relacionadas com a infecção pelo *Parvovirus B19* e raramente recorrem (Brasil, 2006).

O *Parvovirus B19* é um vírus de DNA que tem afinidade pela linhagem vermelha por se ligar ao globosídeo (Gb4 ou antígeno P) na superfície dos precursores eritróides causando um bloqueio da maturação. Devido a hiperplasia medular, há um reservatório viral na medula resultando na formação insuficiente de anticorpos, levando a infecções recorrentes e assim, a interrupção da eritropoese. Os sintomas são parecidos com de uma anemia aguda, sem aumento esplênico e se diferencia do sequestro esplênico pela presença de reticulocitopenia na crise aplástica e reticulocitose no sequestro (Borsato et al., 2000).

- **Sequestro esplênico** – representa a complicação mais comum dos 5 meses de vida até os 2 anos. Nestes casos, o baço aumenta de volume em pouco tempo e ocorre uma queda súbita do nível de hemoglobina (< 5 g/dL), o que pode levar a choque hipovolêmico e morte. Em alguns casos, é necessário realizar transfusões de concentrado de hemácias de acordo com o estado hemodinâmico (Borsato et. al 2000; Brasil, 2006).

- **Dactilite** – essa complicação, também conhecida como síndrome mão-pé, é uma das primeiras manifestações de dor em crianças, ocorrendo geralmente depois do primeiro ano de vida. Essa manifestação consiste em dor e desconforto nas mãos e nos pés podendo ter ou não edema (Miller et al., 2000; Franco et al., 2007). Por causa da função anormal do baço, as dores tendem a ser intensas devido a hipóxia tecidual, o que provoca lesão do tecido e estimula a percepção nociceptiva, enquanto os componentes neuropáticos desencadeiam sensação de queimação e dormência. A falta de diagnóstico pode gerar grande desconforto para família, podendo levar a um quadro clínico mais severo como necrose da medula óssea (Serjeant, 2013; Gesteira et. al 2016).

- **Acidente Vascular Cerebral (AVC)** – representa uma das complicações mais devastadoras da AF, afetando cerca de 25% dos pacientes até 45 anos, estando mais comumente presentes em crianças de 2-5 anos (Hay & Atoyebi, 2016).

A fisiopatologia do AVC na AF não foi elucidada completamente, mas acredita-se que tenha relação com a hipertrofia das artérias cerebrais e o estreitamento do lúmen

acompanhado de aumento do fluxo sanguíneo cerebral e a alta demanda de oxigênio para o desenvolvimento do cérebro. Outros fatores consideráveis são as situações de estresse, anemia aguda severa e STA, nas quais o cérebro não tem reserva suficiente para se adaptar ao processo de isquemia aguda (Novelli & Gladwin, 2015).

Como forma de prevenção, utiliza-se o *doppler* transcraniano que, a partir do fluxo das principais artérias cerebrais do polígono de Willis, é capaz de detectar precocemente o primeiro AVC. Em caso de fluxo aumentado (>200cm) é indicado o procedimento de hipertransfusão, como forma profilática, juntamente com o tratamento para queilação do ferro. O exame é indicado a partir dos 2 anos até os 17 anos (Brasil, 2012).

- **Úlcera de perna** – a causa primária das ulcerações é o desvio arteriovenoso, o que priva a pele de oxigenação e promove as úlceras. Traumas, infecções e a inflamação são fatores que contribuem para interrupção da microcirculação. As úlceras geralmente ocorrem em áreas com menor gordura subcutânea e baixo nível de sangue como os tornozelos. As lesões podem ser agudas – (durando cerca de 1 mês) ou crônicas – (quando persistem por mais de 6 meses). As úlceras são dolorosas e tendem a ser intratáveis com o passar dos anos. Estudos demonstram que são mais comuns em homens e a incidência aumenta com a idade. As úlceras estão associadas com priapismo e hipertensão pulmonar e podem ser usadas como marcadores de vasculopatia avançada (Minniti et. al 2010).

- **Priapismo** – representam um conjunto de ereções dolorosas e prolongadas do pênis sem relação com estímulo sexual ou desejo, durando mais de 4 horas. Essa complicação pode ocorrer em todas as idades, tendo prevalência de 3,6 para menores de 18 anos, aumentando drasticamente a prevalência para 42% após os 18 anos. Nos casos de complicação da anemia falciforme, os eventos ocorrem devido a vasoconstrição, levando a falcização das hemácias, hipoxemia e acidose no corpo cavernoso, o que causa a obstrução em um ciclo vicioso. Esse sinal clínico pode ser classificado como não isquêmico – resultante de um aumento do fluxo arterial, causado por um trauma no tecido, portanto sem risco; e isquêmico – que ocorre em 95% das vezes e é marcado pela rigidez do corpo cavernoso, com pouco influxo arterial, sendo considerado uma emergência médica, pois quanto maior o período da ereção (>6h) maiores são os danos no tecido seguido de fibrose, proliferação e necrose . Após 12 horas, há edema intersticial e destruição progressiva do endotélio sinusoidal e aderência de trombócitos. Em 48 horas, pode-se encontrar trombos nos espaços sinusoidais, necrose do músculo liso e invasão de fibroblastos. Nesses casos, torna-se necessário aspirar o sangue do corpo cavernoso e administrar injeção com α -agonista

para que seja possível recuperar a flacidez do pênis. As intervenções médicas entre 48-72 horas são benéficas e potencialmente preservativas (de Jesus & Dekermacher 2008; Broderick, 2011; AIDallal et al., 2016).

4.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico precoce da AF é de extrema importância, pois torna possível a utilização de mecanismos paliativos que possam melhorar a qualidade de vida do paciente (Brasil, 2002).

Desde de 1960, a OMS preconiza a necessidade de programas de Triagem Neonatal para garantir a saúde dos recém-nascidos. Cerca de 10% da população brasileira é portadora de alguma deficiência. Com isso, em 1992 criou-se com a Portaria GM/MS nº 22 a obrigatoriedade do teste do pezinho (figura 4) como método de triagem neonatal para avaliação de fenilcetonúria e hipotireodismo congênito. Em 2001, foi reavaliado os testes de triagem e criou-se o Programa de Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), acrescentando o diagnóstico de AF e outras hemoglobinopatias, e fibrose cística. O programa se dá em várias etapas: realização do exame, busca ativa dos casos suspeitos, confirmação do diagnóstico, tratamento e acompanhamento como forma de prevenção e redução da morbimortalidade (Brasil, 2002).



Fig. 4 – Coleta do Teste do Pezinho em papel filtro. Fonte: http://www.hermespardini.com.br/kits/index.php?cod_kit=161 Acesso em 04/2017

Os recém-nascidos com doença falciforme são assintomáticos, pois ainda tem circulante cerca de 80% da HbF. Portanto, os testes de falcização e solubilidade não apresentam resultados positivos (Ferraz, 2007).

Segundo o PNTN, recomenda-se que o exame seja realizado preferencialmente no 5º dia de vida pela metodologia de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE/HPLC) ou Eletroforese por Focalização Isoelétrica (IEF) por serem métodos de maior especificidade e sensibilidade. Caso não seja feito nessa época, a partir dos 4 meses de idade é realizado por metodologia mais simples: eletroforese de hemoglobina. Após a confirmação diagnóstica, o paciente é encaminhado ao centro de referência de atenção de média complexidade para maiores informações. Após as primeiras medidas profiláticas, deve ser oferecido o diagnóstico aos familiares (pai, mãe e irmãos) (Brasil, 2009).

Antigamente, era utilizado dois testes associados: Eletroforese em Acetato de Celulose em pH alcalino e Eletroforese em Ágar Citrato em pH ácido (figura 5), pois a primeira diferencia as hemoglobinas A da F e a S da C, mas não é capaz de diferenciar A₂ da C, O e E e a S da D ou G, sendo confirmada em ágar citrato. Os testes eram trabalhosos devido a larga escala e apresentam menor sensibilidade e especificidade em relação a outros métodos. Sendo assim, atualmente é utilizado IEF ou CLAE podendo utilizar o sangue do cordão umbilical ou amostra de sangue seco em papel filtro (Ferraz, 2007).

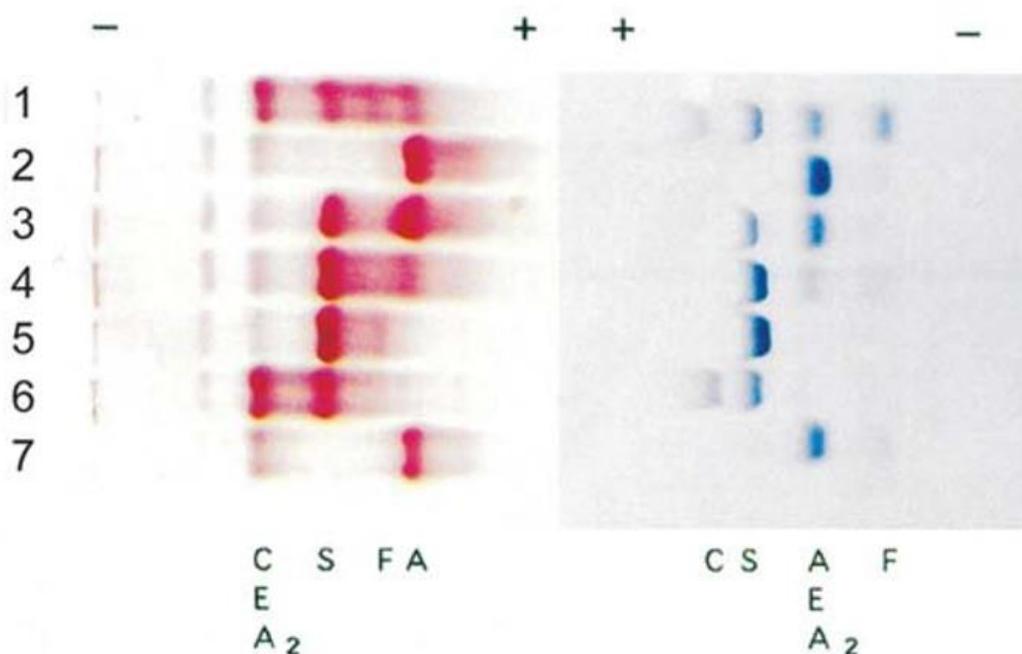


Fig. 5 - Eletroforese em pH alcalino em acetato de celulose (vermelho) e pH ácido em ágar citrato (azul). Fonte: Ferraz et al., 2007.

A IEF tem análise satisfatória para todas as amostras de sangue, seja ela hemolisada ou sangue seco, e apresenta boa separação entre HbF e HbA e variantes significantes como S, C, D-Punjab e E. A IEF explora o fato que a carga líquida da proteína varia de acordo com o meio, utiliza alta voltagem e é de fácil reprodutibilidade. Esse método pode ser semi-automatizado, permitindo o *screening* de um grande número de amostras. A técnica se baseia no fracionamento de proteínas de acordo com seu ponto isoelétrico (pI) em gradiente de pH variável (5 e 14) carregado isoeletricamente, permitindo identificar até 80 tipos de hemoglobinas diferentes e exibe maior resolução quando comparado a eletroforese (figura 6). O fato do pH ser variável permite a migração constante da hemoglobina até o ponto de equilíbrio quando o pI se iguala ao pH. Outra vantagem, em relação a outras eletroforeses, é o fato que apresentam resoluções mais confiáveis uma vez que o pI difere entre 0,02 a 0,001 e oferece menor custo (Bertholo & Moreira, 2006; Ryan et al., 2010; Alapan et al., 2016; Naoum et al., 2017).

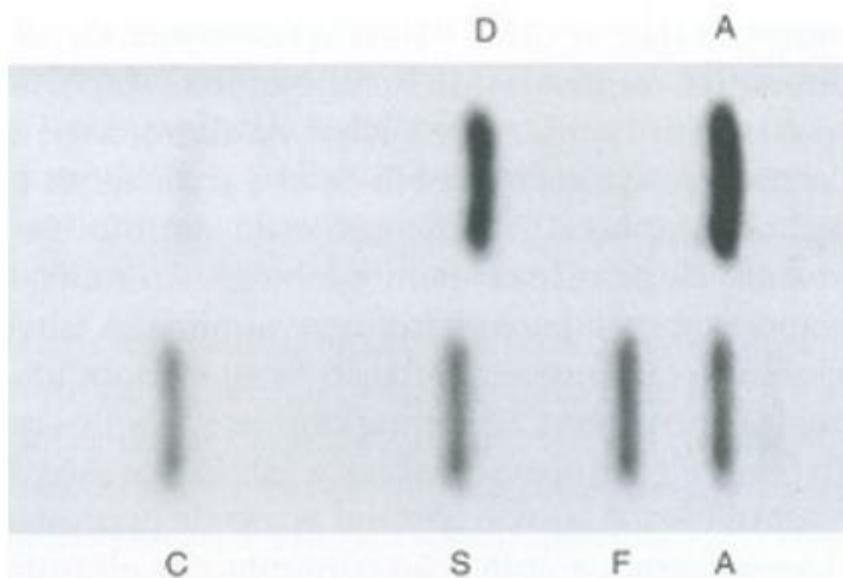


Fig. 5 - Pool de Hemoglobinas. A IEF apresenta melhor nitidez quando comparada com a eletroforese ácida e alcalina. Fonte: <http://hemoglobinopatias.com.br/diagnostico-laboratorial-das-doencas-das-celulas-falciformes/> Acesso: 04/2017

A CLAE pode ser utilizada tanto para identificação, quanto quantificação da hemoglobina. Na CLAE ocorre um processo de troca catiônica, separando os componentes

baseado no tamanho e na carga. As moléculas carregadas positivamente são adsorvidas na fase estacionária da coluna recoberta de sílica ou outro polímero. A fase móvel induz a eluição através de uma bomba de alta pressão com alta concentração de cátions. A quantificação é feita automaticamente por um *software* específico permitindo quantificar todas as variáveis. Esse método é indicado para o diagnóstico inicial e, por ser automatizado, é frequentemente em laboratórios com alta demanda (Alapan et al., 2016; Nauom et al., 2017).

Em comparação com a eletroforese, a CLAE apresenta algumas vantagens como menor tempo do funcionário para as análises e permite um grande número de amostras, além de necessitar de pouco volume de amostra (5 µL) para a análise. A quantificação das hemoglobinas normais e as variantes estão disponíveis para todas as amostras, sendo que uma identificação provisória das variantes pode ser feita (Ryan et al., 2010).

Devido a heterogeneidade dos pacientes, o monitoramento da AF é um desafio para a equipe de saúde. O *Point of Care* (POC) é uma tecnologia para o rastreamento de doenças e monitoramento dos pacientes e vem crescendo, devido aos investimentos utilizados, por seu custo-benefício, agilidade e fácil operação. Entretanto, as técnicas convencionais e não convencionais de rastreamento disponíveis são viáveis para o POC. Atualmente, estão em desenvolvimento quatro métodos de POC como os descritos a seguir segundo (Alapan et. al 2015)

O primeiro método é o ensaio baseado na solubilidade da hemoglobina em papel, uma técnica que explora a insolubilidade da HbS e propriedades de filtração no papel substrato usado em dispositivos analíticos com microfluído. A diferença de velocidade na corrida da HbS polimerizada e outras hemoglobinas resulta em manchas correspondentes. O resultado fica pronto em 20 minutos e tem um custo de \$0,77 dólares por teste e utiliza a cor natural do sangue para detecção, evitando a utilização de processos de complexação para o resultado. As desvantagens ficam por conta da interferência de possíveis amostras hemolisadas e alterações no resultado devido ser visualizado a olho nu pelo técnico.

O segundo método se refere aos imunoenaios de fluxo lateral. A técnica se baseia em uma tira com anticorpos policlonal conjugados com nanopartículas imobilizadas em 4 linhas diferentes. Cada linha corresponde a um dos três tipos de hemoglobina (HbA, HbS, HbC e controle). A solução percorre o teste e ocorre uma reação complexada antígeno-anticorpo. O limite de detecção (LOD) para HbA, HbS e HbC é de 40%, 1% e 2% respectivamente com sensibilidade de 99%.

O terceiro método é separação baseada na densidade que detecta hemácias falcizadas de acordo com a densidade usando sistema aquoso multi-fase (AMPS). Tem sensibilidade de 91% e especificidade de 88% com LOD de 2,8% por célula e tem um custo de \$0,5 dólares por teste, entretanto a centrifugação acrescenta um custo adicional para aplicação do teste.

O quarto método é a microeletroforese (Hemechip) que identifica e quantifica tipos de hemoglobina incluindo HbC, A2, S, F, A e outras. A corrente elétrica causa a separação da hemoglobina em bandas distintas e as diferencia de acordo com a mobilidade de cada uma. O resultado sai em 10 minutos com sensibilidade de 90% e apresenta um baixo custo \$0,9 dólares por chip.

4.8 TRATAMENTO

O tratamento dos pacientes com AF depende dos sintomas que apresentam no decorrer da vida. Cada sintoma está relacionado com uma medida terapêutica. Deve se levar em consideração os fatores de risco como: febre, dor abdominal, sinais e sintomas respiratórios, letargia, cefaleia severa, dor e extrema fraqueza, perda de função local, edema agudo, dor em região lombar. Estes podem ser sinal de complicações da doença falciforme, necessitando acompanhamento médico (Brasil, 2012).

As crises dolorosas decorrentes da vaso-oclusão são as mais comuns. Conforme pode ser visto a seguir, segundo a OMS, o esquema de tratamento segue por degraus, quando o degrau em uso não esteja sendo mais efetivo é alterado para o próximo degrau. O 1º degrau são analgésicos não opioíde (dipirona, acetaminofen, AAS, paracetamol), anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs: AAS, diclofenaco, indometacina, ibuprofeno) e adjuvantes (anticonvulsivantes, antidepressivos, neurolépticos, benzodiazepínicos e anticolinérgicos). O 2º degrau é composto de opioídes fracos (codeína, tramadol), AINEs, adjuvantes. O 3º degrau - Opioíde potente (morfina, fentanila, metadona, oxicodona), AINEs, adjuvantes.

Segundo o Manual de Condutas Básicas para o Tratamento da Anemia Falciforme (2012), o tratamento é baseado no nível de dor do paciente (figura 7). Em caso de dor leve, utilizar o analgésico e aumentar a ingestão hídrica, neste tempo manter repouso e evitar mudanças de temperatura muito bruscas representado na escala de dor como 1-3: Dipirona 4 em 4 horas – suspender após 24 horas sem dor. Caso a dor aumente – hidratação parenteral e avaliar a quantidade de hemoglobina, se houver queda >20% transfusão de concentrado de hemácias. Segundo a escala de dor entre 4-7: Dipirona 4 em 4 horas + Diclofenaco VO 8 em 8 horas. Após 24 horas sem dor suspender diclofenaco e manter a

dipirona. Se a dor retornar procurar emergência. No caso de dor entre 8-10: Dipirona 4 em 4 horas + Codeína 4 em 4 horas intercalado + Diclofenaco de 8 em 8 horas. Após 24h sem dor retirar dipirona, após mais 24 horas retirar a codeína e manter diclofenaco por mais 24 horas. Se a dor retornar, retomar o diclofenaco e procurar emergência.

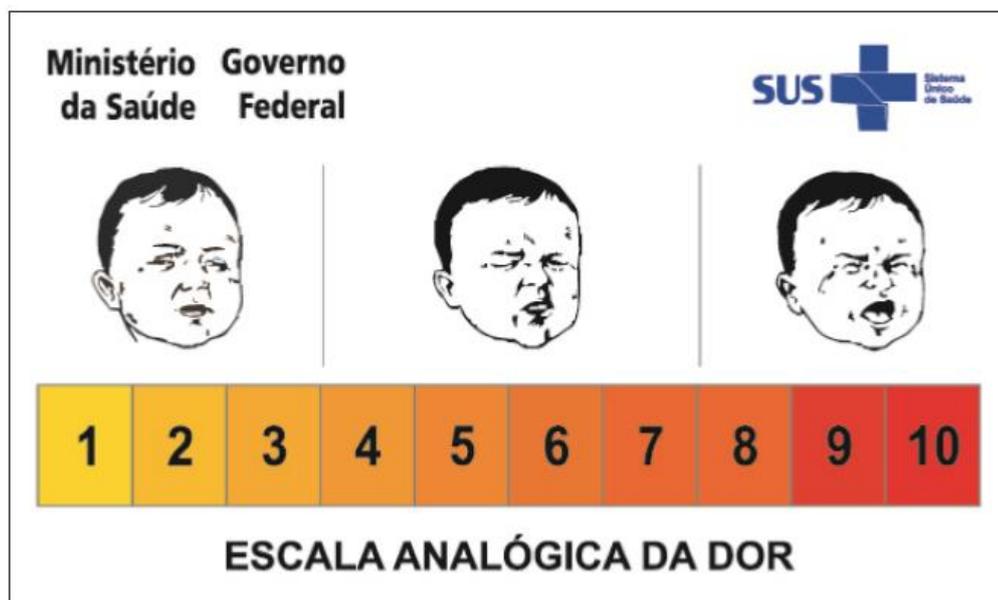


Fig. 7 – Escala Analógica da Dor. Fonte: Conduas Básicas para o Tratamento da Anemia Falciforme (2012)

Tabela 3 – Protocolo de Emergência para pacientes com AF

Dor de 1 a 6		Dor de 6 a 9	
Fez o tratamento domiciliar correto?		Fez o tratamento domiciliar correto?	
Não	Sim	Não	Sim
Dipirona para EV e Diclofenaco para IM	Diclofenaco para IM, dipirona para EV e associar codeína VO (1mg/kg/dose)	Trocar codeína por morfina EV (0,1mg/kg/dose); Repetir se não melhorar em 30min e manter morfina de 4/4h	
Se melhorar após 6h, alta com: dipirona + diclofenaco.	Se melhorar após 6h, alta com: dipirona + diclofenaco + codeína.	Se melhorar após 6h, alta com: dipirona + diclofenaco + codeína	
Se não melhorar após 1h, associar codeína VO e internar	Se piorar após 6h, trocar codeína por morfina e internar.	Se piorar após 6h, internar e avaliar morfina em infusão contínua.	

Fonte: Conduas Básicas para o Tratamento da Anemia Falciforme (2012)

O protocolo de emergência segue como tabela 3. Gestantes devem ter acompanhamento constante devido a reação dos medicamentos ao feto como o AAS que pode causar aborto (dando preferência ao paracetamol). Na classe dos opióides, a mais utilizada é a metadona, contudo o feto necessita de tratamento devido o desenvolvimento da crise de abstinência (de Souza et. al 2016).

4.8.1 TRANSFUSÃO SANGUÍNEA

A transfusão de hemácias é um dos tratamentos recomendados para o manejo da AF. É uma alternativa bastante utilizada devido os benefícios imediatos como o aumento da capacidade de transporte de oxigênio e favorecer o fluxo sanguíneo. A longo prazo, a troca de células falciformes por eritrócitos com capacidade de se deformar. A exacerbação dos sintomas crônicos causa hipóxia e hipoperfusão, contudo, a transfusão se mostra como medida profilática contra algumas complicações como STA e AVC (Ware et al., 2017).

Apesar dos benefícios, transfusões recorrentes – geralmente após 10 a 20 unidades de concentrado de hemácias – elevam os níveis de ferro no fígado e aumentam os riscos de doença cardíaca e morte precoce sendo necessário o tratamento conjunto de quelação de ferro (Deferasirox ® – aprovado para o tratamento no Brasil desde 2006) (Cançado & Jesus, 2007).

4.8.2 HIDROXIURÉIA (HU)

Em 1948, Janet Wilson percebeu que os recém-nascidos não manifestavam as complicações da AF até os 6 meses de idade. A crença era de que as hemácias apresentavam algum tipo de proteção em relação a crianças mais velhas e adultos e a hipótese era que a proteção se tratava da alta concentração de HbF circulante. Após alguns anos, a hipótese de Janet se confirmou após pacientes assintomáticos terem adquirido hereditariamente o fenótipo de persistência da hemoglobina fetal (HPFH) (Lettre & Bauer, 2016).

Algumas drogas são capazes de aumentar os níveis da HbF, como progesterona, azacitidina, eritropoietina, fenilbutirato e a HU. Sintetizada pela primeira vez em 1869 por um químico alemão, a HU é um análogo da uréia com efeito positivo para AF, diminuindo a severidade das crises e como consequência do aumento da HbF, diminui as transfusões sanguíneas (Keikhaei et al., 2016)

A HU é um agente citotóxico, mutagênico, recombinogênico e antineoplásico que atua na fase S do ciclo celular interferindo na ação da ribonucleotideo redutase que inibe a conversão de ribonucleotideos em desoxinucleotideose impede a divisão celular. Desde

1995, estudos demonstraram que este medicamento aumenta a síntese de hemoglobina fetal (HbF), promove a diminuição de neutrófilos e moléculas de adesão nos eritrócitos, além de reduzir os fenômenos inflamatórios e de vaso oclusão, sendo utilizada desde então para o tratamento da anemia falciforme (Silva & Shimauti, 2006).

Em 1984, foi relatada a indução da HbF por HU em 2 adultos com AF (SS e $S\beta^0$ - talassemia). No começo dos anos 90, a HU foi utilizada em um estudo randomizado com 299 pacientes (placebo x HU) pelo Multicentro de Estudos da Hidroxiuréia em Anemia Falciforme (MSH) e devido aos resultados positivos, o estudo terminou antes do esperado, estabelecendo, assim, a efetividade e a segurança do uso em adultos. Além da diminuição das complicações da AF, o uso de HU aumentou a HbF, melhorou a hidratação das hemácias e aumentou o VCM (Sheth et al., 2013; Wong et al., 2014).

Os principais efeitos adversos relacionados ao uso de HU, como leucopenia, neutropenia, trombocitopenia geralmente são reversíveis se for interrompido o uso do medicamento ou com alterações na sua dosagem. A HU mostrou um excelente perfil toxicológico com pequena probabilidade de surgir eventos malignos (5 casos em 951 pacientes, segundo a MSH). Dados da MSH revelam que nos últimos 17 anos foi relatado 16 casos de gravidez em que os pacientes estavam sob o uso de HU. Desses casos, 8 nasceram, 5 fizeram aborto eletivo e 3 tiveram aborto espontâneo. Nos 8 que nasceram não foram descritos nenhum tipo de deformação. Sendo assim, após várias pesquisas, a HU se mostrou segura quando usada na infância, e preveniu ou retardou as manifestações mais comuns da AF como auto-infarto do baço, problemas renais e retinopatia (Wong et al., 2014; Sheth et al., 2013).

A utilização da HU aumenta a hemoglobina total, volume corpuscular médio e em até 60% a hemoglobina fetal, além de diminuir a expressão das moléculas de adesão (PS) e proteínas receptoras nas células endoteliais e de diminuir a hemólise. Ainda, a HU se mostra como ótima medida terapêutica visto que a terapia transfusional a longo tempo pode causar sobrecarga de ferro, aloimunização e transmissão de infecções virais e a HU pode reduzir em 80% a frequência de transfusão sanguínea prevenindo a lesão em órgãos (Silva & Shimauti, 2006).

Estudos sobre a HU demonstraram que esse medicamento reduz os marcadores de ativação da coagulação, assim como o fator tecidual, atenuando a inflamação associado ao dano vascular. Como consequência do tratamento, a queda no número de neutrófilos pela supressão de sua ativação tem benefícios, pois diminui a frequência das crises dolorosas

assim como a indução da expressão da HbF e óxido nítrico pelo medicamento (Zhang et al., 2016).

Muito se especula sobre a toxicidade da HU devido a sua principal função de antineoplásico. Contudo, os efeitos são dose dependentes e é necessário o escalonamento da dose até a dose máxima tolerada como forma de prevenção dos possíveis efeitos adversos. Os principais efeitos adversos são: mielosupressão, perturbação gastrointestinal, erupção cutânea, enxaqueca, potencial teratogênico e possível carcinogênico em adultos e mielotoxicidade (Hb < 5g/dL ou redução em 20% da Hb basal), plaquetopenia e neutropenia em crianças. Os efeitos, na maioria dos casos, são reversíveis após a suspensão da droga. Entretanto, cerca de 25% dos pacientes que utilizam a HU necessitam de agentes como butirato, ácidos orgânicos de cadeia curta (ácido valproíco) ou inibidor da DNA metiltransferase (DNMT) que induzem o aumento da HbF, assim como grandes doses de eritropoietina e ferro (Silva & Shimauti, 2006).

No Brasil, segundo a Portaria nº 55 de 29 de janeiro de 2010, que aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas no âmbito da Secretária de Atenção a Saúde, os pacientes com a doença falciforme tem acesso ao medicamento. Para os casos diagnosticados por HPLC pelo PNTN devem ter sido confirmados pela Eletroforese por focalização isoelétrica. Entretanto, devem preencher os critérios de inclusão como ter idade superior a 3 anos; condições de comparecer as consultas e realizar os exames; BHCG negativo para mulheres em idade reprodutiva; devendo-se comprometer a usar método contraceptivo com eficácia comprovada durante o tratamento com HU. Ainda sobre os critérios de inclusão, nos últimos 12 meses o paciente deve apresentar ao menos: três ou mais episódios álgicos agudos com necessidade de atendimento médico hospitalar ou comprovada incapacidade produtiva (escola/trabalho); mais de um evento de síndrome torácica aguda (STA) definida como a presença de infiltrado pulmonar recente, não atelectásico, envolvendo pelo menos um segmento pulmonar completo, acompanhado de dor torácica, temperatura superior a 38,5°C, taquipnéia, sibilos, ou tosse em paciente com doença falciforme; ou um episódio de STA que necessitou de oxigênio ou transfusão sanguínea ou um episódio de STA que necessitou de internação em unidade de tratamento intensivo; hipoxemia crônica: saturação de oxigênio persistentemente menor que 94% medida em duas visitas clínicas consecutivas, fora de um evento agudo e afastada a possibilidade de obstrução adenoidal/amigdaliana em crianças; Outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgão (priapismo, necrose óssea, retinopatia proliferativa, entre outras); concentração de Hb < 7g/dL (média de 3 valores fora de evento agudo) e HbF < 8% após 2 anos de idade; leucocitose > 20.000/mm³ (média de 3 valores medianos fora de evento agudo); desidrogenase láctica (DHL): 2 vezes

acima do valor de referência para a idade ou alterações no eco doppler transcraniano (>200cm/s com impossibilidade de regime transfusional crônico).

Devido aos possíveis efeitos teratogênicos e carcinogênicos da HU, ainda de acordo com a portaria nº 55, o uso em crianças menores de 3 anos de idade deve ser analisada, levando-se em consideração o risco de morbi-mortalidade da doença, devendo ter ocorrido pelo menos um dos aspectos a seguir como: dactilite (antes do primeiro ano de vida); concentração de Hb menor que 7g/dL (média de 3 valores fora de evento agudo) ou contagem de leucócitos maior que 20.000/mm³ (média de 3 valores fora de evento agudo).

Segundo um estudo de coorte de Keikhaei realizado entre os anos de 2013 e 2014, 48 pacientes (crianças entre 6 e 18 anos) com AF da região de Ahavaz, Irã foram submetidos a uma comparação antes e após o tratamento com HU. O método consistia na administração de 10mg/kg/dia durante um ano. Manifestações clínicas, número de visitas por especialistas em decorrência de dor e quantidade de transfusões foram registradas.

Os pacientes do estudo tiveram as primeiras manifestações da AF entre 2 e 7 anos, sendo que nenhum havia passado por esplenectomia e durante o estudo, a HU foi o único tratamento utilizado. Quanto aos resultados, a taxa de hospitalização caiu de 93% para 31,5%; o número de visitas por especialistas caiu de 100% para 6.3%; o número de crises dolorosas >1 caiu de 81,3% para 20,8%; e o número de transfusões diminuiu 100%. Após o tratamento com HU, houve aumento significativo das taxas de HbF superior a 20% em mais de 60% dos pacientes. O estudo mostrou que a terapia com HU foi bem tolerada pelos pacientes e nenhum efeito adverso marcante foi reportado durante todo o tempo do tratamento sendo assim, considerado um agente seguro para o tratamento em crianças com anemia falciforme (Keikhaei et al., 2016).

4.8.3 Transplante de Células Tronco Hematopoiéticas (TCTH)

Nas últimas três décadas, a sobrevivência de crianças aumentou consideravelmente levando em conta as ações em saúde, profilaxia com antibióticos e vacinas. A taxa de mortalidade em crianças passou de 50% para menos de 5%. Entretanto, as altas taxas de mortalidade em adultos ainda são um problema devido a disfunção dos órgãos e a dependência do sistema médico para transfusões e medicamentos como a HU (Abraham et al., 2016).

Com os avanços da medicina e de métodos alternativos o controle das doenças, o transplante de medula óssea representa um método muito discutido como para AF. O

primeiro relato foi em 1984 de um paciente com leucemia mielóide aguda, que recebeu o transplante de um doador com Antígeno Leucocitário Humano (HLA) compatível e foi curado para as duas doenças. Apesar dos achados, menos de 25% tem a chance de ter um doador compatível e menos de 20% de achar um par não relacionado no registro de doadores. Mesmo com a falta de doadores compatíveis e os riscos de morbi-mortalidade, a aceitação dos pais quanto ao procedimento cresceu 45%, e 35% em relação aos adolescentes (Walters, 2015; Telen, 2016; Abraham et al. 2016). Até o ano de 2010, cerca de 250 pessoas haviam sido submetidas ao transplante por meio de estudos clínicos com o objetivo de definir os riscos e benéficos do tratamento. Cerca de 5 a 10% dos pacientes apresentando complicação, sendo a doença enxerto vs. Hospedeiro a mais comum. Outras complicações como déficit de crescimento e esterilidade também foram relatadas. Contudo, lesões no sistema nervoso e função pulmonar se estabilizaram ou tiveram melhora (Simões et al., 2010).

Devido a variação dos fenótipos, as decisões terapêuticas são baseadas na evolução da doença, principalmente pelo fluxo sanguíneo na arterial cerebral persistentemente aumentado constantemente (fluxo >200cm/s) – risco de 40% para ocorrência de AVE e a ocorrência precoce de STA. A indicação para TCTH, segundo a Escola Europeia de Hematologia são crises vaso-oclusivas recorrentes e/ou priapismo após uso de HU por seis meses sem resposta ou contraindicação ao uso do mesmo; vasculopatia cerebral demonstrada por ressonância nuclear magnética; doença pulmonar e nefropatia falciforme (Simões et al., 2010). No Brasil, desde 2015, segundo a portaria nº 30, foi incorporado no âmbito do Sistema Único de Saúde o TCTH, não tendo exigências quanto a idade. Após o transplante, os pacientes transplantados devem ser assistidos e acompanhados necessitando de avaliação e registro no Registro Nacional de Receptores de Medula Óssea (REREME) a cada três meses até um ano após o transplante. (Brasil, 2016)

4.8.4 TERAPIA GÊNICA

A terapia gênica pode ser uma alternativa para a cura da AF. A edição do genoma virou opção para aumento da produção da hemoglobina fetal ou correção do gene alterado. (Hossain & Bungert, 2017).

Em março de 2017, foi publicado um caso clínico envolvendo a cura de um paciente de 15 anos na França após a utilização de terapia gênica com lentivírus – LentiGlobin BB305. Devido ao processo de organização mais complexo e a capacidade de infectar células quiescentes, os lentivírus são utilizados como vetores na terapia gênica. O

LentiGlobin BB305 é um vetor de auto-inativação que codifica a variante humana HBB β A-T87Q para a inibição da polimerização do HbS. A substituição T87Q permite que a cadeia beta-globina da hemoglobina A seja quantificada diferencialmente pela CLAE para mensurar os resultados. O transplante foi feito com as células troncos do paciente enriquecidas com CD34+ transduzidas com a LentiGlobin BB305 em dois lotes com cerca de 1,0 e 1,2 cópias de vetores por célula, respectivamente. Após o transplante foram feitos um enxerto de neutrófilos (38 dias) e de plaquetas (91 dias), o que levou a um aumento progressivo em todas as células sanguíneas (Ribeil et al., 2017; Tenório et al., 2008).

Após 88 dias as transfusões foram descontinuadas e a HbA787Q teve seus níveis aumentados enquanto a HbS diminuiu tendo um nível de hemoglobina estável entre 10.6 e 12 g/dL. Os efeitos adversos estão relacionados a mieloablação pelo bissulfano como neutropenia, anemia, trombocitopenia e infecção por *Staphylococcus epidermidis* mas foram resolvidos com medidas comuns. Em relação ao LentiGlobin, os testes de presença de replicação foram negativos e sem efeitos adversos. Após 15 meses do transplante não foi relatado crises como consequência da AF e nenhuma hospitalização foi necessária. Testes em situações de hipóxia não foram significativamente diferente de pacientes assintomáticos/heterozigotos. Os resultados deste estudo foram de grande importância na comunidade científica, pois essa metodologia pode se tornar futuramente o tratamento de escolha para a AF (Ribeil et al., 2017).

4.9 NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS

Em todos os anos, a indústria farmacêutica investe milhões no desenvolvimento de novos medicamentos aplicáveis para as mais variadas doenças. Para AF, atualmente, estão em estudo os inibidores de selectina, heparina como inibidor de adesão e vias de ativação das células de adesão (Telen, 2016).

O Rivipansel e Polaxamer 188, que estão sendo estudados em pesquisa de fase clínica 3, são inibidores de selectina, apresentando ação contra crises vaso-oclusivas. O Sevuparin é derivado da heparina de baixo peso molecular e foi desenvolvido como bloqueador da P-selectina, estando sendo investigado em pesquisa de Fase Clínica 2. O Crizanlizumab (SelG1) tem como alvo a P-selectina e mostrou resultados promissores em pesquisa de Fase Clínica 2. Em relação as vias de ativação das células de adesão, sabe-se que vias β 2 adrenérgicas são capazes de ativar células de adesão como BCAM/Lu e ICAM-4, estudos clínicos estão sendo desenvolvidos na utilização de beta-bloqueadores na AF. A pesquisa clínica de fase 1 mostrou que o propranolol reduziu a capacidade da epinefrina em estimular as células de adesão *in vitro*, mas em outro estudo de fase 1 envolvendo crianças

sem asma notou-se que, a utilização de β -bloqueadores pode não ser bem tolerada. Em estudo de fase 2, o propranolol foi associado com a redução dos níveis de biomarcadores (E-selectina, P-selectina, ICAM-1, VCAM-1) quando comparado com valores de referência e com placebo. Entretanto, as diferenças não foram estatisticamente significantes (Telen, 2016; Ware et. al 2017).

5. DISCUSSÃO

A AF constitui um problema de saúde pública. Com uma média de 2.500 recém-nascidos por ano e cerca de mais de 30 mil indivíduos com a doença somente no Brasil, a AF é a doença genética mais comum no país (Azar & Wong, 2016). Segundo um estudo de Paiva e Silva (1993), os pacientes com anemia falciforme sofriam com o diagnóstico tardio da doença onde a taxa de sobrevivência era de $16,4 \pm 12,1$ anos. O aconselhamento genético como forma de prevenção naqueles que chegavam a vida adulta era passado despercebido e a triagem neonatal era algo excepcional, enquanto nos Estados Unidos desde a década de 70 já havia programas e no ano deste estudo, os casos de homozigotos eram bastante pequenos.

Em 1972, o presidente Richard Nox assinou a lei para o Ato de Controle da Anemia Falciforme nos Estados Unidos para colocar em prática quatro ações de combate a AF que incluíam programas de aconselhamento e *screening* genético, atividades e informações educativas e pesquisa. A AF foi a primeira doença genética a receber reconhecimento e recursos federais. Como resultado direto das ações, também foi criado o Laboratório de Referência para Hemoglobinopatias no Centro de Controle de Doenças (CDC). No primeiro momento, a implementação das ações ocorreu de forma rápida e falha e precisou de ajuste antes de implantar o programa de *screening* neonatal levando de 1975 a 2006 para implementação em todos os 50 estados. Até 1987 não havia um consenso federal quanto a recomendação do *screening* devido à falta de dados dos benefícios do diagnóstico precoce. O programa começou a ganhar aceitação depois do lançamento do estudo sobre o uso da penicilina para uso profilático baseado em dados epidemiológicos observacionais das taxas de mortes por pneumococos em crianças após profilaxia (Naik & Haywood, 2015).

Nos anos 70, a AF era uma doença essencialmente de crianças uma vez que poucos adolescentes chegavam a vida adulta. Antes da implementação do *screening* neonatal, profilaxia contra infecções e aconselhamento genético, aproximadamente 10,5% a 12,5% das crianças eram afetadas por septicemia ou meningite. Entretanto, após os incentivos

acerca da doença e o estudo sobre profilaxia oral com penicilina em crianças com AF, mais de 95% das crianças atualmente chegam até os 18 anos (Chatuverde & DeBaun, 2016).

Desde 1995, após a sanção do Programa de Direitos Humanos, a AF virou alvo de interesse como forma de ação afirmativa a favor dos negros no Brasil. Em 1996, o Grupo de Trabalho Interministerial para a Valorização da População Negra organizou uma Mesa Redonda sobre a Saúde da População Negra reconhecendo quatro blocos de doenças que afetam a 'população negra'. O bloco 1 falava sobre o grupo de doenças geneticamente determinadas – em destaque a anemia falciforme devido a alta incidência sobre os afro-descendentes; O bloco 2 citava o conjunto de ocorrências derivados de condições socioeconômicas e educacionais desfavoráveis; No bloco 3, discutia a evolução agravada devido tratamento dificultado pelas condições negativas citadas no bloco 2. Por fim, o bloco 4 citava o conjunto de condições fisiológicas que sofrem interferência das condições negativas (Fry, 2005).

O discurso da mesa redonda foi de extrema importância, sendo utilizado como ponto de partida para o começo das políticas públicas ligado a população negra, uma vez que se firmou como uma etnia com herança biológica e cultural compartilhada (Fry, 2005). A criação do Programa de Anemia Falciforme em 1996 foi uma das primeiras ações desde que o país percebeu a dimensão epidemiológica que a doença tem no Brasil (Diniz & Guedes, 2003).

Desde 2001, a AF foi incluída no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) como forma de assegurar o tratamento precoce como medida na redução na morbimortalidade aumentando consideravelmente a expectativa de vida, uma vez que os primeiros cinco anos de vida é o período com maior probabilidade a infecções e morte (Fry, 2005; Torres e Guedes, 2015).

O PNTN é dividido em 4 fases. A fase I tria fenilcetonúria + hipotireoidismo congênico. A fase II engloba a fase I + AF e outras hemoglobinopatias. A fase III inclui o diagnóstico para fibrose cística. Por fim, a fase IV que acrescentou hiperplasia adrenal congênita + deficiência de biotinidase.

Com mais de 100 anos da primeira descrição da doença, apenas no começo do século XXI que no Brasil vem criando políticas sobre a doença como a Política de Atenção Integral as Pessoas com doença falciforme (Port. 1018 de 2005), Programa de Triagem Neonatal (Port. 822 de 2001), Política Nacional de Saúde Integral a População Negra (Port. 922 de 2009) e manuais para auxílio na linha de cuidado da doença.

A distribuição geográfica brasileira em 2013 quanto as fases do Programa Nacional de Triagem Neonatal pode ser observado na figura 8:

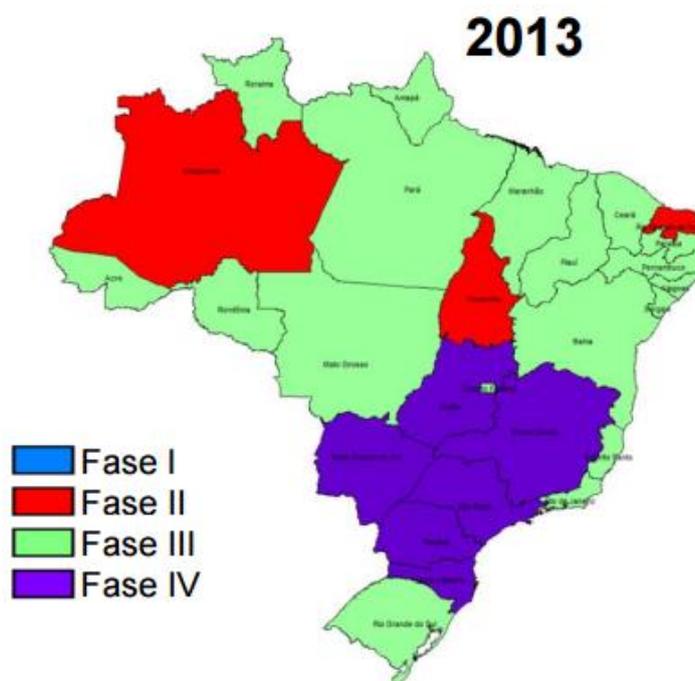


Fig. 8 – Adesão das Fases do PNTN no Brasil. Fonte: <http://www2.camara.leg.br/atividade-legislativa/comissoes/comissoes-permanentes/cssf/audiencias-publicas/audiencias-publicas-antecedentes/audiencia-2013/audiencia-24.10/apresentacao-1> Acesso: 04/2017

A inclusão da eletroforese de hemoglobina no PNTN foi um grande passo para o reconhecimento das hemoglobinopatias como um problema de saúde pública tendo uma mudança na história natural da doença no Brasil (Cançado & Jesus, 2007). Em 2005, após o II Seminário Nacional de Saúde da População Negra foi marcado pelo reconhecimento do Ministério da Saúde a existência do racismo institucional na saúde pública e a publicação da Portaria nº 1391/05 que inclui a atenção aos doentes falciforme na saúde pública brasileira (Carvalho et al., 2014).

Mesmo sendo uma doença bastante estudada em termos de frequência populacional, fisiopatologia e manifestações clínicas, a AF, tem pouco enfoque como uma doença de saúde pública. Segundo Paiva e Silva (1993), a AF tem grande impacto na vida profissional dos pacientes devido as constantes crises de dor e internações, contudo, quando em tratamento e em funções compatíveis com as limitações se mostra viável (Paiva e Silva et al., 1993). Quanto a programas de aconselhamento genético existem dados desde 1950, porém mostram que é pouco presente na realidade dos brasileiros, necessitando de

uma maior visibilidade acerca da possibilidade da ocorrência dos casos devido a alta prevalência no Brasil (Diniz & Guedes 2003).

Estima-se que mais de 6mil crianças nascem com AF nas Américas, sendo que metade desses apenas no Brasil, 200 nos EUA e o restante principalmente no México, Panamá, Honduras, Venezuela e Colômbia. Sendo que destes, apenas o Brasil, EUA e Costa Rica mantem um programa nacional para triagem neonatal. A realidade do Brasil mostra em relação aos outros países que a taxa de mortalidade tem diferença significativa (3,7% Brasil e 5,6% países sem ou com programa pouco estabelecido). Apesar do número de pessoas afetadas pela AF, os recursos disponibilizados pelos países são bastante variados. Brasil, Costa Rica e EUA mostraram que o programa de *screening* neonatal está altamente difundido de forma que facilitou a redução da mortalidade de crianças devido ao programa (Huttle et. al 2015).

Os programas de *screening* neonatal mostraram à população dos Estados Unidos a oportunidade de suporte tanto dos doentes e de seus familiares. As ações visam o cuidado centrado no paciente principalmente em áreas culturalmente e geograficamente isoladas com os maiores números de casos e recursos limitados (Hassell, 2010; Hassell, 2016).

Após vários anos da descoberta da AF, inúmeros recursos foram investidos para a melhoria da qualidade de vida dos pacientes. A expectativa de vida dos pacientes aumentou consideravelmente nos últimos 50 anos, mas nos últimos 20 anos, a morbidade causada pelo dano crônico aos órgãos vitais vem regredindo a expectativa. Em 2010, quase 94% das crianças com AF nos EUA chegaram a idade adulta, em parte, devido ao diagnóstico precoce através do *screening* neonatal a um melhor suporte a saúde como as vacinações e a profilaxia com penicilina. A taxa de mortalidade de crianças homozigotas é de 0,52 em 100 pacientes indicando que 6,1% morrem antes dos 18 anos. Em comparação com os anos de 83-86 e 99-2002 houve uma queda de 68% entre 0-3 anos, 39% entre 4-9 anos e 24% entre 10 e 14 anos (Sheth et. al 2013).

As grávidas desde o pré-natal são motivadas pelos profissionais de saúde a adesão do teste do pezinho e se mostram bastante receptivas quanto a prática. Entretanto, falta informação quanto ao objetivo do teste e quais patologias serão pesquisadas. É dever do profissional de saúde, aproveitar o momento das consultas e informar o porquê de ser realizado e a importância da detecção das doenças triadas e consequentemente alertar quanto a conduta que deve ser tomada caso seja positivo (Menezes et. al 2016) .

Em um estudo de Garcia e colaboradores, (2007) realizado na cidade de Belém do Pará foram entrevistados 200 pais que levaram seus filhos para realizar o teste do pezinho

em uma unidade de referência da cidade. Garcia evidenciou que principalmente a mãe era a principal acompanhante e apenas 12 dos participantes eram os pais. Em relação a faixa etária, a maioria tinha entre 19 e 23 anos. Dos 200 participantes, 115 realizaram o teste devido a indicação da maternidade. Quando perguntados sobre o teste, 85% souberam responder como era realizado, mas apenas 52% sabiam que caso positivo o resultado, o recém-nascido teria algum acompanhamento especializado. Menos da metade (44%) gostariam de ter mais algum esclarecimento sobre o que seria investigado, o porquê do teste e como lidar caso desse positivo. Entretanto, os pais que não tiveram nenhuma informação, quando questionados se era necessário alguma informação, afirmaram não ser necessário. A equipe de enfermagem em 94% dos casos não forneceu informações quanto ao teste e apenas 6% informaram que a equipe respondeu quando perguntada, mas não souberam informar das doenças triadas. Segundo um estudo de Silva et. al (2013) com 119 mães da cidade do estado de São Paulo onde os filhos apresentaram alguma anormalidade nas hemoglobinas. Os resultados mostram que mais de 110 mães foram informadas sobre onde fazer e o momento correto de realizar o teste, mas a mesma taxa não foi informada o que seria pesquisado e quais os riscos de não realizar o teste. A situação mostra que é preciso mais informação, uma vez quando se conhece a real necessidade do teste, é possível que outras pessoas que não aderem possam se sentir confortáveis e também passar o ensinamento a outras pessoas quanto a necessidade do teste do pezinho. A educação continuada deve estar ao alcance tanto para os pais e principalmente para as equipes que prestam o serviço.

Segundo um estudo descritivo-reflexivo de Marqui (2016), a autora indaga o papel da equipe de enfermagem no processo de triagem neonatal. Relatos que de 222.366 amostras de sangue coletada para o teste do pezinho no Paraná, 1198 não foram suficientes (devido a insuficiência, sangue envelhecido e sangue ressecado) necessitando de novas coletas. O resultado, mostra um certo descaso quanto a importância do exame, uma vez que o resultado demora até 30 dias e o melhor momento para a coleta é na primeira semana de vida. Quando questionados sobre o teste, sua finalidade e qual o melhor momento para coleta, a maioria não sabia responder corretamente. Em relação aos pais, de 50, apenas 5 afirmaram ter recebido alguma orientação durante o pré-natal e dessas, 35 apenas tiveram alguma informação sobre o teste ao receber a alta e mesmo assim não quais as doenças triadas pelo teste. Algumas acreditavam que o teste se tratava de do 'carimbo' (impressão plantar) que é que colhido após o nascimento.

Junto do programa de triagem neonatal, os pais com recém-nascido diagnosticado com AF tem acesso ao aconselhamento genético com informações sobre hereditariedade,

sobre a doença, importância do tratamento e o acompanhamento da criança. O aconselhamento pode ser prospectivo, quando realizado antes da gravidez e retrospectivo quando realizado durante o pré-natal. Entretanto, no Brasil, diferentemente de outros países a prática do aconselhamento genético é considerado um ato médico. Segundo o estudo de Torres e Guedes ainda falta muita informação quanto a diferença entre traço falciforme e AF e a importância do aconselhamento genético e quem deve realiza-lo. O autor também diz que é necessário investimento em recursos humanos e educação em saúde, a fim de aprofundar a discussão do tema e melhorar a qualidade de vida desses pacientes (Torres e Guedes, 2015).

O estudo transversal de Rodrigues e colaboradores, (2016) verificou o conhecimento dos estudantes de graduação em enfermagem de duas instituições de ensino superior em Uberara-MG. Dos 168 estudantes, mais de 80% já ouviram falar do Teste do Pezinho mas apenas 23% conseguiram citar todas as seis patologias triadas sendo estes a maioria próximos da formatura e 34% não souberam dizer e 12% acreditavam que o teste fosse a impressão plantar. Entretanto, os estudantes sabem que a realização e a orientação são atribuições do profissional devendo estar pronto para orientar e esclarecer as dúvidas sempre que existam e enfatizar a importância da detecção precoce das doenças triadas pelo teste.

Marques e colaboradores, (2015) realizaram um estudo transversal com 7 adolescentes entre 13 e 17 anos com o objetivo de entender a percepção dos mesmos em relação a sua convivência com a doença. O resultado mostrou que os adolescentes se sentem rodeado de privações desde o medo da piora da doença que fazem com que sintam incapazes de realizar papéis profissionais no futuro e o fato da superproteção dos pais. Além disso, os adolescentes afirmavam que poucas pessoas sabiam da doença com medo do preconceito, de não entender corretamente o que se passava na vida deles o que impactava negativamente e com grandes riscos que afetar o futuro dos mesmos. A autora afirma que é necessário ampliar o atendimento com direcionamento no cotidiano da criança de forma que diminua o impacto negativo que sentem sobre a doença com o objetivo de auxiliar o desenvolvimento e elaborar estratégias de intervenção com enfoque na melhora da qualidade de vida desses pacientes.

A falta de informação da população, baixa escolarização e nível socioeconômico inferior dos pacientes falciformes afetava a vida profissional dos mesmos levando a casos de depressão. Entretanto, metade dos entrevistados na época (1993) que permaneciam regulares em seus empregos era decorrente ao tratamento e com funções compatíveis as limitações causadas pela doença (Paiva e Silva et. al 1993).

Os gastos associados a AF são enormes e países subdesenvolvidos nem sempre podem arcar com todas as despesas. Estima-se que cerca de 113 mil pacientes dão entrada no pronto socorro nos EUA por ano devido a complicações relacionada a AF e apresentam um custo de \$488 milhões de dólares (Sheth et. al 2013). Em comparação com o estudo de Martins & Teixeira, apenas no estado da Bahia, durante os anos de 2008 e 2014 houve cerca de 8,103 internações e teve o custo de R\$2.894.556,63 reais com internações hospitalares com uma média de R\$357,80 reais por internação uma vez que esses valores não são ajustados de acordo com a inflação do Brasil e mesmo assim estão acima da média do estado. Segundo as autoras, o custo de cada internação é baixa quando comparado com o custo de internação de pacientes com insuficiência cardíaca do Hospital das Clínicas de São Paulo que é de 4,033,62 reais, mesmo que sejam patologias diferentes salienta-se a necessidade de uma atualização quanto aos preços para as complicações da AF ou qualquer outra doença (Martins & Teixeira, 2017).

O caráter crônico da doença faz com que os pacientes necessitem de atenção continuada, adesão ao tratamento e cuidados específicos que muito das vezes dependem exclusivamente dos próprios doentes e de seus familiares. A informação faz com que os pacientes participem de forma ativa de forma a se adaptar a doença e evitar sempre que possíveis complicações. Atividades de educação continuada como palestras acompanhado de uma equipe multidisciplinar são passíveis de uma maior comunicação interpessoal e pode ser uma ferramenta motivacional de fácil acompanhamento pois pode ser individual ou em grupo por todos os profissionais de saúde nos três níveis de complexidade do cuidado (Carvalho et al., 2015).

É comum a estereotipação dos pacientes, o que pode afetar diretamente na tomada de decisão pelos profissionais de saúde. Apesar da AF tenha se iniciado na África onde a maioria é negra, a miscigenação, principalmente no Brasil mostra que também é uma doença que afeta brancos, pardos. Logo, a estereotipação, atitudes negativas quanto a doença e o racismo afetam a autonomia e a procura dos serviços de saúde, em especial o aconselhamento genético. Sendo assim, a interação profissional-paciente é comprometida uma vez que o profissional tem papel importantíssimo para a disseminação da informação desde a prevenção, diagnóstico e adesão ao tratamento (Laguardia, 2006).

Os programas sociais, segundo Laguardia (2006) devem ser avaliados quanto as especificidades históricas e sociais. No caso da AF, avaliar as características acerca da classificação racial e a percepção da discriminação e levar em consideração que metas do controle de reprodução e redução da prevalência vão contra a autonomia reprodutiva da

pessoa. Portanto, apesar dos esforços governamentais, o manejo e controle da AF são bastante complexos.

A AF passou de uma doença do sangue para uma doença molecular após a descoberta da mutação pontual em 1949 por Linus Pauling e vem acompanhada de inúmeras intervenções científicas e tecnológicas. Devido a alta complexidade da clínica, pois, as manifestações se confundem com outras patologias. Apesar dos esforços da implantação do PNTN tem apenas 16 anos e muitos dos pacientes passam anos sem saber sua condição devido ao caráter multifatorial da doença. Logo, a interação profissional é uma das principais formas de inclusão, mas as barreiras como falta de informação tanto dos profissionais quanto dos pacientes, o racismo institucional afetam diretamente no cuidado (Silva, 2016).

Segundo um estudo retrospectivo de 2010 feito por Silva et. al, observou-se entre os meses de janeiro e setembro no estado de Piauí que apenas 17 pacientes recebiam a HU, visto o índice de prevalência da doença no Brasil, concluindo que boa parte da população não está sendo assistida pelo programa.

Ruiz em 2007 comparou o atual panorama da doença em relação aos anos 80 quando defendeu sua tese sobre a prevalência de hemoglobinas anormais em recém nascidos em São Paulo e destacou que houve inúmeros empecilhos para a detecção das hemoglobinopatias além do preconceito existente na época aumentando o caráter como uma doença de saúde pública. Após 25 anos da publicação, Ruiz afirma que pouca coisa mudou. A cura era algo distante e hoje em dia, apenas alguns pacientes selecionados recebem transplante de células tronco hematopoiéticas.

Com mais de 100 anos da sua primeira descrição, a AF obteve grandes avanços para o seu tratamento. Uma doença que havia altas taxas de mortalidade nos primeiros 5 anos de vida, atualmente proporciona ao doente alternativas de proteção para que chegue a vida adulta. Entretanto, a impressão é que falta informação sobre a doença na população e que pouco foi feito quando comparado a outras patologias, como o HIV. Apesar dos grandes avanços na inserção do programa de triagem neonatal/*screening* nos últimos 40 anos (nos EUA e nos últimos 16 anos no Brasil), a questão da informação se mostra mais uma vez deixada de lado, já que mais de 300 mil crianças nascem por ano com AF. O tratamento é bastante limitado, sendo a HU a única droga disponível (os demais são apenas paliativos para as complicações) e com pouco acesso a população. É necessário maior visibilidade da luta dos portadores de AF e que os estudos de novas terapias e medicamentos continuem e que um dia a cura esteja ao alcance de todos.

6. CONCLUSÃO

A AF é uma patologia bastante investigada, com uma fisiopatologia bastante definida e que vem caminhando gradativamente em busca de uma solução efetiva para a doença.

Apesar de ser conhecida a mais de um século, outras doenças como HIV já apresentam um maior número de medicamentos para o tratamento, enquanto que a AF só utiliza os medicamentos paliativos para as crises dolorosas (HU como um 'retardador' da doença). Entretanto, desde a visibilidade do movimento negro e, conseqüentemente, da AF nos últimos 20 anos, alguns alvos terapêuticos estão sendo testados.

Mesmo sendo considerada uma doença de saúde pública e a doença hereditária mais comum no mundo, aparentemente só é conhecida por pesquisadores e por aqueles que enfrentam diariamente a doença, com questões que nem mesmo os profissionais entendem. Talvez as medidas utilizadas para que a doença se torne conhecida não sejam tão efetivas. É necessário que conscientize a sociedade para um problema que afeta boa parte da sociedade, principalmente aqui no Brasil.

Com uma média de 300 mil nascidos por ano, os programas de orientação genética podem não ser efetivos devido a falta de informação do traço falciforme visto que os pacientes não são assintomáticos e atualmente não é mais uma doença exclusivamente de negros. Como discutido anteriormente, são necessárias ações de conscientização da população principalmente nos países com maior incidência como Brasil, África, Índia. Por outro lado, a inserção do programa de triagem neonatal se mostrou de grande importância para a qualidade de vida. Uma vez diagnosticado precocemente os incentivos utilizados mudaram o paradigma da doença. Mesmo que nem todos entendam o principal objetivo da triagem, os pacientes falciformes que não chegavam a vida adulta devido aos incentivos como a profilaxia contra infecções com antibióticos e vacinas, hoje tem a capacidade de ter uma vida quase 'normal'.

Apesar das dificuldades quanto a achar um doador compatível para realização do transplante de células tronco, a terapia gênica se mostrou uma alternativa bastante promissora e com os avanços da tecnologia e estudos promissores como o de Reibel (2017) mostram que a cura ao alcance de todos está mais próxima do que imaginávamos.

Enquanto são apenas estudos, muito deve ser feito para as pessoas que vivem com essa doença, afetados de muitas maneiras, seja fisicamente, seja psicologicamente. Os países devem aumentar as informações e mostrar para a população que é um problema muito maior e está presente na sociedade. Os profissionais de saúde também têm um

grande papel na disseminação da informação desde a importância da triagem neonatal, o que é a doença e em casos de possíveis filhos com a doença levar ao alcance o aconselhamento genético como forma de prevenção de novos casos.

7. BIBLIOGRAFIA

- AAFESP – Associação de Anemia Falciforme do Estado de São Paulo. 2007. Disponível em: <http://www.aafesp.org.br/o-que-anemia-falciforme.shtml> Acesso em 02/2017
- Abraham, A.; Jacobsohn, D.A.; Bollard, C.M. – **Cellular therapy for sickle cell disease**. International Society for Cellular Therapy v.18 p.1360-1369 2016
- Alapan, Y.; Fraiwan, A.; Kucukal, E.; Hasan, M.N.; Ung, R.; Kim, M.; Odame, I.; Little, J.A.; Gurkan, U.M. - **Emerging Point-of-Care Technologies for Sickle Cell Disease Screening and Monitoring**. Expert Review of Medical Devices v.13 p.1073-1093 2016
- AIDallal, S.; AIDallal, N.; Alam, A. – **Sickle cell – induced ischemic priapism**. Cogent Medicine v.0 p.1-12 2016
- Alegre, S.M.; Carvalho, O.M.R. – **Como diagnosticar e tratar anemias**. Revista Brasileira de Medicina v.66 p.229-237 2009
- Azar, S.; Wong, T.E. - **Sickle cell disease: A Brief Update**. Med. Clin. N. Am. v.101 p.375-393 2016
- Belisário, A.R.; Sales, R.R.; Viana, M.B. – **Very mild forms of HB S/beta+-thalassemia in Brazilian children**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.37 p.198–201 2015
- Bertholo, L.C.; Moreira, H.W. – **Focalização isoelétrica na identificação das hemoglobinas**. J. Bras. Patol. Med. Lab. v.42 p.163-168 2006
- Borsato, M.L.; Bruniera, P.; Cusato, M.P.; Spewien, K.E.; Durigon, E.L.; Toporovski, J. – **Crise aplástica da anemia falciforme condicionada pelo parvovírus B19**. J. Ped. v.76 p.458-460 2000
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Assistência à Saúde. Coordenação-Geral de Atenção Especializada. **Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2002
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual da Anemia Falciforme para a População**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2007

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual das Condutas Básicas na Doença Falciforme**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Manual de Educação em Saúde – Linha de Cuidado em Doença Falciforme**. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2009

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada. **Doença Falciforme. Condutas Básicas para o Tratamento**. Série B Textos Básicos de Saúde. Brasília, 2012

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS – CONITEC. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença Falciforme**. Relatório de Recomendação 2016

Broderick, G.A. – **Priapism and Sickle-Cell Anemia: Diagnosis and non surgical therapy**. J. Sex Med. v.9 p.88-103 2011

Brunetta, D.M.; Clé, D.V.; Gaes, T.M.; Roriz-Filho, J.S.; Moriguti, J.C. – **Manejo das complicações agudas da doença falciforme**. Medicina (Ribeirão Preto) v.43 p.231-7 2010

Cançado, R.D. - **Talassemias alfa**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.28 p.81-87 2006

Cançado, R.D.; Jesus, J.A. - **A doença falciforme no Brasil**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.29 p.203-206 2007

Carvalho, S.C.; Carvalho, L.C.; Fernandes, J.G.; Santos, M.J.S. - **Towards equity in the Brazilian health system: the case of sickle cell disease**. Saúde Soc. v.23 p.711-718 2014

Chang, K.H.; Smith, S.E.; Sullivan, T.; Chen, K.; Zhou, Q.; West, J.A.; Liu, M.; Liu, Y.; Vieiram B.F.; Sun, C.; Hong, V.P.; Zhang, M.; Yang, X.; Reik, A.; Urnov, F.D.; Rebar, E.J.; Holmes, M.C.; Danos, O.; Jiang, H.; Tan, S. - **Long-Term Engraftment and Fetal Globin Induction upon BCL11A Gene Editing in Bone-Marrow-Derived CD34+ Hematopoietic Stem and Progenitor Cells**. Molecular Therapy: Methods & Clinical Development v.4 p.137-148 2017

Chatuverdi, S.; DeBaun, M.R. - **Evolution of sickle cell disease from a life-threatening disease of children to a chronic disease of adults: The last 40 years**. Am. J. of Hem. v.91 p.5-14 2016

Cliquet, M.G. – **Anemia no idoso**. Rev. Bras. Med. v.67 p.17-26 2010

- De Jesus, L.E.; Dekermacher, S. – **Priapism in children: review of pathophysiology and treatment**. J. Pediatr. v.85 p.194-200 2008
- de Souza, J.M.; Rosa, P.E.L; Souza, R.L.; de Castro, G.F.P. – **Fisiopatologia da anemia falciforme**. Rev. Transformar v.8 p.162-179 2016
- DeBaun, M.R.; Strunk, R.C. - **The intersection between asthma and acute chest syndrome in children with sickle-cell anaemia**. Lancet v.387 p.2545–53 2016
- Di Nuzzo, D.V.P.; Fonseca, S.F. – **Anemia falciforme e infecções**. J. Ped. v.80 p.347-354 2004
- Diniz, D.; Guedes, C. - **Sickle Cell Anaemia: A Brazilian Problem. A bioethical approach to the new genetics**. Cad. Saúde Pública v.19 p.1761-1770 2003
- Ferraz, M.H.C.; Murao, M. – **Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.29 p.218-222 2007
- Franco, B.M.; Gonçalves, J.C.H.; dos Santos, C.R.R. – **Manifestações bucais da anemia falciforme e suas implicações no atendimento odontológico**. Arquivos em Odontologia v.43 p.92-97 2007
- Fry, P.H. - **O significado da anemia falciforme no contexto da “política racial” do governo Brasileiro 1995-2004**. História, Ciências, Saúde – Manguinhos v.12 p.347-70 2005
- Garcia, M.G.; Ferreira, E.A.P.; de Oliveira, F.P.S. – **Análise da compreensão de pais acerca do teste do pezinho**. Rev. Bras. Crescimento Desenvolv. Hum. v.17 p1-12 2007
- Gesteira, E.C.R; Bousso, R.S.; Rodarte, A.C. – **Uma reflexão sobre o manejo familiar da criança com doença falciforme**. R. Enferm. Cent. O. Min. v.6 p.2454-2462 2016
- Gladwin, M.T.; Ofori-Aquah, S.F. - **Erythroid DAMPs drive inflammation in SCD**. Blood, v.123 p.3689-3691 2014
- Gomes, L.M.X.; Pereira, I.A.; Torres, H.C.; Caldeira, A.P.; Viana, M.B. – **Acesso e assistência à pessoas com anemia falciforme na Atenção Primária**. Acta Paul. Enferm. v.27 p.348-55 2014
- Hassel, L.K. – **Population Estimates of Sickle Cell Disease in the U.S**. Am. J. Prev. Med. v.38 p.(4S):S512–S521 2010
- Hassel, L.K. – **Sickle Cell Disease - A continued call to action**. Am. J. Prev. Med. v.51 p.(1S1):S1–S2 2016

Hay, D.; Atoyebi, W. – **Update on sickle cell disease**. British Journal of Hospital Medicine v.77 p. c55-59 2016

HEMORIO – Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti. **Protocolos de Tratamento. Hematologia e Hemoterapia**. 4ª edição. Rio de Janeiro, 2014

Hossain, M.A.; Bungert, J.; - **Genome Editing for Sickle Cell Disease: A Little BCL11A Goes a Long Way**. Molecular Therapy v.25 p. 561 2017

Huttle, A.; Maeste, G.E.; Lantigua, R.; Green, S.N. - **Sickle Cell in Sickle Cell Disease in Latin America and the United States**. Pediatr Blood Cancer v.62 p.1131–1136 2015

Ingram, V.M. – **A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemiahaemoglobin**. Nature v.178 p.792-794 1956

Kassebaum, N.J.; Jasrasaria, R.; Naghavi, M.; Wulf, S.K.; Johns, N.; Lozano, R.; Regan, M.; Weatherall, D.; Cheu, D.P.; Eisele, T.P.; Flaxman, S.R.; Pullan, R.L.; Brooker, S.J.; Murray, C.J.L. – **A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010**. Blood v.123 p.615-624 2014

Keikhaei, B.; Yousefi, H.; Bahadoram, M. - **Hydroxyurea: Clinical and Hematological Effects in Patients With Sickle Cell Anemia**. Global Journal of Health Science v. 8 p.252-6 2016

Laguardia, J. – **No fio da navalha: anemia falciforme, raça e as implicações no cuidado à saúde**. Estudos Feministas v.14 p. 243-262 2006

Lette, G.; Bauer, D.E. - **Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: from genetic epidemiology to new therapeutic strategies**. Lancet v.387 p.2554–64 2016

Lobo, C.; Marra, V.N.; Silva, R.M.G. – **Crises dolorosas na doença falciforme**. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.29 p.247-258 2007

Manfredini, V.; Castro, S.; Wagner, S.; Benfato, M.S. – **A fisiopatologia da anemia falciforme**. Infarma v.19 p.3-6 2007

Manwani, D.; Frenette, P.S. – **Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies**. Blood v.122 p.3892-3899 2013

Marques, L.N.; Souza, A.C.A; Pereira, A.R. - **O viver com a doença falciforme: percepção de adolescentes**. Rev. Ter. Ocup. Univ. São Paulo. v.26 p.109-17 2015

Marqui, A.B.T. – **Teste do Pezinho e o Papel da Enfermagem: Uma reflexão.** Rev. Enferm. Atenção Saúde v.5 p.96-103 2016

Martins, M.M.F.; Teixeira, M.C.P. – **Análise dos gastos das internações hospitalares por anemia falciforme no estado da Bahia.** Cad. Saúde Colet. v.25 p.24-30 2017

Menezes, F.L.; Gracioli, M.S.A.; de Freitas, H.M.B.; Diaz, C.M.G.; da Rocha, B.D.; Gomes, I.E.M.; Bordignon, J.S. – **Conhecimento das mães acerca do teste do pezinho.** Revista de Saúde Pública do Paraná. v.17 p.220-228 2016

Miller, S.T.; Sleeper, L.A.; Pegelow, C.H.; Enos, L.E.; Wang, W.C.; Weiner, S.J.; Wethers, D.L.; Smith, J.; Kinney, T.R. – **Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease.** The New England Journal of Medicine v. 342 p.83-89 2000

Minniti, C.P.; Eckman, J.; Sebastiani, P.; Steinberg, M.; Ballas, S.K. – **Leg ulcers in sickle cell disease.** Am. J. Hematol. v.85 p.831–833 2010

Naik, R.P.; Haywood Jr, C. – **Sickle cell trait diagnosis: clinical and social implications.** American Society of Hematology v.2015 p.160-7 2015

Naoum, P.C. – **Anemias: Classificação e Diagnóstico Diferencial.** UNESP 2015
Disponível em:
http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/anemias/Anemias_Classifica%C3%A7%C3%A3o_Diagn%C3%B3stico_Diferencial.pdf Acesso em: 03/2017

Naoum, P.C.; Naoum, F.A.; Naoum, P.F. – **Diagnóstico Laboratorial das Doenças das Células Falciformes.** 2017. Disponível em <http://hemoglobinopatias.com.br/diagnostico-laboratorial-das-doencas-das-celulas-falciformes/> Acesso em 03/2017

Neto, G.C.G.; Pitombeira, M.S. – **Aspectos moleculares da anemia falciforme** – Jornal Brasileiro de Patologia e Medicinal Laboratorial v.39 p.51-56 2002

Novelli, E.; Gladwin, M.T. - **Crises in Sickle Cell Disease.** CHEST v.149 p.1082-93 2016

Organização Mundial de Saúde – **O uso clínico do sangue na medicina, obstetrícia, pediatria e neonatologia, cirurgia e anestesia, traumas e queimaduras.** Genebra, 2011

Paiva e Silva, R.B.; Ramalho, A.S.; Cassorla, R.M.S. – **A anemia falciforme como problema de Saúde Pública no Brasil.** Rev. Saúde Pública v.27 p.54-8 1993

Piel, F.B.; Patil, A.P.; Howes, R.E.; Nyangiri, O.A.; Gething, P.W.; Dewi, M.; Temperley, W.H.; Williams, T.N.; Weatherall, D.J.; Hay, S.I. - **Global epidemiology of sickle**

haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. Lancet v. 381 p.142–51 2013

Piel, F.B.; Williams, T.N. – Sickle Cell Anemia: History and Epidemiology. In: Costa, F.F.; Conran.(ed.) – ***Sickle Cell Anemia: Fom Basic Science to Clinical Practice*** eBook Springer International Publishing Switzerland 2016 23-47

Piqueras, M.B.; Perianes, V.C.; Arnao, M.M.; Fíerrez, E.S. – ***Actualización en anemias hemolíticas.*** Medicine v.12 p. 1148-1158 2016

Ribeil, J.A.; Bey-Abina, S.H.; Payen, E.; Magnani, A.; Semeraro, M.; Magrin, E.; Caccavelli, L.; Neven, B.; Bourget, P.; El Nemer, W.; Batolucci, P.; Weber, L.; Puy, H.; Meritet, J.F.; Grevent, D.; Beuzard, Y.; Chrétien, S.; Lefebvre, T.; Ross, R.W.; Negre, O.; Veres, G.; Sandler, L.; Soni, S.; de Montalembert, M.; Blanche, S.; Leboulch, P.; Cavazzana, M. – ***Gene therapy in a patient with Sickle Cell Disease.*** The New England Journal of Medicine v.376 p.848-855 2017

Rodrigues, L.P.; Haas, V.J.; Marqui, A.B.T. - ***Triagem neonatal: conhecimento dos alunos da graduação em enfermagem sobre o teste do pezinho.*** Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina v. 37 p.71-80 2016

Ruiz, M.A. – ***Anemia Falciforme. Objetivos e resultados no tratamento de uma doença de saúde pública no Brasil*** – Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia v.29 p.203-206 2007

Ryan, K.; Bain, B.J.; Worthington, D.; James, J.; Plews, D.; Mason, A.; Roper, D.; Rees, D.C.; de la Salle, B.; Streetly, A. – ***Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis.*** British Journal of Haematology v.149 p.35-49 2010

Sankaran, V.G.; Orking, S.T. -***The Switch from Fetal to Adult Hemoglobin.*** Cold Spring Harb Perspect Med v.3 p.1-14 2013

Serjeant, G.R. – ***The natural history of sickle cell disease.*** Cold Spring Harb Perspect Med v.3 p.1-11 2013

Sheth, S.; Licursi, M.; Bhatia, M. - ***Sickle cell disease: time for a closer look at treatment options?*** British Journal of Haematology. v.162 p.455–464 2013

Silva, C.A.; Baldin, L.B.; Nhoncane, G.C., Estevão, I.F.; Melo, D.G. – ***Triagem neonatal de hemoglobinopatias no município de São Paulo, Brasil: análise de uma série de casos.*** Rev. Paul. Pediatr, v.233 p.19-27 2013

- Silva, A.C.R. – **Políticas Ontológicas e Realidades Múltiplas: a doença falciforme performada na prática.** *Anthropológicas* v. 27 p. 169-195 2016
- Silva, W.C. Nogueira Junior, F.A. Pereira, H.N. Damasceno, B.P.G.L. Oliveira, E.H. Lima, E.M Soares, L.F. – Acesso a hidroxiuréia por doentes falciformes no estado do Piauí: Subnotificação ou necessidade de educação continuada? – *Boletim Informativo Geum.* 2010
- Silva, M.C.; Shimauti, E.L.T. – **Eficácia e toxicidade da hidroxiuréia em crianças com anemia falciforme.** *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* v.28 p.144-148 2006
- Simões, B.P.; Pieroni, F.; Barros, G.M.N; Machado, C.L.; Cançado, R.D.; Salvino, M.A.; Ângulo, I.; Voltarelli, J.C. – **Consenso Brasileiro em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas: Comitê de Hemoglobinopatias.** *Rev. Bras. Hemat. Hemoterap.* v.32 p.46-53 2010
- Sonati, M.F.; Costa, F.F. - **The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies.** *J. de Ped.* v.84 p.s40-s51(Supl) 2008
- Tavares, C.F.F; Guimarães, J.S.; de Souza, A.M. - **Prevalence of hemoglobinopathies in school children: the importance of using confirmatory methods.** *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* v.51 p.361-366 2015
- Telen, M.J. - **Beyond Hydroxyurea: New and Old Drugs in the Pipeline for Sickle Cell Disease.** *Blood,* v.127 p.810-9 2016
- Tenório, L.G.; da Silva, F.H.; Han, S.W. – **A potencialidade de lentivectores na Terapia Gênica.** *Rev. Bras. Clin. Med.* v.6 p.260-267 2008
- Tome-Alves, R.; Marchi-Salvador, D.P.; Orlando, G.M.; Palharini, L.A.; Imperial, R.E.; Naoum, P.C.; Bonini-Domingos, C.R. – **Hemoglobinas AS/Alfa talassemias – importância diagnóstica.** *Rev. bras. hematol. hemoter.,* v.22 p.388-394 200
- Torres, C.; Guedes, C. – **Triagem Neonatal, Anemia Falciforme e Serviço Social: o atendimento segundo profissionais de saúde.** *Argumentum* v.7 p.271-287 2015.
- Vilas-Boas, W.; Figueiredo, C.V.B; Pitanga, T.N.; Carvalho, M.O.S; Santiago, R.P.; Santana, S.S.; Guarda, C.C.; Zanette, A.M.D; Cerqueira, A.V.; Gonçalves, MS – **Endothelial Nitric Oxide Synthase (-786T.C) and Endothelin-1 (5665G.T) Gene Polymorphisms as Vascular Dysfunction RiskFactors in SickleCell Anemia.** *Gene Regulation and Systems Biology* v.10 p.67–72 2016

Wailoo, K. – ***Sickle cell disease – A history of profess and peril.*** The New England Journal of Medicine. v.376 p. 805-807 2017

Wallace, K.L.; Marshall, M.A.; Ramos, S.I.; Lannigan, J.A.; Field, J.J.; Strieter, R.M.; Linden, J. – ***NKT cells mediate pulmonar inflammation and dysfunction in murine sickle cell disease through production of IFN- γ and CXCR3 chemokines.*** Blood v.114, p667-677 2009

Walters, M.C. – ***Update of hematopoietic cell transplantation for sickle cell disease.*** Wolters Kluwer Health v. 22 p.227-233 2015

Ware, R.E.; Montalembert, M.; Tshilolo, L.; Abboud, M.G. – ***Sickle cell disease.*** Lancet, 2017 [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30193-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30193-9)

Weatherall, D.J.; Clegg, J.B. – ***Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem.*** Bulletin of the World Health Organization, 79(8) 704-712 2001

Williams, T.N.; Weatherall, D.J. -***World Distribution, Population Genetics, and Health Burden of the Hemoglobinopathies.*** Cold Spring Harb Perspect Med v.2 p.1-14 2012

Wong, T.E.; Brandow, A.M.; Lim, W.; Lottenberg, R. - ***Update on the use of hydroxyurea therapy in sickle cell disease.*** Blood v.124 p:3850-3857 2014

Zago, M.A. – ***Talasseurias*** – In: Zago, MA; Falcao, RP; Pasquini, R. (ed.) – Tratado de Hematologia. Ed. Atheneu Cap. 28 p 225-238 2013

Zago, M.A. Pinto, A.C.S – ***Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos.*** Rev. Bras. Hematol. Hemoter. v.29 p.207-214 2007

Zhang, D.; Xu, C.; Manwani, D.; Frenette, P.S. – ***Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology.*** Blood v.127 p.801-9 2016