UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

“PREVALÊNCIA DE HIPERTENSÃO PULMONAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM HEMOGLOBINOPATIAS”

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CLARISSA BARROS FERREIRA

Porto Alegre, Brasil

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

PREVALÊNCIA DE HIPERTENSÃO PULMONAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM HEMOGLOBINOPATIAS

CLARISSA BARROS FERREIRA

Orientadora: Profa. Dra. Liane Esteves Daudt

Co-Orientador: Prof. Dr. Sergio Menna Barreto

"A apresentação desta dissertação é exigência do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Mestre."

Porto Alegre, Brasil

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Barros Ferreira, Clarissa
PREVALÊNCIA DE HIPERTENSÃO PULMONAR EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM HEMOGLOBINOPATIAS / Clarissa Barros Ferreira. -- 2014.
97 f.

Orientadora: Liane Esteves Daudt.
Coorientadora: Sérgio Saldanha Menna Barreto.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Saúde da Criança e do Adolescente, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Doença Falciforme. 2. Hemoglobinopatias. 3. Complicações Doença Falciforme. 4. Hipertensão Pulmonar. I. Esteves Daudt, Liane, orient. II. Saldanha Menna Barreto, Sérgio, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM

SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

ESTA DISSERTAÇÃO / TESE FOI DEFENDIDA PUBLICAMENTE EM:

11/04/2014

E, FOI AVALIADA PELA BANCA EXAMINADORA COMPOSTA POR:

Prof. Dr. Paulo Antonacci Carvalho

Programa de Pós-Graduação Saúde da Criança e do Adolescente

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dra. Anneliese Hoffmann

Hospital De Clínicas De Porto Alegre

Dra. Christina Matzenbacher Bittar

Hospital De Clínicas De Porto Alegre

Dedicatória

Dedico este trabalho primeiramente a meus pais, Adélia e Luiz Eraldo, que sempre me estimularam a alcançar meus objetivos, me ensinaram a ter disciplina e a importância de estudar sempre. À minha irmã Ana, que sempre serviu de exemplo e inspiração. Ao meu marido, Eduardo pela compreensão e apoio durante o desenvolvimento deste trabalho, e ao meu filho Gabriel por todos os momentos de alegria e aprendizado que tem mudado cada dia da minha vida.

Agradecimentos

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para que fosse possível a realização deste trabalho.

Aos meus pais, Luiz e Adélia, minha irmã Ana, e a minha família Eduardo e Gabriel. Pelo apoio, amor e carinho de sempre.

Agradeço à minha orientadora, Dra. Liane Daudt, pela paciência ao longo dos anos, por confiar e acreditar em mim e pelo estímulo constante.

A todos do Serviço de Hematologia Clínica e Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, que contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

Ao prof. Dr. Sergio S. Menna Barreto pelos conselhos, discussões, ensinamentos e pelo carinho de ter me recebido de braços abertos. Um verdadeiro professor, sempre disponível e otimista.

Ao Dr. Antônio F. Pinotti, pela ajuda na realização dos exames, sem o qual este trabalho não teria sido possível.

A Dra. Christina Bittar pela paciência, disponibilidade e prazer em ajudar e ensinar, e ao Dr. João Friedrisch pelos conhecimentos compartilhados.

Resumo

Ferreira CB. *Prevalência de Hipertensão Pulmonar em Crianças e Adolescentes com Hemoglobinopatias* [dissertação]. Porto Alegre, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

INTRODUÇÃO: As Hemoglobinopatias podem ser divididas em Talassemias e Doença Falciforme (DF), mas do ponto de vista clínico, ambas apresentam um quadro de anemia hemolítica crônica, o que acarreta uma série de complicações, entre estas a Hipertensão Pulmonar (HP). Estima-se que cerca de 20-40% da população com DF/talassemia apresente HP, sendo que este diagnóstico está associado a uma elevada morbi-mortalidade. Poucos estudos avaliaram esta prevalência em crianças. O Objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência desta complicação na população pediátrica, e associá-la com características clínicas e laboratoriais. MÉTODOS: Estudo de Corte Transversal, com avaliação de 45 pacientes com diagnóstico de DF ou Talassemia maior/ intermédia entre 3-18 anos, atendidos de forma consecutiva no ambulatório de Hemoglobinopatias do HCPA. Os pacientes foram submetidos a um ecocardiograma para estimativa da pressão sistólica da artéria pulmonar, sendo que foi considerado como tendo risco de HP os pacientes com velocidade de regurgitação tricúspide (VRT) $\geq$ 2,5m/s. Foram obtidos dados clínicos e laboratoriais para avaliação dos parâmetros hemolíticos, função hepática e renal por levantamento de prontuário e comparados os grupos. RESULTADOS: 15% (6/40) dos pacientes apresentaram VRT $\geq$ 2,5m/s, sugestivo de HP, sendo que destes pacientes todos tinham diagnóstico de Anemia Falciforme (AF). Considerando apenas esta população, a prevalência de HP aumenta para 20% (6/30). A população com VRT $\geq$ 2,5m/s apresentou média de idade mais elevada, Hb mais baixa, RDW mais alargado, reticulócitos e LDH mais elevado que o grupo com VRT < 2,5m/s. A principal intercorrência clínica nesta população foi a ocorrência de priapismo ($p < 0,05$). CONCLUSÕES: Os pacientes com Hemoglobinopatias estão em risco aumentado para desenvolvimento de HP desde a infância, principalmente aqueles com AF. Estes pacientes apresentam os parâmetros laboratoriais sugestivos de hemólise alterados, assim como outros sintomas associados ao quadro hemolítico como o priapismo quando comparados com pacientes com VRT normal. Desta forma sugere-se a realização de triagem com ecocardiograma nesta população de forma precoce.

Descritores: Hemoglobinopatias; Talassemia; Doença Falciforme; Complicações; Hipertensão Pulmonar; Prevalência.

Abstract

Ferreira CB. *Prevalence of Pulmonary Hypertension in Children and Adolescents with Hemoglobinopathies* [dissertation]. Porto Alegre, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

INTRODUCTION: The Hemoglobinopathies can be divided in Thalassemias and Sickle Cell Disease (SCD), but clinically both present with chronic hemolytic anemia, which leads to various complications, one of them being Pulmonary Hypertension (PH). About 20-40% of patients with SCD have PH, and this diagnosis is associated with a high risk of mortality. The objective of this study was to estimate the prevalence of this complication in the pediatric population, and associate clinical and laboratory characteristics. METHODS: A cross sectional descriptive study, with the evaluation of 45 patients with diagnosis of SCD or thalassemia major/intermedia between 3-18 years, which received treatment at the Hemoglobinopathies ambulatory at HCPA. The patients were submitted to an echocardiogram to estimate the pulmonary artery systolic pressure, being considered to have PH patients with a tricuspid regurgitate jet velocity (TRV) ≥ 2.5m/s. Clinical and laboratory data were obtained to evaluate hemolytic parameters, renal and liver function and compared between groups. RESULTS: 15% (6/40) of patients had a TRV ≥ 2.5m/s, suggestive of PH, of which all had Sickle Cell Anemia (SCA). Considering this group of patients alone the prevalence would be of 20% (6/30). Patients with TRV ≥ 2.5m/s had a higher median age, lower hemoglobin count, higher RDW, reticulocyte and DHL then patients with a TRV < 2.5m/s. The major clinical feature was the occurrence of priapism ($p<0,05$). CONCLUSIONS: Patients with diagnosis of hemoglobinopathies are at higher risk of developing PH since early childhood, especially those with SCA. These patients showed a higher level of hemolytic parameters, as well as symptoms associated with hemolysis, like priapism, when compared with patients with a normal TRV. Therefore, it would be indicated to submit these patients to an echocardiogram routinely in their early years.

Key words: Hemoglobinopathies; Thalassemia; Sickle Cell Disease; Complications; Pulmonary Hypertension; Prevalence.

Lista de Ilustrações

Figura 1. Distribuição Mundial de Hemoglobinopatias por 1000 nascidos vivos 20

Figura 2. Cromossomas das cadeias α e β da hemoglobina 21

Figura 3. Eletroforese de Hemoglobina 21

Figura 4. Cadeia de Hemoglobina 22

Figura 5. Alterações hematológicas nas talassemias 27

Figura 6. Esfregaço de sangue periférico de paciente com Anemia Falciforme 31

Figura 7. Vaso-oclusão na doença Falciforme 31

Figura 8. Hemácia normal versus Falscizada 31

Figura 9. Fenótipos clínicos na DF 38

Figura 10. Modelo esquemático representando a evolução progressiva da lesão pulmonar provocada pela baixa biodisponibilidade de óxido nítrico em pacientes com doença Falciforme 43

Artigo

Figura 1. Distribuição por Sexo 82

Figura 2. Prevalência por tipo de hemoglobinopatia 82

Lista de Tabelas

Tabela 1. Principais descobertas relacionadas à DF no último século 14

Tabela 2. Prevalência de Heterozigotos de Hemoglobinopatias no Mundo 19

Tabela 3. Número de Nascimentos por Hemoglobinopatia 19

Tabela 4. Fenótipos talassêmicos e seus respectivos genótipos 23

Tabela 5. Classificação HP WHO/OMS 2008 42

Tabela 6. Classificação Funcional HP WHO 1998 46

Tabela 7. Prevalência de HP na DF em população pediátrica 49

Artigo

Tabela 1. Dados da população geral 81

Tabela 2. Dados Clínicos 83

Tabela 3. Comparação dos dados laboratoriais e epidemiológicos entre os grupos 84

Lista de Abreviaturas

AD – Átrio Direito

AF - Anemia Falciforme

AP-1 – Proteína Ativadora 1

ACVRL-1 – kinase receptor-like ativina 1

AVC – Acidente Vascular Cerebral

BMPR 2- receptor proteína morfogenética óssea 2

BNP – Peptídeo Cerebral Natriurético

CHCM – Concentração Hemoglobina Corpuscular Média

CSSCD – Cooperative Study Sickle Cell Disease

CO_2 – Dióxido de Carbono

DF – Doença Falciforme

ECG – Eletrocardiograma

ECD – Ecocardiograma Doppler

EDTC – Ecodoppler transcraniano

EH – Eletroforese de Hemoglobina

FvW – Fator von Willebrand

GGT – gama glutil-transferase

GMPc – guanina monofosfato cíclico

GTT – Gradiente trans tricuspide

HP – Hipertensão Pulmonar

HAP – Hipertensão Arterial Pulmonar

HAPI – Hipertensão Arterial Pulmonar Idiopática

Hb – Hemoglobina

HbF – Hemoglobina Fetal

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

HLA – Complexo de Histocompatibilidade

HPLC – Cromatografia líquida de alta performance

HU – Hidroxiuréia

ICAM -4 – Molécula de adesão intracelular 4

IL-1 – Interleucina 1

IL -10 – Interleucina 10

LDH – Lactato desidrogenase

NFkB – Fator Nuclear Kappa B

NHLBI – National Heart Lung, Blood Institute

NIH – National Health Institute

NO – Óxido Nítrico

NOS – Óxido Nítrico Sintase

O_2 – Oxigênio

OMS – Organização Mundial Saúde

PAD – Pressão átrio direito

PAP – Pressão Artéria Pulmonar

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PLGF – Fator de Crescimento Placentário

PMAP – Pressão Média Artéria Pulmonar

PRPS – Prophylactic Penecilin Study

PSAP – Pressão Sistólica Artéria Pulmonar

RDW – Largura de distribuição de eritrócitos

RNM – Ressonância Nuclear Magnética

RVP – Resistência Vascular Pulmonar

STA – Síndrome Torácica Aguda

STOP – Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia

SUS – Sistema Único de Saúde

TAC - Tempo de aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito

TAPSE - Excursão sistólica do plano anular da valva tricúspide

TC – Tomografia Computadorizada

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TCTH – Transplante de células Tronco Hematopoiéticas

TF – Traço Falciforme

TGF β – Fator de transformação do crescimento β

TGO – Transaminase glutâmico oxalacética

TGP - Transaminase glutâmico pirúvica

VCM – Volume Corpuscular Médio

VCAM-1 – Molécula de adesão celular vascular 1

VD – Ventrículo Direito

VEGF-1 – Fator de crescimento endotélio

VRT – Velocidade de Regurgitação Tricúspide

WHO – World Health Organization

Lista de Símbolos

α - alfa

β - beta

δ – delta

ε - épsilon

γ - gama

μ - mu

ζ - zeta

Sumário

Dedicatória

Agradecimentos

Resumo

Abstract

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Abreviaturas

Lista de Símbolos

Sumário

Introdução 13

Revisão de Literatura 18

1 Hemoglobinopatias 18

1.1 Talassemias 21

1.1.1 História e Epidemiologia 21

1.1.2 Definição e Classificação 22

1.1.3 α – Talassemia 23

1.1.4 β – Talassemia 26

1.2 Doença Falciforme 29

1.2.1 História e Epidemiologia 29

1.2.2 Fisiopatologia 32

1.2.2.1 Polimerização e Alteração da Membrana Eritrocitária 32

1.2.2.2 Aumento da Expressão de Moléculas de Adesão, Inflamação e Ativação da Coagulação 35

1.2.2.3 Hemólise e Alteração da Biodisponibilidade do Óxido Nítrico 36

1.2.3 Manifestações Clínicas 37

1.2.4 Diagnóstico 40

1.2.5 Tratamento 40

2 Hipertensão Pulmonar 42

2.1 Hipertensão Arterial Pulmonar 43

2.2 Considerações HAP em Pediatria 47

3 Hipertensão Pulmonar em Hemoglobinopatias.....47

Justificativa 54

Objetivos 55

Materiais e Métodos 56

Referências 59

Artigo 77

Conclusão 91

Anexo I - Ficha de Atendimento 93

Anexo II - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 94

INTRODUÇÃO

As Hemoglobinopatias fazem parte das doenças genéticas mais prevalentes no mundo, com uma alta incidência em países africanos, do mediterrâneo, Índia e sudeste asiático. São responsáveis por um alto impacto financeiro nos serviços de saúde pelo fato de serem doenças crônicas que necessitam de tratamentos contínuos por toda vida, e muitos casos necessitam inclusive de transfusão crônica. Por ter uma prevalência maior em países subdesenvolvidos, onde o acesso da população ao sistema de saúde é precário, estes pacientes apresentam uma elevada morbi-mortalidade ainda na primeira infância (WEATHERALL, 2010).

A Hemoglobina (Hb) é um tetrâmero de cadeias globínicas, constituído por duas cadeias alfa (α) e duas cadeias beta (β). Cada uma destas apresenta um grupo heme que se liga reversivelmente a uma molécula de oxigênio, sendo então responsável pelo transporte deste aos tecidos periféricos. As alterações na estrutura da Hb podem estar associadas à cadeia α, que se localiza no cromossoma 16, ou β, que se localiza no cromossoma 11. Classicamente podem ser divididas em alterações quantitativas, conhecidas como Talassemias, ou qualitativas como a Doença Falciforme (DF) (FORGET E BUNN, 2013).

As talassemias foram descritas inicialmente em 1925 por Cooley, e são alterações quantitativas na produção da cadeia α (α – talassemia) ou na cadeia β (β - talassemia). Com a redução ou ausência de uma destas cadeias, ocorre a formação de Hbs instáveis, que se precipitam dentro da célula, levando a um processo chamado de eritropoiese ineficaz. Ocorre então um quadro de anemia hemolítica crônica, com necessidades transfusionais que provocam uma sobrecarga sistêmica de ferro, uma das principais complicações desta doença (GALANELLO E ORIGA, 2010).

Já a DF consiste em uma alteração qualitativa do gene da β globina. Uma mutação pontual na posição seis com substituição de um códon. Esta alteração leva a produção da HbS. A DF foi primeiramente descrita em 1910, e considerada a primeira doença molecular descrita. Desde então, muitas descobertas foram feitas em relação à fisiopatologia desta doença, conforme tabela abaixo (FRENETTE E ATWEH, 2007).

Tabela 1. Principais descobertas relacionadas à DF no último século.

ANO	DESCOBERTA	IMPORTANCIA	AUTOR
1910	Eritrócito Falciforme	Primeira descrição da Doença	Herrick
1924	Hemólise	Explicação para o quadro clínico de icterícia, anemia, colelitíase	Syndenstricker
1924	Vaso-oclusão	Explicação para lesão isquêmica e crises álgicas	Graham
1948	Ausência de sintomas em infantes	Efeito benéfico da HbF	Watson
1949	Mobilidade eletroforética diferente da HbS	Associou a fisiopatologia com a base molecular	Pauling
1949	Identificado Forma de herança	Permite o aconselhamento genético	Neel
1958	Diferença da HbS e da HbA	Mecanismo molecular identificado	Ingram
1977	Sequenciamento do gene da B-globina	Identifica a alteração de aminoácido responsável pela doença	Marotta
1984	TMO para Anemia Falciforme	Único tratamento curativo	Johnson
1986	CSSCD – identifica fatores de risco e mortalidade	Uso penicilina profilática	Gaston
1995	Eficácia da Hidroxiuréia	Droga modificadora da doença	Charache
1998	Uso de transfusão para prevenir AVC	Redução ocorrência AVC	Adams

(Adaptado de REES *et al*., 2010).

Esta Hb quando em elevada concentração e desoxigenada se polimeriza, levando a formação de fibras alongadas dentro do eritrócito, que danificam a sua membrana, e levam à perda da sua capacidade de deformação. Este processo é responsável por uma das principais características desta doença – as crises de vaso-oclusão. A outra importante característica é a presença de anemia hemolítica crônica, que está associada a alterações da membrana eritrocitária (REES *et al*., 2010).

A DF pode estar presente em homozigose (HbSS ou Anemia Falciforme) ou heterozigose associada a outras alterações qualitativas da Hb como a HbC, HbE, HbD

ou com a alfa e beta- talassemia. A gravidade da doença está associada ao genótipo, sendo a homozigose e a HbS/β - talassemia as formas mais graves. No entanto, existe uma variedade fenotípica muito grande dentro deste grupo, que está associado basicamente aos níveis de HbF, ao grau de hemólise e a contagem leucocitária (KHONE, 2011).

Entre as manifestações clínicas das hemoglobinopatias, temos as associadas a vaso-oclusão como crises álgicas, síndrome torácica aguda e osteonecrose e as associadas à hemólise e disfunção endotelial como anemia, úlceras de membros, acidente vascular cerebral (AVC) e hipertensão pulmonar (HP).

Dentre as condições citadas acima, algumas tem elevada morbi-mortalidade, como é o caso da HP. Estima-se que 20-40% da população adulta com anemia falciforme tenha hipertensão (GLADWIN *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2005; ATAGA *et al.*, 2006), mesmo que sem manifestação clínica. Já na população pediátrica esta prevalência é pouco conhecida, variando de 8,3% a 46,15% (AMBRUSKO *et al.*, 2006; NELSON *et al.*, 2007; ONYEKWERE *et al.*, 2008; PASHANKAR *et al*., 2009; SEDRAK *et al*., 2009; SUELL *et al*., 2005). Estima-se ainda que a taxa de mortalidade em pacientes adultos ao longo de dois anos seja de 17%, e ao longo de 40 meses de 40% (CASTRO *et al*., 2003; GLADWIN *et al*., 2008). A HP tem ainda sido identificada como a causa mais comum de morte em autópsias (DARBARI *et al*., 2006). No entanto, na população pediátrica parece não estar relacionada com risco de morte (LEE *et al*., 2009). Recentemente, tem sido associada a aumento de morbidade na população pediátrica (MORRIS, 2011; KLINGS *et al*., 2014)

A HP é definida pelo National Heart Lung and Blood Institute/ Nacional Institutes of Health (NHLBI/NIH), European Society of Cardiology (ESC), European

Respiratory Society (ERS) e pela Sociedade Brasileira de Cardiologia como uma pressão média na artéria pulmonar (PMAP) ≥25mmHg, medida por cateterização cardíaca como padrão ouro (D'ALONZO *et al*., 1991; GALIÉ *et al*., 2009; GUIMARÃES E LOPES, 2005). Como este é um procedimento invasivo, a pressão na artéria pulmonar pode ser calculada através da velocidade de regurgitação tricúspide (VRT) por ecocardiograma transtorácico com Doppler (HOWARD *et al*., 2012, RUDSKI *et al*., 2010).

A etiologia da HP nos pacientes com DF é multifatorial, estando principalmente relacionada com o grau de hemólise intravascular. A Hb livre no plasma leva à destruição do óxido nítrico (NO), aumento da arginase e endotelina -1 e ativação plaquetária. Junto com a hipoxemia ocorre aumento da eritropoetina e do fator de crescimento endotélio vascular (VEGF-1), resultando em vasoconstricção, proliferação e trombose (MACHADO E GLADWIN, 2005; MORRIS, 2014).

Clinicamente se manifesta como dispnéia aos esforços e fadiga, sintomas que já fazem parte do quadro clínico do paciente com anemia, dificultando a suspeita clínica e limitando a qualidade de vida destes pacientes. Sepse ou bacteremia, história prévia de síndrome torácica aguda (STA) e asma ou doenças pulmonares obstrutivas são considerados alguns dos possíveis fatores de risco para desenvolvimento de HP em crianças (HAGAR *et al*., 2008).

O tratamento da HP é baseado na intensificação do tratamento para DF, ou seja, na utilização de hidroxiuréia (HU) que reduz as crises de dor, episódios de STA e mortalidade geral, e na utilização de esquemas de transfusão crônica, que diminuem a síntese de células falcêmicas e reduzem o risco de complicações (STEINBERG *et al*., 2003). Recentemente têm sido testados outros medicamentos específicos para controle

da HP, como é o caso do sildenafil, l-arginina e antagonistas do receptor de endotelina, não havendo, no entanto, avaliação na população pediátrica (MINNITI *et al*., 2009; MORRIS *et al*., 2003).

Revisão de Literatura

1 Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias fazem parte das doenças monogênicas mais prevalentes no mundo. Estima-se que aproximadamente 7% da população mundial seja heterozigota para alguma hemoglobinopatia, e que 300.000 a 400.000 crianças nascem com doença severa a cada ano (WEATHERALL, 2010; WHO 2011; KHONE, 2011). Já foram documentadas mais de 1500 mutações nos genes das cadeias globínicas, gerando hemoglobinas (Hb) variantes ou defeitos quantitativos (http://globin.bx.psu.edu). Um dos grandes motivos desta alta prevalência é a seleção positiva provocada pela malária. Por causar alterações estruturais nos eritrócitos, a presença de Hb variantes ou talassemia dificultam a infecção e crescimento do *plasmodium falciparum*, levando a sobrevivência dos heterozigotos (PIEL *et al.*, 2010; WILLIAMS, 2011). Além disso, estas doenças são frequentes em países de baixo desenvolvimento, onde os casamentos consanguíneos ainda são comuns, aumentando a frequência do gene. A transição epidemiológica é outro fator importante que mantém a alta frequência destes genes, já que as melhorias na saúde pública levam a um maior número de diagnósticos, possibilitando que crianças que antes morreriam por essas condições recebam o diagnóstico e tratamento adequado (WILLIAMS E WEATHERALL, 2012). Representam ainda a forma mais comum de anemia hemolítica hereditária junto com a deficiência de glicose 6-fosfato desidrogenase (SONATI E COSTA, 2008).

As hemoglobinopatias resultam de mutações que podem afetar tanto a sua estrutura, produzindo as Hb variantes (Ex: HbS, HbC, HbD, HbE entre outras), como a síntese das cadeias beta (β) ou alfa (α), levando às talassemias. Pode ocorrer ainda a combinação destas mutações levando a alterações de estrutura e síntese como é o caso da HbS/β -

talassemia (FORGET E BUNN, 2013). São originalmente prevalentes em países do mediterrâneo, Ásia e África, como pode ser verificado nas tabelas e Figura 1. , assim como nos países para onde estas populações migraram ao longo dos anos, como é o caso do Brasil. No estado do Rio Grande do Sul foi estimado que cerca de 1,4% da população apresenta padrão hemoglobínico alterado através de análise pelo teste do pezinho (SOMMER *et al*., 2006).

Tabela 2. Prevalência de Heterozigotos de Hemoglobinopatias no Mundo

Região	**Heterozigotos**
África	5-30%
Nações Árabes e Sudeste Asiático	5-40%, Atingindo 60-70% regionalmente
Ásia Central e Índia	10-20%
EUA e América Central	5-20%
Itália	7-9%
Grécia	6-7%
Turquia	7-10%
Europa Ocidental e Escandinávia	1-5%

(Adaptado de KOHNE, 2011).

Tabela 3. Numero de nascimentos por Hemoglobinopatia

Hemoglobinopatia	**N^{o} nascimento anual**
Beta talassemia maior	22.969
HbE/ beta-talassemia	19.128
Doença HbH	9.668
HbBart's	5.183
Anemia Falciforme	217.331
S/ beta-talassemia	11.074
Doença SC	54.736

(Adaptado de WEATHERALL, 2011).

A Hb é um heterotetrâmero constituído por 2 cadeias α-like e 2 cadeias β-like. Os genes da cadeia α se localizam no cromossoma 16 e os da cadeia β no cromossoma 11 (Figura 2.). Durante o período embrionário produzimos as Hb Gower I ($\zeta_2\varepsilon_2$), Gower II ($\alpha_2\varepsilon_2$) e Portland I($\zeta_2\gamma_2$), que progressivamente vão sendo substituídas pela Hb Fetal ($\alpha_2\gamma_2$). Esta é a principal Hb presente na vida fetal, e após o nascimento tende a regredir, atingindo seus valores normais definitivos próximo aos 6 meses de vida (SONATI E COSTA, 2008). O padrão de Hb normais avaliado através da eletroforese de

hemoglobinas (EH) após esse período é constituído por HbA ($\alpha_2\beta_2$) 96%, HbA_2 ($\alpha_2\delta_2$) 2-3% e HbF 0-2% (figura 3.). A HbA é um tetrâmero constituído por 2 cadeias α e 2 cadeias β, cada um associado a um grupo heme, que se liga reversivelmente a uma molécula de oxigênio (O_2), sendo então responsável pelo transporte de O_2 aos tecidos periféricos (figura 4.)

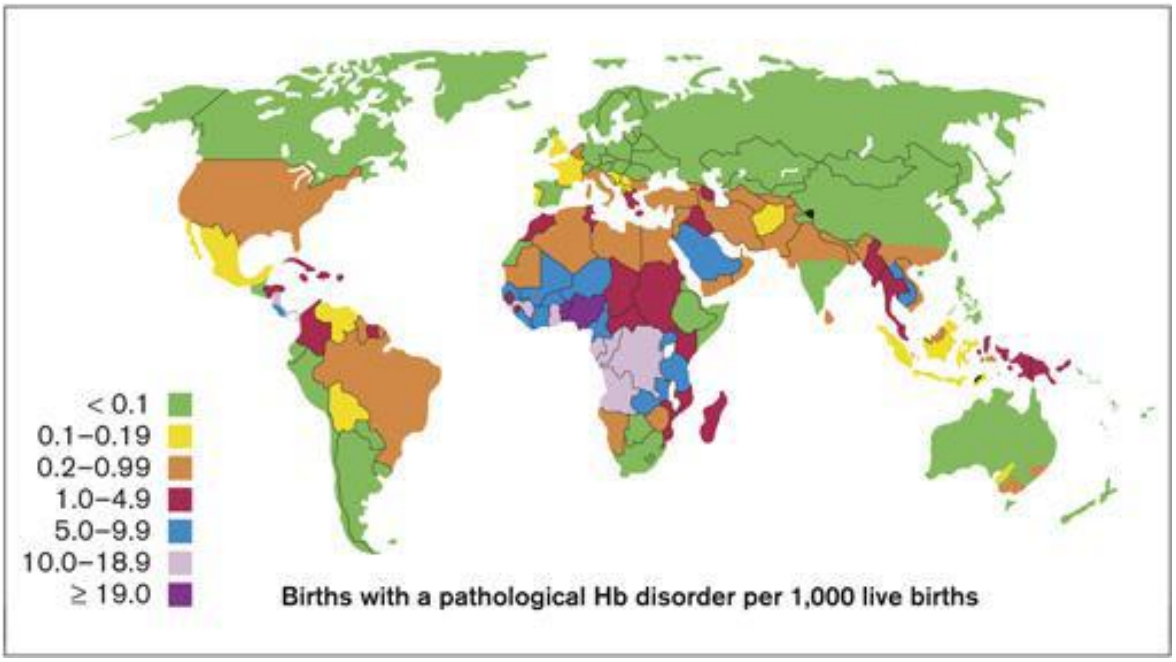


Figura 1. Distribuição Mundial de Hemoglobinopatias por 1000 nascidos vivos.
(Fonte: WHO, 1996).

Classicamente as crianças com este diagnóstico morriam precocemente, ainda na primeira década de vida devido às suas complicações. Estima-se que aproximadamente 3,4% das mortes em crianças menores de cinco anos se devam a essas doenças (MODELL E DARLISON, 2008). Com a melhoria nos métodos diagnósticos, principalmente após a implantação do rastreamento pelo teste do pezinho, e do entendimento da fisiopatologia, as novas abordagens terapêuticas têm permitido uma melhora significativa na morbi-mortalidade das hemoglobinopatias.

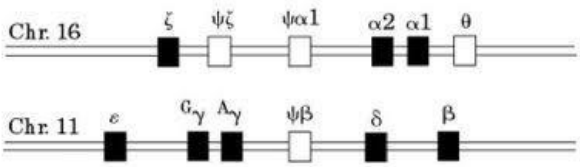


Figura2. Cromossomas das cadeias α e β da globina

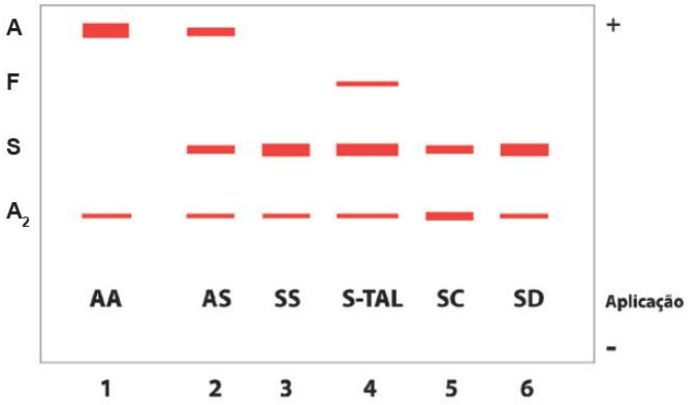


Figura 3. Eletroforese de Hemoglobina evidenciando a diferença de migração da HbA, HbA_2, HbS e HbF, possibilitando o diagnóstico das diferentes hemoglobinopatias. Paciente 1 com padrão HbA/HbA2 (normal), 2 com padrão HbAs (traço falciforme), 3 com padrão HbSS (Anemia Falciforme), 4 com padrão HbS/F/A2 (HbS/talassemia), 5 e 6 com padrões de HbS associada a variantes (HbC e HbD). (Fonte: Ministério da Saúde, 2012)

1.1Talassemias

1.1.1 História e Epidemiologia

Em 1925 foi descrito por Cooley e Lee uma anemia crônica e fatal da infância, com hipocromia, microcitose e presença de células em alvo, posteriormente denominada de anemia de Cooley ou anemia do Mediterrâneo. Aproximadamente 15 anos depois em 1940, foi descrito por diversos autores concomitantemente (Wintrobe, Mathews, Pollack, Dobyns, Strauss, Daland, Fox e Damesheck) uma anemia similar, porém com melhor prognóstico (NEEL E VALENTINE, 1946). Em 1955 foi relatado por Rigas, Koler e Osgood, uma Hb variante com características semelhantes a dos pacientes com talassemia, a Hemoglobina H (HbH) (BINGLE *et al.*, 1958). E nesse mesmo ano

ZUELZER *et al*. postulou a possibilidade de existirem dois genes diferentes associados à talassemia. Em 1958, Rinesmith, Shroeder e Martin descreveram a existência das cadeias α e β da HbA (HILL RJ *et al.*, 1962), e desta forma, em 1959 Ingram e Stretton associaram a talassemia às cadeias α e β da Hb (Figura 4.).

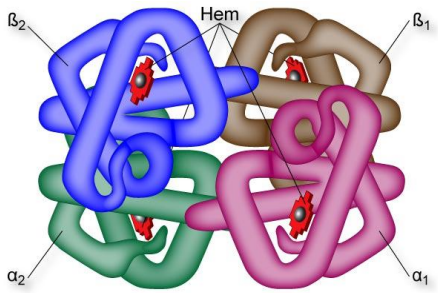


Figura 4. Cadeia de Hemoglobina

O termo talassemia tem origem do grego talassa (mar) e haima (sangue). São doenças originárias de populações do Mediterrâneo – Itália, Grécia e Turquia, e Sudeste Asiático. Com a migração dessas populações, se espalhou para outros locais, como o Brasil, principalmente na região sudeste do país, onde a frequência de portadores de beta talassemia na população caucasóide é de aproximadamente 1% (SONATI E COSTA, 2008). Estima-se que nasçam aproximadamente 56.000 crianças com a forma grave da doença no mundo, sendo que dessas 30.000 necessitariam de transfusão crônica (MODELL E DARLISON, 2008).

1.1.2 Definição e Classificação

As talassemias têm herança predominantemente autossômica recessiva, e consistem em defeitos quantitativos na síntese das cadeias globínicas. São divididas em α e β de acordo com a cadeia que tem sua produção diminuída ou ausente. Desta forma, na α-talassemia ocorre uma deleção parcial α^+ ou total α^0 de um ou mais dos quatro genes da

α-globina, levando a um acúmulo de cadeias β. Na β-talassemia ocorre diminuição na cadeia da β-globina, com acúmulo das cadeias α (FORGET E BUNN, 2013).

O desequilíbrio entre as cadeias de globina forma Hbs instáveis, que precipitam dentro das células eritróides. Ocorre lesão da membrana eritrocitária com destruição precoce dos eritrócitos, processo denominado eritropoiese ineficaz. Provoca ainda hemoglobinização deficiente causando hipocromia e microcitose. Junto com a hemólise estas são as bases fisiopatológicas da talassemia (KOHNE, 2011). Podem ser divididas conforme Tabela 4.

Tabela 4. Fenótipos talassêmicos e seus respectivos genótipos.

Diagnóstico / Fenótipo	**Gene globina**	**Padrão EH**
Heterozigoto α+ - talassemia ou talassemia mínima	-α/αα	Normal
Homozigoto α+ - talassemia ou talassemia menor	-α/-α	Normal
Heterozigoto α^0 - talassemia ou talassemia menor	--/αα	Normal
Heterozigoto misto α+/α^0 - talassemia ou doença HbH	--/-α	HbH
Homozigoto α^0 - talassemia ou Hb Bart's ou Hidropsia Fetal	--/--	Hb Bart's
Heterozigoto β-talassemia menor/traço	β+, β0	HbA_2 > 3,2%, HbF 0,5-6%
Homozigoto ou Heterozigoto misto - β-talassemia intermédia	β+/ β+, β+/ β0	HbA_2 variável, HbF até 100%
Homozigoto ou Heterozigoto misto - β-talassemia maior	β+/ β0, β0/ β0	HbA_2 variável, HbF 70-90%

(Adaptado de KOHNE, 2011).

1.1.3 α - Talassemia

O gene da α-globina se localiza no cromossoma 16 (16p13.3), e a α-talassemia é mais comumente causada por deleções de um ou mais destes genes, e mais raramente pelas mutações pontuais, sendo que esta última provoca fenótipo mais grave (FUCHAROEN E VIPRAKASIT, 2009). São herdadas seguindo o padrão mendeliano, e atualmente existem aproximadamente 128 defeitos moleculares descritos que podem causar a doença, e estima-se que em algumas regiões a prevalência de heterozigotos chegue a 80-90%, principalmente em regiões tropicais e subtropicais, coincidindo com os locais onde a malária é endêmica (HARTEVELD E HIGGS, 2010). No Brasil, a

maior prevalência se encontra entre as populações afro descendentes e de descendência européia, sendo estimado próximo a 20% de heterozigotos e 2% de homozigotos (WAGNER *et al.*, 2010).

Manifestações clínicas de cada grupo fenotípico da α-talassemia, conforme tabela acima:

- α-talassemia mínima ou portador silencioso, com deleção de apenas 1 dos quatro genes da α-globina. Manifesta-se com anemia discreta e leve hipocromia geralmente vistos em exames de rotina e sem sintomas associados (VICHINSKY, 2013).

- α-talassemia menor ou traço, com anemia leve, hipocromia e microcitose geralmente assintomática. Esta forma pode ser a homozigose α^+, com a deleção de um gene em cada cromossomo, também conhecida como forma *trans*, mais comum nos afrodescendentes, ou a heterozigose α^0, com a deleção de ambos os genes do mesmo cromossomo, ou *cis*, mais prevalente em populações asiáticas (FORGET E BUNN, 2013).

- Doença da HbH (β_4), se apresenta com anemia hemolítica hipocrômica moderada, hemoglobina próxima a 8,5g/dl, e esplenomegalia (VICHINSKY, 2013). Geralmente estes pacientes produzem menos de 30% de α-globina. Podem apresentar retardo de crescimento, icterícia com episódios de hemólise aguda, cálculos biliares e úlceras de membros inferiores. Recentemente alguns autores vêm investigando a presença de Hipertensão Pulmonar (HP) nesta população com uma prevalência estimada de 6% (YIN *et al*., 2013). A HbH tem alta afinidade pelo O_2 e é extremamente instável se precipitando dentro da célula, provocando danos à membrana com redução da sobrevida média da hemácia. Ocorre ainda morte intramedular de eritroblastos levando

à eritropoiese ineficaz e exposição de fosfatidilserina na membrana da célula vermelha, o que aumenta o risco de trombose (VICHINSKY, 2013).

- Doença de Bart's que consiste na ausência de produção da cadeia α, neste caso são produzidas Hb não funcionais γ_4 (Hb Bart's) e eventualmente a Hb embrionária Portland ($\zeta_2\gamma_2$). A Hb Bart's tem alta afinidade pelo O_2, não liberando este para os tecidos, portanto provoca um quadro de hipóxia generalizada (FORGET E BUNN, 2013). Leva a uma anemia hemolítica grave intra-útero, com hidropsia, ascite e falência cardíaca, sendo quase sempre fatal intra-útero ou nas primeiras horas pós-parto se não for imediatamente tratada com transfusões ou transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) (THORNLEY *et al.*, 2003, YI *et al*., 2009).

Podemos ainda ter a associação da α-talassemia com outras Hb variantes como a Hb Constant Springs (CS), Parksé (PS) e HbE, além da associação com a β-talassemia.

O diagnóstico das α-talassemias é feito basicamente através do hemograma completo, que evidencia anemia hipocrômica, com a hemoglobina corpuscular média (HCM) baixa, microcítica, avaliada através de um volume corpuscular médio (VCM) baixo, e da EH que evidencia presença da HbH e Hb Bart's. Quando há diminuição da HbA_2 pode sugerir a presença de traço talassêmico. Por ser instável, a HbH pode não aparecer na EH, sendo indicado a realização da cromatografia líquida de alta performance (HPLC) em populações de alto risco (VICHINSKY, 2013). No esfregaço de sangue periférico corado com azul cresil brilhante 1%, evidenciam-se as inclusões intracelulares de Hb precipitada, os corpos de Heinz (Figura 5.). Existem ainda as técnicas de análise molecular como o *southern blotting* e o sequenciamento, que são capazes de avaliar quase todos os rearranjos, e existem as técnicas que avaliam as

mutações/deleções mais comuns como o Gap-PCR (reação em cadeia da polimerase) (HARTEVELD E HIGGS, 2010) .

O traço talassêmico e a α-talassemia mínima não exigem tratamento, pois geralmente são assintomáticas. Na doença da HbH os pacientes podem requerer transfusões intermitentes, e eventualmente esplenectomia. De forma geral não necessitam de terapia de quelação de ferro. A reposição de ácido fólico está indicada. As principais complicações destes pacientes são as crises hemolíticas, geralmente associadas a episódios infecciosos, e nesses casos devem receber transfusão imediata, junto com antibioticoterapia adequada (FUCHAROEN E VIPRAKASIT, 2009). Na doença de Bart's, quando o diagnóstico é feito intra-útero, o feto pode ser abortado. Se a gestação prossegue, o uso de transfusão intra-útero pode permitir o nascimento de um feto não hidrópico, porém com período peri-natal conturbado e alta prevalência de malformações de membros e urogenitais (WEATHERALL DJ, CLEGG JB. 2001, VICHINSKY, 2013). Nestes casos existe a opção de realizar TCTH (THORNLEY I *et al.* 2003).

1.1.4 β - Talassemia

O gene da β–globina está situado no cromossoma 11, e existem aproximadamente 200 mutações relatadas associadas a β-talassemia, sendo a maioria mutações pontuais (GALANELLO E ORIGA, 2010). O fenótipo da doença está associado ao tipo de mutação, algumas deleções, por exemplo, aumentam a produção de HbF, levando a um quadro mais brando. É possível determinar três fenótipos clínicos importantes (NIENHUIS E NATHAN, 2012):

- β-talassemia menor ou traço: anemia discreta, principalmente em situações de estresse fisiológico.

- β-talassemia intermédia: abrange um espectro de fenótipos clínicos, uma anemia moderada com Hb de 7-9g/dl, não apresentando necessidade de transfusão crônica. Está associado a homozigotos β^+ ou heterozigotos.

- β-talassemia maior: anemia grave, com Hb < 7g/dl, podendo apresentar fadiga, insuficiência cardíaca congestiva, retardo crescimento, esplenomegalia e anormalidades ósseas. São dependentes de transfusão crônica.

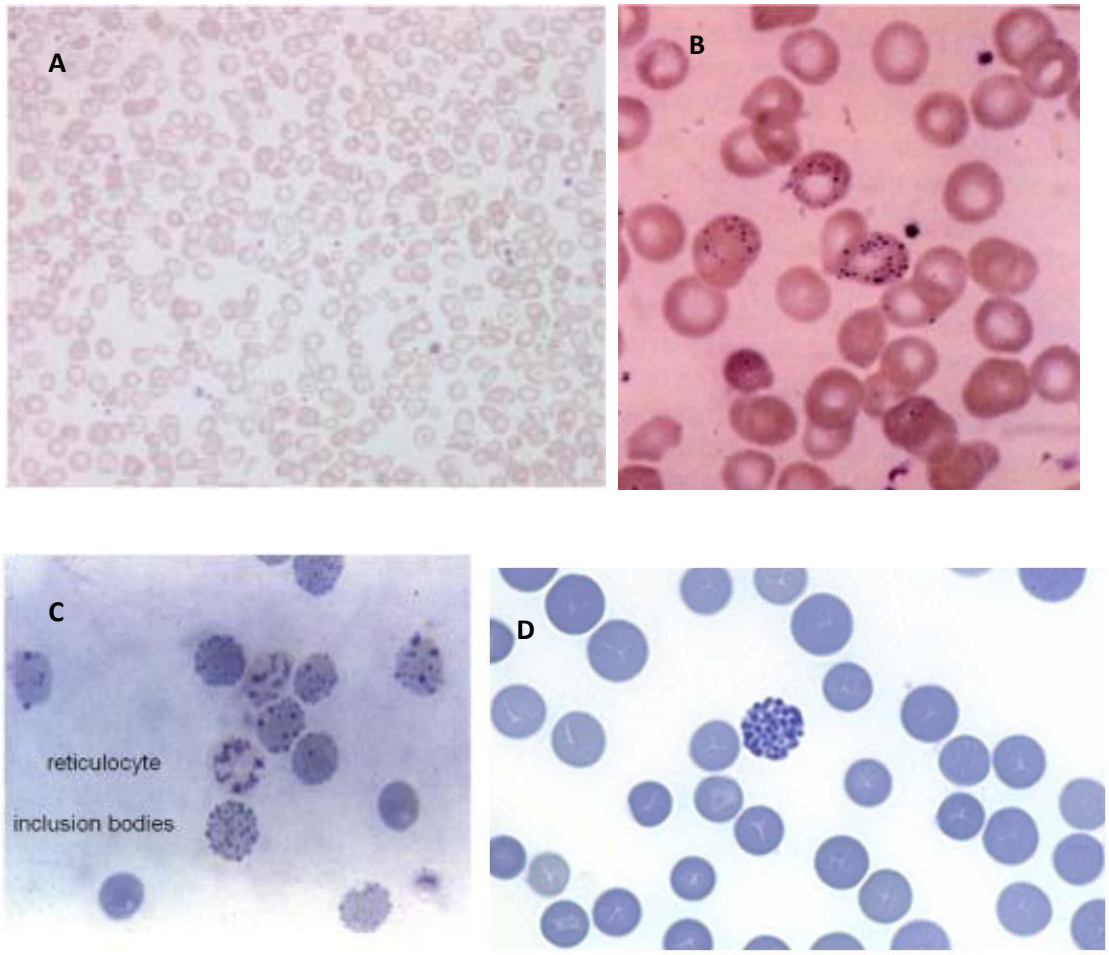


Figura 5. Alterações Hematológicas nas Talassemias. A. Esfregaço de sangue periférico evidenciando a presença de hipocromia, microcitose e células em alvo. B. presença de pontilhado basofílico – corpúsculos de Heinz. C e D. Esfregaço de sangue periférico corado com azul de cresil brilhante evidenciando a diferença entre os reticulócitos e os precipitados de Hemoglobina.

A redução (β^+) ou ausência (β^0) da produção da cadeia β levam ao acúmulo da cadeia α, que igualmente se precipitam dentro dos precursores eritróides na medula

óssea, danificam a membrana eritrocitária e desencadeiam a apoptose, levando a eritropoiese ineficaz. A conseqüente anemia serve de estímulo para produção de eritropoietina que promove expansão da medula óssea, podendo chegar até 30 vezes o volume normal, provocando osteopenia e aumento da absorção intestinal de ferro com conseqüente sobrecarga (RIVELLA, 2012). Este quadro é o principal responsável pelas características físicas dos pacientes β–talassêmicos, como a deformação dos ossos longos, depressão da ponte nasal, proeminência do malar e hipertrofia do maxilar expondo a arcada dentária superior. Ocorre ainda retardo de crescimento, palidez, icterícia, hepatoesplenomegalia, geno valgo e úlceras de perna (GALANELLO E ORIGA, 2010). Apresentam também riscos associados á hemólise crônica, como desenvolvimento de HP (HAGAR, 2006; MORRIS *et al.*, 2013, YIN *et al*., 2013; FARMAKIS E AESSOPOS, 2011; MACHADO E GLADWIN, 2010), e complicações secundárias à sobrecarga de ferro, já que quase sempre necessitam de transfusões regulares. Temos ainda a presença de ativação plaquetária e aumento da aderência destas, levando à um risco de eventos tromboembólicos, quadro que se agrava nos pacientes esplenectomizados (MUSALLAM e*t al.*, 2012)

Podemos ainda ter a associação da β-talassemia com outras Hb variantes, sendo o mais comum a HbS/β-talassemia e a HbE/β-talassemia.

O diagnóstico da β-talassemia é feito principalmente através da história familiar e clínica. O paciente se apresenta com anemia microcítica, Hb entre < 7g/dl para maior e entre 7-9 g/dl na intermédia, VCM < 70 fl, HCM < 20 pg, icterícia e hepatoesplenomegalia. O esfregaço de sangue periférico evidencia anisocitose e poiquilocitose com presença de eritroblastos (Figura 5). A EH ou HPLC evidencia aumento de HbF próximo a 70-90%. Devido ao número baixo de mutações em cada

população, é possível realizar a análise molecular com PCR ou sequenciamento genético (GALANELLO E ORIGA, 2010).

O tratamento consiste basicamente nas transfusões regulares, que são indicadas para os pacientes com anemia grave (<7g/dl) com intuito de corrigir a anemia, reduzir a eritropoiese e a absorção de ferro pelo trato gastrointestinal (NIENHUIS E NATHAN, 2012; GALANELLO E ORIGA, 2010). Devem ser realizadas com uma frequência a cada 2-4 semanas, com máximo de 15-20ml/kg/dia. Em decorrência das transfusões, a principal complicação é a sobrecarga de ferro, que leva a um quadro de hipogonadismo, hipotireoidismo, hipopituitarismo, diabetes, fibrose hepática e disfunção cardíaca (NIENHUIS E NATHAN, 2012). A avaliação da sobrecarga de ferro deve ser feito com dosagem de ferritina, e pode ser confirmada através de biópsia hepática. Considera-se como critério para iniciar o tratamento com quelantes de ferro como a desferroxamina ou o deferasirox uma ferritina > 1000ng/ml ou acima de 10-20 transfusões. O único tratamento curativo é o TCTH alogênico, com uma sobrevida livre de doença de aproximadamente 90% para transplante aparentado HLA compatível (LUCARELLI *et al.*, 2012; MEHTA E FAULKNER, 2013).

1.2 Doença Falciforme

1.2.1 História e Epidemiologia

A Doença Falciforme (DF) é uma entidade clínica que engloba uma série de patologias com alterações estrutarais da Hb, caracterizada essencialmente pela presença da HbS. Apesar de sua existência secular, só foi relatada como entidade nosológica no século XX.

Em 1910 foi descrito o caso de um paciente negro de 20 anos, natural de Granada, no Caribe, admitido no hospital por quadro de tosse e febre, com história prévia de

icterícia, dispnéia, fraqueza, úlceras crônicas de membros inferiores e “reumatismo muscular”. Em análise de sangue periférico o Dr. James B. Herrick, junto com Ernest E. Irons observou a presença de eritrócitos finos, alongados em forma de foice (HERRICK, 1910) (Figura 6). Após este relato, outros casos foram descritos com as mesmas características, Washburn em 1911, Cook e Meyer em 1915 (SAVITT, 1997), e apenas em 1922, Mason utilizou o termo Anemia Falciforme (AF) pela primeira vez para descrever a patologia (MASON, 1922). No Brasil, o primeiro relato de AF foi feito pelo Dr. Alvaro Serra de Castro em 1934, quando descreveu o caso de 5 crianças negras com a patologia. Em 1945 Linus Pauling hipotetizou que a doença poderia ser secundária a um defeito na molécula da Hb, e em 1949 ele descreveu a diferença de migração da HbS em gel de eletroforese (PAULING *et al.*, 1949). Neste mesmo ano foi verificada a herança autossômica recessiva da doença (NEEL, 1949). Em 1953 Kaplan e colaboradores identificaram outra Hb variante associada com a HbS, a HbC (KAPLAN *et al.*, 1953). Em 1958 Ingram descobriu que a HbS diferia da HbA por uma alteração de um único aminoácido, e desde então a AF tem sido considerada a primeira doença molecular descrita (FRENETTE E ATWEH, 2007). Mas foi apenas em 1977 com o sequenciamento do gene da β globina que se verificou que a alteração presente era a substituição de um códon GAG por um GUG (ácido glutâmico → valina) na posição 6 (MAROTTA *et al.*, 1977).

A DF pode estar presente em homozigose (HbSS ou AF), ou em heterozigose (Ex: HbSC, HbSβ-talassemia). Vale a pena ressaltar que a heterozigose HbSA, ou traço falciforme (TF), não se enquadra nesta classificação, pois estes pacientes não apresentam as manifestações clínicas e bioquímicas da DF (STEINBERG, 2008; SERJEANT, 2013)

A mutação pontual da AF faz com que a HbS quando desoxigenada e em elevada concentração se polimerize, assumindo a forma de uma foice (figura 8). A hemácia se torna rígida e não deformável, levando a um quadro clínico de anemia hemolítica com eventos vaso-oclusivos, base fisiopatológica da doença (SONATI E COSTA, 2008). O genótipo é o fator de risco mais importante para a severidade da doença, sendo os pacientes em homozigose mais afetados, seguidos da HbSβ^{o}-talassemia (ASHLEY-KOCH *et al*., 2000; BUNN *et al*., 2010).

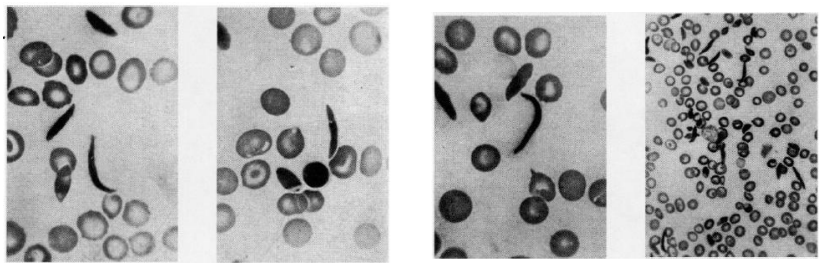


Figura 6. Esfregaço de sangue periférico do 1º relato de paciente com anemia falciforme, evidenciando células em foice, associados a hipocromia, células em alvo e presença de alguns reticulócitos (Fonte: HERRICK, 1910).

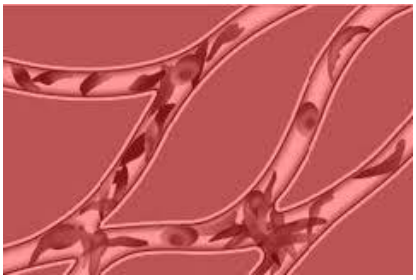


Figura 7. Vaso-oclusão na DF. Exemplificação do fenômeno de vaso-oclusão na micro-circulação secundário ao formato anormal da célula falciforme e da sua perda de deformabilidade.

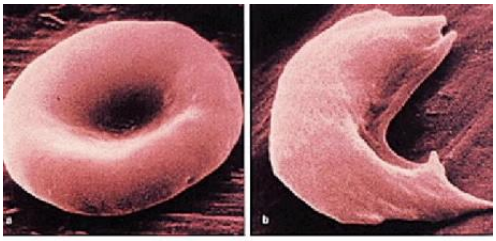


Figura 8. Hemácea normal x Falcêmica. Diferença de formato e disposição da hemácia falcêmica após dano permanente à membrana celular.

Estima-se que nasçam cerca de 275.000 crianças portadoras de formas graves da doença no mundo (MODELL E DARLISON, 2008), com uma taxa de 2,3:1000 nascidos vivos. A população afro descendente apresenta maior risco para a mutação, sendo que em alguns locais da África subsaariana 40-60% da população apresenta o TF (GLADWIN E VICHINSKY, 2008). As populações mediterrâneas, caribenhas, sul americanas, além da Arábia e Índia também estão em risco aumentado para a mutação (ASHLEY-KOCH *et al*., 2000). O traço está presente em 2-6% da população brasileira e em 6-12% dos afro descendentes (ARAÚJO, 2007). A incidência de nascidos vivos com TF varia de 1:17 na Bahia (BA) até 1:65 no Rio Grande do Sul (RS), e a incidência da DF varia de 1:11.000 no estado do RS até 1:650 nascidos vivos na BA (CANÇADO E JESUS, 2007). Em estudo realizado no RS, foi verificada a prevalência de 1,2% do gene da Hb S e 0,4% da HbC em triagem neonatal (DAUDT et al., 2002).

1.2.2 Fisiopatologia

A fisiopatologia da DF é complexa, o processo de polimerização causa múltiplas alterações dentro das células, como desidratação e redução da deformabilidade que levam a eventos vaso-oclusivos, e fragilidade dos eritrócitos o que encurta a sua sobrevida na circulação levando à hemólise (figura 7.). Além dos fatores relacionados ao eritrócito, existem alterações inflamatórias, alteração do endotélio vascular, ativação plaquetária e da cascata de coagulação, com aumento da expressão de moléculas de adesão, que contribuem para o quadro clínico da doença.

1.2.2.1 Polimerização e alteração da membrana eritrocitária

A presença da valina no lugar do ácido glutâmico faz com que a molécula de Hb que tem seus resíduos externos polares, o que lhe confere solubilidade prevenindo as interações intermoleculares, passe a ser hidrofóbica, permitindo as interações

intermoleculares e levando à polimerização quando desoxigenada (REES *et al*., 2010; SONATI E COSTA, 2008; BUNN, 1997). O polímero forma fibras helicoidais alongadas que quando agrupadas enrijecem, dando o formato característico da célula falciforme. Esta alteração interfere com uma das características fundamentais do eritrócito, a sua deformabilidade (STUART E NAGEL, 2004).

A hemácia leva menos de 1 segundo para atravessar a microcirculação. Este tempo é chamado de tempo de trânsito pela microcirculação. A polimerização é um processo iniciado por nucleação, que tem um tempo de latência até a formação do núcleo central, no qual apenas cerca de 5% das hemácias sofrem falcização. Para que a hemácia S adquira seu formato de foice é necessário um tempo maior de passagem pela microcirculação, ou uma redução no tempo de latência, do contrário, ocorreria uma vaso-oclusão generalizada. Desta forma, qualquer fator que interfira com o tempo de passagem pela microcirculação ou com o tempo de latência potencializa a polimerização (BUNN, 1997; STUART E NAGEL, 2004; ODIÉVRE, 2011).

- Fatores que reduzem o tempo de latência do eritrócito:

1) o grau e velocidade de desoxigenação.

2) a concentração intracelular de Hb. Quanto maior a concentração intracelular de HbS, maior a chance de polimerizar. Parece haver efeito protetor da associação com a α-talassemia, pois havendo uma diminuição na produção das cadeias α, a concentração celular de Hb é menor, tornando as hemácias menores e mais deformáveis (POWARS *et al*., 1990).

3) a presença de HbF. Quanto mais HbF, menor a chance de polimerizar. Este fato foi verificado em 1948 pela observação da Dra. Watson de que pacientes com menos de 6 meses de vida e DF não apresentavam crises vaso-oclusivas (WILLIAMS, 2004).

4) O grau de hidratação celular. A membrana eritrocitária normal apresenta vários canais transportadores de íons, responsáveis por manter a hidratação celular. Os principais são os canais de Gardos, que provoca saída de K+ por aumento de Ca++ intracelular, que ocorre após a polimerização, seguido do efluxo de água, e o de co-transporte K-Cl, que libera K+ e Cl- da célula associado também ao efluxo de água. Na AF ocorre aumento da atividade destes canais assim como aumento da permeabilidade da própria membrana, levando à desidratação celular, o que por sua vez aumenta a concentração de HbS favorecendo sua polimerização (LEW E BOOKCHIN, 2005; BUNN, 1997; ODIÉVRE, 2011; GALLAGHER, 2013). A desidratação do eritrócito associado ao processo de polimerização forma células falciformes densas que não retornam mais a seu formato original mesmo após reoxigenação. Estas células além de causar vaso-oclusão são também responsáveis pela queda de Hb e hemólise, pois apresentam dano permanente na membrana celular (STUART E NAGEL, 2004).

5) Queda no pH

- Fatores que aumentam o tempo de passagem do eritrócito pela microcirculação:

1) Aumento da adesão celular da hemácia S (discutido posteriormente)
2) Alteração do tônus vascular predispondo a vasoconstricção (discutido posteriormente)

Ao se polimerizar, o alongamento da membrana celular leva à perda de contato com as proteínas do citoesqueleto da célula, o que expõe segmentos de proteínas transmembrana, e a inativação da aminofosfolipídio translocase, responsável pelo transporte da fosfatidilserina da membrana extra para intracelular. Esta perda da assimetria clássica da membrana plasmática do eritrócito, expondo a fosfatidilserina leva a um aumento na fagocitose destas células, exacerbando a anemia. (FRENETTE E

ATWEH, 2007). A fosfatidilserina tem ainda atividade pró-coagulante, estimulando a cascata de coagulação e a formação de fator tecidual e trombina (STUART E NAGEL, 2004). Ao se despolimerizar, os pontos danificados da membrana são liberados em forma de microvesículas e tem efeito trombogênico (ODIÉVRE, 2011)

1.2.2.2 Aumento da expressão de moléculas de adesão, inflamação e ativação da coagulação

Com a falscização dos eritrócitos na microcirculação, ocorre vaso-oclusão e isquemia, seguidos de reperfusão. Esses ciclos de isquemia – reperfusão estimulam a produção de radicais livres devido ao estresse oxidativo, que provocam dano endotelial e estimulam a produção de moléculas de adesão, e síntese de citocinas inflamatórias (REES *et al*., 2010). As hemácias falcêmicas apresentam maior aderência ao endotélio vascular, processo que é mediado por receptores como CD47, ICAM-1 e fosfatidilesterina, que em células normais são encontrados apenas na membrana intracelular (STUART E NAGEL, 2004). Os reticulócitos também apresentam maior aderência. Várias vias já foram implicadas nesse processo de aderência da célula falcêmica ao endotélio, entre elas: integrinas e seus receptores, imunoglobulinas como o VCAM-1 e o ICAM-4, as selectinas, a trombospodina, o fibrinogênio, a fibronectina e o fator de von Willebrand (FvW) (BUNN, 1997; FRENETTE E ATWEH, 2007). Devido ao estado inflamatório crônico desencadeado pelas alterações da membrana eritrocitária e hemólise, ocorre liberação de fator de necrose tecidual α (TNF-α) e interleucina 1 (IL-1), que promovem a adesão ao endotélio dos leucócitos e sua interação com as células falcêmicas. Essas citocinas inflamatórias também aumentam a expressão pelo endotélio do ICAM-4, VCAM-1 e fator tecidual estimulando a cascata de coagulação e ativação plaquetária.

1.2.2.3 Hemólise e alteração da biodisponibilidade do óxido nítrico

A biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) também está comprometida. Este é produzido no endotélio a partir da L-arginina por ação da NO sintetase (NOS). Atua na regulação do tônus vascular sistêmico e pulmonar, promovendo vasodilatação, e tem importante ação inibindo as moléculas de adesão endotelial e ativação plaquetária. Na DF ele se encontra reduzido, secundário à hemólise intravascular (VILLAGRA *et al*., 2007). A Hb livre no plasma se liga com alta afinidade à haptoglobina, este complexo protéico expõe um novo epitopo que é reconhecido pelo CD163, uma glicoproteína transmembrana que promove a fagocitose da Hb pelos macrófagos e monócitos. Esta fagocitose estimula a produção de interleucina 10 (IL-10) e induz a expressão de heme oxigenase-1 e biliverdina redutase. Essas enzimas catabolizam o grupo heme e sinalizam reações antiproliferativas, anti-oxidantes e anti-inflamatórias. Na DF este sistema encontra-se saturado, levando à presença de Hb e arginase livre no plasma, que consome o NO e inativa a l-arginina. A arginina também apresenta seu metabolismo alterado por condições como disfunção renal, comum aos pacientes com DF, e defeitos no transporte intracelular (MORRIS, 2014). Desta forma ocorre redução nos níveis de NO e consequente vasoconstricção (GLADWIN E VICHINSKY, 2008; REES *et al.*, 2010). Ocorre também liberação de ferro heme, que desencadeia o estresse oxidativo, e consequente produção de fatores transcricionais como NFκB e a proteína ativadora 1 (AP-1), que induzem a expressão de E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1, e o recrutamento de leucócitos aderentes (ODIÉVRE, 2011; SCHAER E BUEHLER, 2013). O aumento de leucócitos aderentes já foi associado com aumento de mortalidade nestes pacientes, sendo também uma causa importante de sintomas associados a vaso-oclusão devido à hiperviscosidade, assim como ao risco de eventos trombo-embólicos (FRENETTE E ATWEH, 2007).

1.2.3 Manifestações Clínicas

Apesar de causada por uma mutação pontual, em um gene expresso exclusivamente nas células do sistema hematopoiético, suas manifestações clínicas e complicações atingem quase todos os órgãos e sistemas do corpo.

Clinicamente os pacientes podem apresentar quadro de anemia, icterícia, dor aguda e crônica, crises aplásticas, úlceras de perna, atraso do desenvolvimento sexual, dactilite, retinopatia, necrose avascular óssea, litíase biliar, proteinúria, insuficiência renal, priapismo, asplenia funcional, seqüestro esplênico, sobrecarga de ferro, complicações cardiorespiratórias como a síndrome torácica aguda (STA), HP, acidentes vasculares cerebrais (AVC), e maior susceptibilidade a infecções com risco de morte súbita (LEIKIN *et al.*, 1989; MILLER *et al.*, 2001; MANCI *et al.*, 2003). No entanto, existe uma variabilidade enorme no espectro fenotípico da doença, que se deve basicamente ao grau de hemólise da cada paciente (BUNN *et al*., 2010; REES *et al*., 2010). Os pacientes com um fenótipo hiperhemolítico, que apresentam maior índice de lactato desidrogenase (LDH), reticulócitos e bilirrubina, apresentam mais frequentemente HP, colelitíase, ulceras de membros inferiores e priapismo, todos associados à lesão endotelial (NOLAN *et al*., 2005; NOLAN *et al*., 2006; GLADWIN E VICHINSKY, 2008). Já os pacientes com menor grau de hemólise apresentam mais frequentemente crises álgicas, STA e osteonecrose, estando estes sintomas mais associados a níveis mais elevados de Hb, leucócitos e consequente maior viscosidade (GLADWIN E VICHINSKY, 2008). Sabe-se também que os pacientes com α-talassemia associada costumam ter melhor prognóstico com redução de sintomas como úlceras de membros, priapismo, litíase biliar e AVC, no entanto apresentam maior risco de osteonecrose e retinopatia (BUNN *et al*., 2010). (Figura 9). O outro grande modificador genético do fenótipo é a concentração da HbF. Sabe-se ainda que existem

vários outros genes efetores secundários (epistáticos) relacionados com os demais mecanismos fisiopatológicos da doença que podem interferir na gravidade de apresentação dos sintomas (STUART E NAGEL, 2004, FRENETTE E ATWEH, 2007).

Em 1978 foi iniciado o Cooperative Study on Sickle Cell Disease (CSSCD) realizado pelo National Heart, Lung, Blood Institute (NHLBI), um estudo multicêntrico longitudinal, com o intuito de caracterizar a história natural da doença. Foi a partir deste estudo que se verificou a alta mortalidade associada às infecções pneumocócicas em

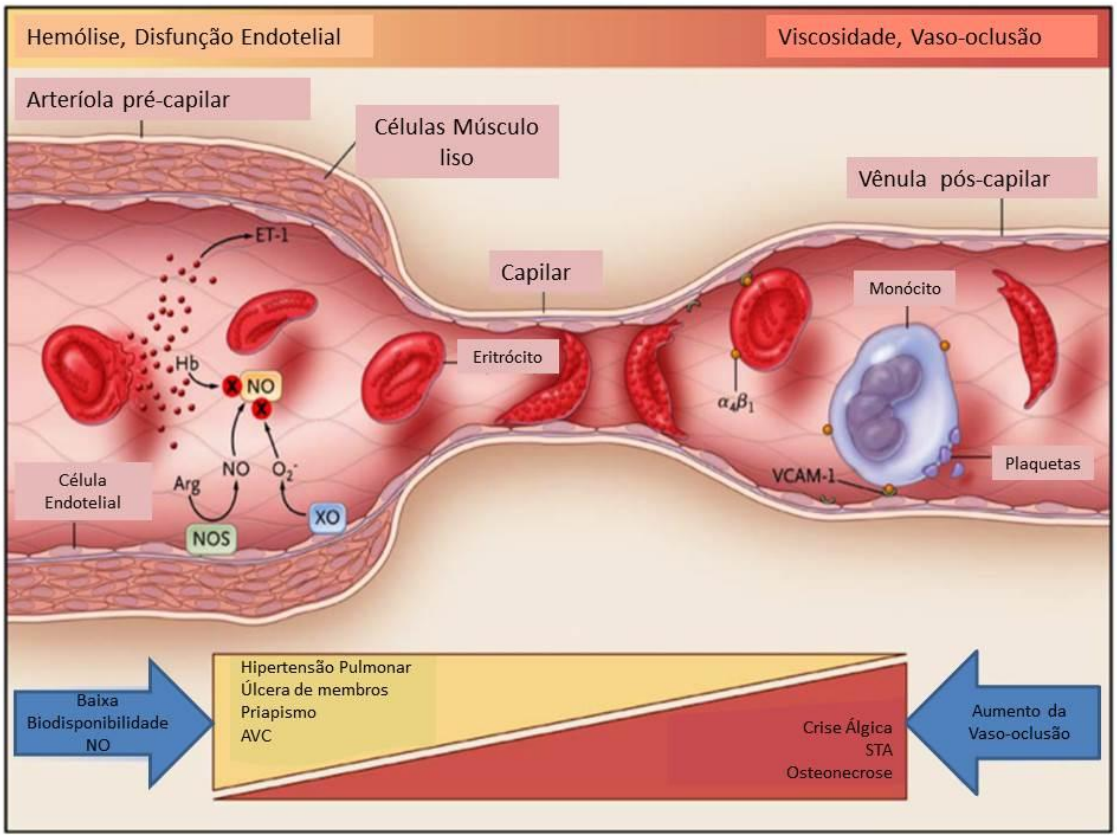


Figura 9. Mecanismo hipotético de Fenótipos Clínicos na DF. Do lado esquerdo temos as manifestações clínicas associadas à vasculopatia como a Hipertensão pulmonar, úlcera de membros inferiores, priapismo e AVC, que estariam mais associados a uma taxa mais elevada de hemólise, hemoglobina mais baixa e baixa biodisponibilidade do óxido nítrico. À direita temos as manifestações clínicas que estão classicamente associadas ao evento vaso-oclusivo, como as crises álgicas, osteonecrose, retinopatia e STA. Nesses casos temos aumento das contagens de leucócitos e hemoglobina. E os fenótipos intermediários, com sobreposição de ambos os subtipos. (Adaptado de GLADWIN E VICHINSKY, 2008).

crianças, e ao desenvolvimento do Prophylactic Penecilin Study (PRPS), que ressaltou a importância dos testes de triagem neonatal e o uso de penicilina profilática em crianças de 6 meses a 5 anos (GASTON *et al.,* 1986). Também foi a partir deste estudo que se verificou as altas taxas de STA, com uma incidência de 24% pacientes/ano na população até 10 anos de idade (GILL *et al.*, 1995) e 13% pacientes/ano na população geral, além do aumento na mortalidade associada a estes eventos (CASTRO *et al.*, 1994), e do AVC, com a estimativa de que 11% dos pacientes terão um AVC com menos de 20 anos. Surgiu então o Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP), que comprovou o benefício de transfusão profilática em prevenir o desenvolvimento de AVC em crianças com fluxo cerebral alterado avaliado através de ecodoppler transcraniano (EDTC) (ADAMS *et al.*, 1998). O CSSCD também evidenciou que mais de 20% dos pacientes avaliados haviam falecido por doenças pulmonares, dado também confirmado pelo Multicenter Study of Hydroxiurea in Sickle Cell Anemia (PLATT *et al*., 1994, STEINBERG *et al*., 2003). Dentre as condições pulmonares, a HP surge como importante fator de risco. Estima-se que 20-40% da população adulta com AF tenha HP (ATAGA *et al.*, 2006; CASTRO E GLADWIN, 2005; GLADWIN *et al.*, 2004), mesmo que sem manifestação clínica. Já na população pediátrica esta prevalência é pouco conhecida, variando de 8-46% (SUELL *et al.*, 2005; AMBRUSKO *et al.*, 2006; NELSON *et al.*, 2007; ONYEKWERE *et al.*, 2008; PASHANKAR *et al.*, 2009; SEDRAK *et al.*, 2009) . Estima-se ainda que a taxa de mortalidade em pacientes adultos ao longo de dois anos seja de 17%, e ao longo de 45 meses de 40% (CASTRO *et al.*, 2003; GLADWIN *et al.*, 2004). No entanto, na população pediátrica parece não estar relacionado com risco de morte (LEE *et al.*, 2009).

1.2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da DF é feito através de sua história clínica, pela presença dos sintomas acima relatados e pela história familiar do paciente. Laboratorialmente, verifica-se uma anemia moderada a grave com a presença da célula falciforme à microscopia. Para se distinguir as variantes, utilizamos basicamente a sua carga elétrica através da eletroforese, focalização isoelétrica ou a HPLC. Vale lembrar ainda a importância do teste de triagem neonatal (teste do pezinho) implementado pelo Sistema Único de Saúde (SUS) no Brasil em 2001, que além da DF investiga a fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e fibrose cística, e está disponível em grande parte das maternidades do sistema de saúde público e privada, e na rede pública de atenção básica do país. Com essa medida de diagnóstico precoce tem sido possível o encaminhamento para avaliação e tratamento precoce destes pacientes, assim como dos seus familiares, com melhora significativa na qualidade de vida e mortalidade. (SOMMER *et al*., 2006).

1.2.5 Tratamento

Desde a inclusão da eletroforese de hemoglobina nos testes de triagem neonatal foi possível o reconhecimento precoce e a alteração da história natural da doença. O tratamento preventivo feito com penicilina e a utilização das vacinas contra *S. pneumoniae e H. influenzae* teve importante papel na redução de infecções graves, melhorando a sobrevida (QUINN *et al.*, 2010). Para tratamento das crises álgicas e eventos graves associados à hemólise, a terapia de indução de HbF com a hidroxiuréia (HU) tem sido utilizada com sucesso. Ela tem se mostrado altamente efetiva na redução das crises álgicas e na STA, além de ter reduzido consideralvemente as necessidades transfusionais dos pacientes. Por ter efeito mielossupressor, interfere ainda na redução

das contagens de leucócitos e do estado inflamatório crônico (STEINBERG *et al.*, 2003; WARE E AYGUN, 2009).

Existe ainda outras opções terapêuticas para indução de HbF não aprovadas para uso como a 5-azacitidina e decitibina, agentes demetilantes que levam a um aumento na expressão do gene da γ globina e o Butirato, um ácido graxo de cadeia curta. Atualmente as novas pesquisas estão voltadas para avaliar as moléculas reguladoras da troca de HbF para HbA e do silenciamento do gene da HbF, revelando novos alvos moleculares para indução da HbF (SANKARAN, 2011). Outras terapias experimentais tem focado nos demais aspectos fisiopatológicos da doença para inibir a polimerização da HbS como o pidolato de magnésio e o clotrimazol que interferem nos canais iônicos melhorando a hidratação celular, o poloxâmero 188 que aumenta a solubilidade da HbS, o NO inalatório, l-arginina, nitrato de sódio, sildenafil e nitroprussiato de sódio que aumentam a biodisponibilidade do NO, os antiinflamatórios, estatinas, a sulfasalazina e heparina que reduzem a adesão ao endotélio (ATAGA, 2009; REES *et al*., 2010; VICHINSKY, 2012; SCHAER E BUEHLER, 2013). Em relação a terapia com arginina, alguns estudos mostram benefício desta quando associado ao uso da hidroxiuréia (MORRIS, 2014).

No entanto, assim como para as talassemias, o único tratamento curativo é o TCTH alogênico, com uma sobrevida próxima a 90% e uma taxa de mortalidade relacionada ao transplante de 7% quando de um doador aparentado HLA compatível, o que só é possível em aproximadamente 15% dos pacientes (BHATIA E WALTERS, 2008). Estudos experimentais com terapia gênica vêm sendo desenvolvidos com vetores lentivirais e com a utilização de RNA de interferência para silenciamento do gene β^s com sucesso em modelos animais. Estudos clínicos já foram iniciados, com relato de 1 paciente já tratado com sucesso (REES *et al.*, 2010; DONG *et al.*, 2013).

2 Hipertensão Pulmonar

A HP é uma condição hemodinâmica e fisiopatológica caracterizada por um aumento da pressão na artéria pulmonar (PAP) e aumento da resistência vascular. É definida pelo NHLBI/ National Institute of Health (NIH) e pela Sociedade Brasileira de Cardiologia como uma pressão media na artéria pulmonar (PMAP) ≥ 25mmHg, medida por cateterização cardíaca como padrão ouro (GUIMARÃES E LOPES, 2005). Pode estar relacionada a uma série de patologias distintas, apresentando aspectos clínicos típicos em cada uma. Em 2008 a OMS/WHO classificou a HP em cinco grupos distintos de acordo com essas características, conforme Tabela 5.

Tabela 5. Classificação HP WHO/OMS 2008

1. **Hipertensão Arterial Pulmonar (HAP)**
   - 1.1 Idiopática (HAPI)
   - 1.2 Hereditária
   - 1.3 Induzida por drogas ou toxinas
   - 1.4 Associada com:
     - 1.4.1 Doenças do tecido conjuntivo
     - 1.4.2 Infecção pelo HIV
     - 1.4.3 Hipertensão Portal
     - 1.4.4 Cardiopatias congênitas
     - 1.4.5 Esquistossomose
     - 1.4.6 Anemia Hemolítica crônica

1'Doença veno-oclusiva pulmonar/ hemangiomatose capilar pulmonar

2. **Hipertensão Pulmonar Secundária doença do coração esquerdo**
   - 2.1 Disfunção Sistólica
   - 2.2 Disfunção Diastólica
   - 2.3 Doença Valvular
3. **Hipertensão Pulmonar secundária a doença pulmonar ou hipóxia**
   - 3.1 Doença pulmonar obstrutiva crônica
   - 3.2 Doença pulmonar intersticial
   - 3.3 Outras doenças pulmonares com padrão restritivo/obstrutivo misturado
   - 3.4 Alterações respiratórias durante o sono
   - 3.5 Distúrbios de hipoventilação alveolar
   - 3.6 Exposição crônica a altas altitudes
   - 3.7 Anormalidades de desenvolvimento
4. **Hipertensão Pulmonar Tromboembólica Crônica**
5. **HP com causa desconhecida ou multifatorial**
   - 5.1 Distúrbios Hematológicos: Mielodisplasia, esplenectomia
   - 5.2 Distúrbios sistêmicos: Sarcoidose, histiocitose, neurofribomatose, vasculites, D. Langerhans, linfangioleiomiomatose
   - 5.3 Distúrbios Metabólicos: Gaucher, d. de depósito do glicogênio, dist. Tireóide
   - 5.4 Outros: obstrução tumoral, IRC em diálise, mediastinite fibrosante

2.1 Hipertensão Arterial Pulmona

Estima-se que a prevalência de HAP e HAPI seja de 15 e 5,9 casos /milhão respectivamente. Na HAP, onde se enquadram as principais causas de HP em crianças e associada à doença hemolítica crônica, verifica-se a presença de lesões que afetam as artérias distais (< 500 μm diâmetro), com hipertrofia da média, proliferação e alterações fibróticas da íntima, espessamento da camada adventícia com infiltrado inflamatório perivascular, lesões plexiformes, dilatadas ou trombóticas (Figura 10.). Classicamente as veias pulmonares são poupadas. (GALIÉ *et al*., 2009)

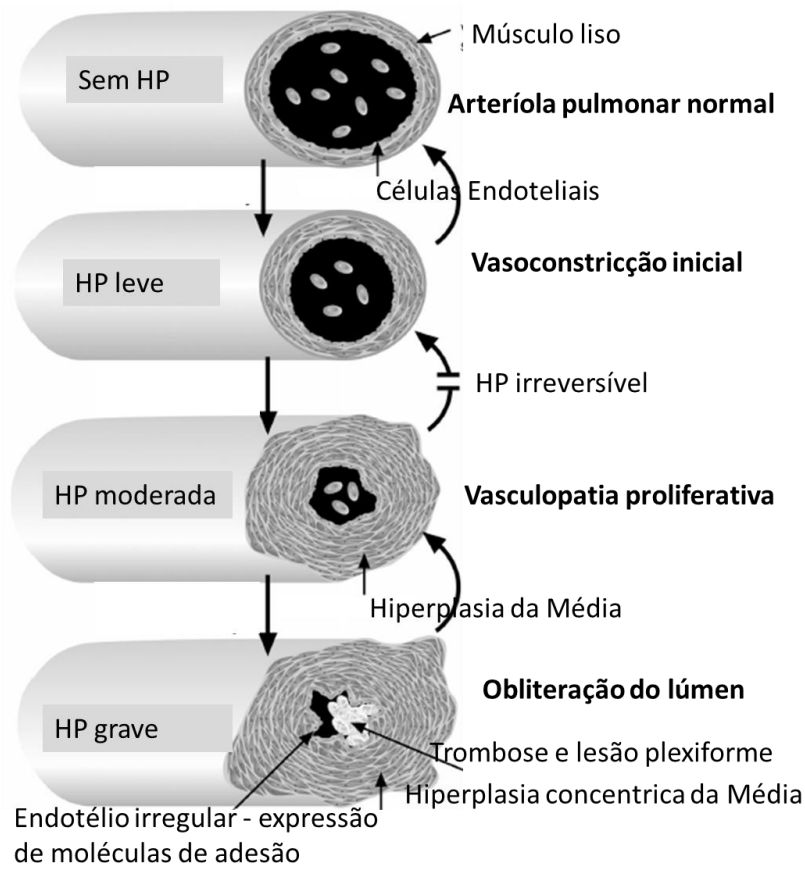


Figura 10. Modelo esquemático representando a evolução progressiva da lesão pulmonar provocada pela baixa biodisponibilidade de óxido nítrico em pacientes com doença Falciforme. A redução do NO leva a uma vasoconstricção crônica, com hiperplasia da camada muscular que evolui em estágios avançados para lesões com endotélio irregular e ativado por moléculas de adesão, tromboses in situ e obliteração do lúmen. (Adaptado de KATO *et al*., 2007).

Ocorre alteração da função endotelial, aumento de mediadores inflamatórios/vasoconstrictores como tromboxano A_2 e endotelina – 1 e diminuição de vasodilatadores e mediadores vasoativos antiproliferação como a prostaciclina e o NO (TAKATSUKI *et al*., 2012, GALIÉ *et al*., 2009). Há aumento de células progenitoras endoteliais, que levam ao remodelamento e neovascularização, com recrutamento de fibrócitos. Defeitos nos canais de potássio das células musculares lisas podem estar relacionados com o início ou progressão da HAP. Essas alterações deixam o leito vascular em um estado pró-coagulante, levando à ocorrência de trombose. Todas essas alterações culminam com uma hipertrofia progressiva do ventrículo direito, aumento da pressão diastólica, levando a uma diminuição na capacidade de aumentar o débito cardíaco durante o exercício ou em situações que exijam maior oxigenação (WIDLITZ E BARST, 2003).

A apresentação clínica consiste basicamente de dispnéia, fadiga, fraqueza, angina, síncope e distensão abdominal. Sintomas em repouso só aparecem em casos mais graves. Ao exame pode ser observado aumento da intensidade no componente pulmonar da segunda bulha (GUIMARÃES E LOPES, 2005), sopro pansistólico de regurgitação tricúspide, sopro diastólico de insuficiência pulmonar, além de distensão da jugular, hepatomegalia, edema periférico e ascite que podem aparecer em fases mais avançadas.

O diagnóstico é feito através de:

1) Eletrocardiograma: pode evidenciar hipertrofia de ventrículo direito (VD) e dilatação do átrio direito (AD). Apresenta baixa sensibilidade (55%).

2) Rx de tórax: encontra-se alterado em 90% dos pacientes com HAPI. Verifica-se dilatação da artéria pulmonar, aumento de AD e VD.

3) Testes de função pulmonar: baixa capacidade de difusão pulmonar, redução dos volumes pulmonares e obstrução periférica. O CO_2 encontra-se reduzido por hiperventilação alveolar.

4) Ecocardiograma: sua realização está sempre recomendada em casos suspeitos de HAP, pois avalia de forma não invasiva a pressão na artéria pulmonar. Esta estimativa é feita através da velocidade de regurgitação tricúspide (VRT) (GUIMARÃES JI, LOPES AA. 2005, HOWARD LS *et al.* 2012, RUDSKI LG et al 2010), sendo considerado alterado quando a VRT ≥ 2,5m/s. Utilizando a equação de Bernoulli, onde o gradiente transtricúspide (GTT) = 4 x $(VRT)^2$, estimamos a PAP = GTT + pressão átrio direito (PAD). A PAD é estimada através da avaliação do diâmetro e da variação respiratória da veia cava, mas comumente utiliza-se o valor fixo de 5-10mmHg. Existem outras medidas ecocardiográficas que sinalizam a presença de HP, como o tempo de aceleração do fluxo da via de saída do VD (TAC) curto, aumento do diâmetro das câmeras direitas, alteração na excursão sistólica do plano anular da valva tricúspide (TAPSE). A estimativa da PAP através do ecocardiograma tem uma boa correlação com PAP avaliada por cateterização (R=0.77, P<0,001) (MILLER AC, GLADWIN MT 2012), sendo que este valor de VRT ≥ 2,5 m/s corresponde a uma PAP de 25-35mmHg.

5) Podem ser realizados ainda avaliação de ventilação/perfusão, tomografia computadorizada (TC) de alta resolução, angiografia e ressonância nuclear magnética (RNM) cardíaca, com intuito de afastar outras possíveis causas de HP.

6) Cateterização do coração direito: procedimento necessário para confirmação do diagnóstico, avaliação da severidade e realização do teste de vasoreatividade da circulação pulmonar. É considerado padrão-ouro.

A gravidade e prognóstico do quadro está diretamente associada à etiologia da hipertensão, ao comprometimento clínico do paciente (tabela 6) e aos parâmetros avaliados pelo ecocardiograma e pela cateterização. A avaliação da capacidade física é feita através do teste de caminhada de 6 minutos (GALIÉ *et al*., 2009).

Tabela 6. Classificação Funcional HP – WHO 1998

Classe 1: HP sem limitação da atividade física.
Classe 2: HP com pequena limitação da atividade física. Ocorre dispneia aos grandes esforços, fadiga , dor torácica ou quase síncope.
Classe 3: HP com média limitação da atividade física. Ocorre dispneia aos médios esforços, fadiga , dor torácica ou quase síncope.
Classe 4: HP com grande limitação atividade física. Ocorre dispneia aos pequenos esforços, as vezes até em repouso.

Existem ainda alguns marcadores bioquímicos que estão intimamente relacionados com a função do VD, e vem sendo usados como forma de monitoramento de disfunção e HP. O ácido úrico é resultante de um metabolismo oxidativo de tecido periférico isquêmico, e já foi associado a pior prognóstico quando elevado em pacientes com HAPI (VOELKEL *et al.*, 2000). O peptídeo cerebral natriurético (BNP) é liberado pelo miocárdio após lesão de parede, estimula a vasodilatação e diurese, e reflete o grau de acometimento do VD. O seu sub-produto NT-pro-BNP tem sido utilizado como preditor de mau prognóstico, principalmente quando ≥ 160pg/ml (MILLER E GLADWIN, 2012).

O tratamento da HAP se baseia no uso de medicamentos específicos, como os bloqueadores dos canais de cálcio, prostaciclina e seus derivados sintéticos, antagonistas dos receptores de endotelina e inibidores da fosfodieterase tipo 5, todos com efeito vasodilatador por vias moleculares distintas. Além disso, é importante o tratamento de suporte dos pacientes, com uso de anticoagulantes, diuréticos, digoxina e

O_2 quando necessário. Vários estudos vêm sendo feitos em busca de novas opções terapêuticas como ativadores do GMPc No independentes, peptídeo intestinal vasoativo inalatório, antagonista receptor de prostaciclina não prostanoides, antagonistas serotonina entre outros. A terapia gênica vem sendo estudada em modelos animais e a terapia com células tronco já está sendo avaliada em pacientes com HAP. E existe ainda a opção de transplante de pulmão principalmente para os pacientes que não apresentam resposta ao tratamento clínico (GALIÉ *et al*., 2009, HUMBERT *et al.*, 2012).

2.2 Considerações da HAP em Pediatria

A doença na população pediátrica é similar à do adulto. A definição HAP é igual, com uma PAP $\geq$ 25 mmHg, e um aumento na resistência vascular periférica (RVP) maior que 3 unidades Wood (TAKATSUKI *et al.*, 2012). No entanto, parece que existe um pior prognóstico nos pacientes pediátricos, com uma sobrevida < 1 ano (WIDLITZ E BARST, 2003). A sua prevalência é pouco conhecida nessa população, sendo próxima de 3,7 casos/milhão (TISSOT *et al.*, 2010), e a principal etiologia está associada a cardiopatias congênitas e a forma idiopática (TAKATSUKI *et al.*, 2012). A HP persistente do recém-nascido é uma causa crescente nesta população.

Quanto à fisiopatologia, parece haver um menor grau de fibrose da íntima, e ausência de lesões plexiformes, o que nos leva a crer que estas alterações ocorrem de forma tardia no curso da doença. Existe ainda uma maior reatividade do leito vascular nesta população. A apresentação clínica da HAP em crianças é similar a dos adultos, sendo os sintomas inespecíficos, muitas vezes com perda de apetite, dificuldade de ganho ponderal, náusea, vômitos, dispneia, fadiga, síncope, dor torácica, retração, gemência, hepatomegalia (VILLAVICENCIO *et al.*, 2008; TAYLOR *et al.*, 2008), mas geralmente são mais sintomáticos. Apresentam índices cardíacos mais elevados, com

uma pressão arterial sistêmica mais baixa em relação aos adultos (WIDLITZ E BARST, 2003).

O diagnóstico deve seguir o algoritmo proposto para adultos, no entanto, percebemos que existe uma série de dificuldades na realização de alguns exames. A cateterização cardíaca que é o padrão ouro tem alta taxa de complicações associadas (6%), além do risco de morte próximo a 1% (BEGHETTI *et al*., 2013), e da necessidade de uso de anestesia. Outro inconveniente é a dificuldade da realização do teste de caminhada em crianças menores de 7 anos, o que limita a avaliação da gravidade. Desta forma, o rastreamento na população pediátrica geralmente é feito com base na realização de ECG, Rx de tórax e ecocardiograma, que são exames não invasivos, acessíveis e custo-efetivos (BEGHETTI *et al*., 2013). Um estudo recente evidenciou o uso da angio-TC com processamento de imagem como forma não invasiva de avaliar o diâmetro da artéria pulmonar, que se encontra aumentado no paciente com DF (LINGURARU *et al.*, 2008).

Não existem recomendações de tratamento baseada em evidências para esta população, pela ausência de estudos randomizados controlados. Segue-se, portanto as orientações para população adulta.

3 Hipertensão Pulmonar em Hemoglobinopatias

As alterações cardiovasculares estão entre as principais causas de morbi-mortalidade desta população, com ênfase especial para HP (FARMAKIS E AESSOPOS, 2011). Diversos estudos têm sido realizados nas últimas duas décadas com intuito de avaliar a prevalência desta patologia nos diferentes grupos de hemoglobinopatias, através da medida da VRT. Entre as síndromes talassêmicas, observou-se uma variação de 10-79% de prevalência para HP em pacientes com diagnóstico de talassemia major (AESSOPOS

et al., 2004; DERCHI *et al.*, 1999; DU *et al.*, 1997; GRISARU *et al.*, 1990) e de 60% para talassemia intermédia (AESSOPOS E FARMAKIS, 2005). Já na DF a prevalência variou de 21 – 43% (GLADWIN *et al.*, 2004; MACHADO *et al.*, 2006; SACHDEV *et al.*, 2007; DE CASTRO *et al.*, 2008; PARENT *et al.*, 2011). No Brasil, a prevalência estimada foi de 40% (FONSECA *et al.*, 2012). Na população pediátrica esta prevalência também varia de 8-46% conforme tabela 7.

Tabela 7. Prevalência de HP na DF em população pediátrica

Autor	Ano	Diagnóstico	Idade	N	Critério Diagnóstico	Prevalencia HP
Suell	2005	DF	12-22a	80	VRT≥2,5m/s	26%
Ambrusko	2006	DF		44	VRT≥2,5m/s	26,2%
Qureshi	2006	DF	>9a	32	VRT≥2,5m/s	16%
Liem	2007	DF	10-20a	51	VRT≥2,5m/s	33%
Nelson	2007	DF	4-18a	53	VRT≥2,5m/s	31%
Hagar	2007	DF	< 18a	61	VRT≥2,5m/s	24,6%
Onyekwere	2008	DF	8-24a	52	VRT≥2,5m/s	46,15%
Pashankar	2008	DF	6-19a	62	VRT≥2,5m/s	30%
Dahm	2009	DF	3-20a	290	VRT >2,6m/s	11%
Lee	2009	DF	5-19a	88	VRT≥2,5m/s	20%
Sedrak	2009	DF	5-21a	48	VRT >2,5m/s	8,3%
Gordeuk	2009	DF	7-16a	372	VRT≥2,5m/s	22%
Colombatti	2010	DF	3-15a	37	VRT≥2,5m/s	21,6%
Dahoui	2010	DF	2-30a	85	VRT≥2,5m/s	31,8%
Liem	2010	DF	10-22a	30	VRT≥2,5m/s	30-40%
Chaudry	2011	HbSS, SC	>10a	50	VRT≥2,5m/s	32%
Forrest	2012	DF	6-21a	85	VRT≥2,5m/s	32,9%

N = número de pacientes; HAP = Hipertensã Pulmonar; DF = Doença Falciforme; VRT = velocidade de regurgitação tricúspide.

Todos estes dados se baseiam na medida da PAP através do ecodoppler transtorácico. Quando avaliados por cateterização cardíaca, a prevalência de HAP na população adulta foi de 6-10% (FONSECA *et al.*, 2012; PARENT *et al.*, 2011). Na população pediátrica nenhum estudo avaliou esta prevalência.

Além da alta prevalência, diversos estudos mostraram a associação da HAP com aumento da mortalidade (ATAGA *et al.*, 2006). Em um estudo a mortalidade foi de

50% em um período de 2 anos para pacientes com DF, com uma sobrevida próxima de 2,5 anos (CASTRO *et al.*, 2003; SUTTON *et al.*, 1994). Outro estudo evidenciou a associação da VRT ≥ 2,5m/s com aumento da mortalidade nesta população de 17% em um período de 2 anos e 40% no período de 45 meses. (GLADWIN *et al.*, 2004). Fonseca *et al.* também comprovou haver uma menor sobrevida no grupo de pacientes com diagnóstico de HP avaliada por cateterização cardíaca (FONSECA *et al.*, 2012). Em estudos de autópsia, foi verificado que 75% dos pacientes apresentam evidência histológica de HAP (HAQUE *et al.*, 2002).

O mecanismo fisiopatológico para desenvolvimento de HP nesta população está relacionado com o grau de hemólise intravascular (BUNN *et al.*, 2010; KATO *et al.*, 2007). Como citado previamente, A Hb liberada do eritrócito após a hemólise fica livre no plasma levando à destruição do NO, um importante agente vasodilatador. Ocorre ainda liberação de arginase que consome a l-arginina, substrato necessário para produção do NO através da NOS (REITER *et al.*, 2002). Há ainda aumento na produção de endotelina-1, geração de trombina e ativação plaquetária e do fator tecidual (BUNN *et al.*, 2010; MACHADO E GLADWIN; SETTY *et al.*, 2008), alterações provocadas pelo estado de hipercoagulabilidade associado as alterações da membrana eritrocitária (VILLAGRA J *et al.*, 2007; MACHADO, 2007). Junto com a hipoxemia ocorre aumento da eritropoetina e do fator de crescimento endotélio vascular (VEGF-1), resultando em vasoconstricção, proliferação e trombose. Existe um provável papel do fator de crescimento placentário (PLGF), produzido pelas células eritróides da medula óssea, e que se encontra aumentado nos pacientes com doenças hemolíticas (SUNDARAM *et al.*, 2010), e efeito importante do estresse oxidativo na lesão endotelial, com depleção de agentes antioxidantes associados à hemólise (MORRIS *et al.*, 2008). Todos esses mecanismos patológicos levam ao desenvolvimento de uma

vasculopatia proliferativa que afeta a circulação pulmonar, cerebral e renal. Estudos recentes vêm mostrando existência de alteração no padrão das células progenitoras endoteliais, o que pode contribuir para o desenvolvimento da vasculopatia (ANJUM *et al.*, 2012).

Sepse ou bacteremia, história prévia de STA e asma ou doenças obstrutivas são considerados alguns dos possíveis fatores de risco para desenvolvimento de HP em crianças (HAGAR *et al.*, 2008), apesar destes ainda não estarem bem estabelecidos. A esplenectomia também constitui importante fator de risco para o desenvolvimento de HAP, como este é responsável pela remoção de células "defeituosas" e senescentes, ocorre aumento da hemólise por uma permanência prolongada destas células na circulação, além de um aumento de mediadores plaquetários promovendo adesão endotelial (WAHL E VICHINSKY, 2010).

Alguns marcadores laboratoriais estão relacionados com a presença de HP nesta população, como é o caso da HbF baixa, Hb baixa, LDH elevado, bilirrubina indireta aumentadas (ATAGA *et al.*, 2006; GORDEUK *et al.*, 2009; LIEM *et al.*, 2007; MINNITI *et al.*, 2009) e excreção urinária de albumina aumentada (ATAGA *et al.*, 2010). Alguns estudos vêm tentando mostrar a relação com níveis de ácido úrico (JOSHI *et al.*, 2011) e aumento de triglicerídeos e HDL associados à disfunção endotelial (ZORCA *et al.*, 2010). O aumento de moléculas de adesão endotelial como VCAM-1, ICAM-1, E-selectina e P-selectina estão associados com maior mortalidade (KATO *et al.*, 2005), assim como níveis de NTpro-BNP > 160 ng/l também estão associados com maior mortalidade (MACHADO *et al.*, 2011; ALIYU *et al.*, 2010) tanto na população adulta quanto na pediátrica. A dosagem do CD163 solúvel também está associada à HP e a gravidade da doença (TANTAWY *et al.*, 2012).

Alguns polimorfismos genéticos têm sido associados a maior risco de desenvolvimento de HP, tanto idiopática quanto associada à DF, como é o caso do receptor de activina a tipo II-like 1 (ACVRL1) e o receptor de proteína morfogenética óssea tipo 2 (BMPR2). Existe ainda alteração nos genes da família do TGF-β, que já foram associados a outras manifestações clínicas da DF (ASHLEY-KOCH *et al.*, 2008). Existe ainda evidência de associação entre alguns polimorfismos pontuais e a VRT alterada (DESAI *et al.*, 2012).

As manifestações clínicas da HAP nesta população se confundem com o da própria DF, pois os pacientes já têm certo grau de fadiga e dispnéia pela anemia. Além disso, os níveis de pressão pulmonar na DF costumam ser mais baixos do que na HAPI, e pelo alto débito cardíaco necessário para compensar a anemia, mesmo um leve aumento desta pressão acarreta alta morbidade (MACHADO, 2007). O diagnóstico deve seguir as orientações já relatadas para HAPI.

O tratamento da HAP na DF é baseado na intensificação do tratamento desta, ou seja, na utilização de HU, que reduz as crises de dor, eventos vaso-oclusivos, AVC, STA e mortalidade geral e na utilização de esquemas de transfusão crônica, que diminuem a síntese de células falcêmicas e reduzem o risco de complicações (DAHOUI *et al.*, 2010). No entanto, nenhum estudo comprovou o efeito destes tratamentos na redução da VRT e PAP. Quanto às terapias específicas para HAP associada à DF, as recomendações se baseiam em opiniões de especialistas ou em tratamentos para outras formas de HAP. Os inibidores da fosfodiesterase 5 estão associados a risco de desenvolvimento de priapismo na população masculina com DF (MACHADO, 2007), e recentemente foi verificado que o sildenafil está associado a um aumento no número de crises vaso-oclusivas nesta população (MACHADO *et al.*, 2011). Resultados promissores tem sido visto com uso do bosetan, um antagonista do receptor da

endotelina-1 (MINNITI *et al.*, 2009), com redução nos valores de VRT e do NT-proBNP. No entanto, os estudos comprovando seu uso na DF ainda são insuficientes, seus efeitos adversos incluem hepatotoxicidade e queda nos níveis de Hb, o que pode ser preocupante nestes pacientes. O uso de prostanóides produz vasodilatação sistêmica e aumento de débito cardíaco, podendo gerar um estado de insuficiência cardíaca de alto débito (DERCHI *et al.*, 2005; KATO *et al.*, 2007; MACHADO E GLADWIN, 2005; MINNITI *et al.*, 2009; MORRIS *et al.*, 2013; MORRIS *et al.*, 2003). Uma série de outras terapias têm sido testadas, como o uso de NO inalatório, suplementação com arginina (MORRIS *et al.*, 2013), mas todos com resultados modestos.

Justificativa

A hipertensão arterial pulmonar em pacientes com doença falciforme / talassemias tem elevada prevalência, e tem sido associada a uma piora na qualidade de vida e maior taxa de mortalidade em adultos. No entanto, se conhece pouco sobre sua freqüência e impacto na população pediátrica. Não existe nenhum estudo com crianças no Brasil que relate a prevalência e características da população com essa patologia.

Reconhecer o início deste processo na infância parece de fundamental importância para o diagnóstico precoce, possibilitando a instituição de terapêutica adequada com melhora da morbi-mortalidade.

Objetivos

- Geral:
  - Avaliar a presença de HP em crianças de 3-18 anos acompanhados no ambulatório de Hemoglobinopatias do HCPA.
- Específicos:
  - Avaliar prevalência de HP entre os grupos HbSS, HbSC, HbS/talassemia, e Talassemia.
  - Associar a presença de HP com achados clínicos como dispnéia, cansaço, episódios frequentes de Síndrome torácica aguda.
  - Correlacionar a presença de HP com exames laboratoriais.

Materiais e Métodos

Delineamento: Estudo Prospectivo de Corte Transversal

Amostra: População atendida no ambulatório de Hemoglobinopatias do Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre o período de junho de 2011 e julho de 2013 de forma consecutiva. Foram atendidos 98 pacientes neste período, dos quais apenas 49 preenchiam os critérios de inclusão e exclusão abaixo:

Critérios de inclusão:

1) Diagnóstico de doença falciforme (HbSS, HbSC, HbS/B-talassemia), talassemia maior ou intermédia ou doença hemoglobina H.
2) Idade ≥ 3 anos e ≤ 18 anos.
3) Assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I).

Critérios de Exclusão:

1) Presença de cardiopatia congênita diagnosticada
2) História de internação ou de sintomatologia sugestiva de crise hemolítica ou de vaso-oclusão no período prévio de 2 semanas.
3) História de pneumonia ou outras infecções no período de 15 dias.

Logística: 49 pacientes foram encaminhados para realização de um ecocardiograma com doppler transtorácico para avaliação não invasiva da pressão sistólica da artéria pulmonar. Este exame foi realizado por um profissional treinado do Serviço de Cardiologia do HCPA. Destes 49 pacientes, 4 por motivos desconhecidos não compareceram para realização do exame ecocardiográfico, portanto, foram analisados efetivamente 45 pacientes.

Variáveis:

Dados Epidemiológicos e Antropométricos: foram coletados no dia da consulta peso, altura, superfície corpórea (SC) e índice de massa corporal (IMC) de todos os pacientes (Anexo II).

Avaliação Clínica: foi realizado levantamento de dados do prontuário dos pacientes quanto à história de AVC, STA, priapismo, insuficiência renal, necrose de cabeça de fêmur, episódios infecciosos e crises álgicas. Quanto ao uso de medicamentos como hidroxiuréia, profilaxia com penicilina e terapia para quelação de ferro. Foi ainda avaliado número de transfusões e se o paciente estava em programa de transfusão crônica, além de história de esplenectomia.

Avaliação Laboratorial: foi realizado levantamento de dados dos prontuários de exames hematológicos e bioquímicos (Hemograma, plaquetas, reticulócitos, ferritina, LDH, bilirrubinas, TGO,TGP, GGT, creatinina, HbF) realizados no período prévio de no máximo 3 meses.

Avaliação Radiológica: Foi avaliado através de levantamento de prontuário a presença de Rx de Tórax e outros ecocardiogramas.

Ecocardiograma: Todos os pacientes foram encaminhados para realização de um ecocardiograma com doppler transtorácico no serviço de Ecografia, Métodos não Invasivos, do HCPA . Foi avaliada a morfologia e função das quatro câmaras, presença de alterações valvulares, doenças pericárdicas e estimada a pressão sistólica na artéria pulmonar (PSAP) através da medida da velocidade de regurgitação tricúspide pela equação de Bernoulli. Sendo a PSAP = GTT + PAD, sendo o GTT = 4 x VRT^2 e a PAD estimada de 5mmHg. Foi considerado como tendo risco de hipertensão pulmonar os pacientes que apresentavam uma VRT $\geq$ 2.5m/s. Foi ainda avaliada o tempo de

aceleração do fluxo da via de saída do ventrículo direito (Tac) e a excursão sistólica do plano anular da valva tricúspide (TAPSE), ambas medidas indiretas sugestivas de hipertensão pulmonar. Nos pacientes sintomáticos com ecocardiograma normal, foi realizado acompanhamento semestral.

Análise Estatística

O banco de dados foi montado e analisado no SPSS versão 18.0. Foi medida a prevalência de VRT ≥ 2,5m/s sugestiva de hipertensão e utilizado média e mediana para descrever os dados epidemiológicos e laboratoriais. A análise estatística foi feita através da comparação das variáveis entre os pacientes com uma VRT ≥ 2.5m/s e < 2.5m/s, usando média e desvio padrão (DP), mediana e intervalo interquartil (IIQ) sendo que para as variáveis independentes contínuas foi utilizado o teste de Mann-Whitney e para as variáveis categóricas foi utilizado o teste do qui-quadrado e o teste de Fisher. Algumas variáveis contínuas foram também categorizadas para obter maiores informações.

Considerações Éticas

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (número do projeto 110361), e aprovado após elaboração de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O estudo apresenta riscos mínimos aos pacientes, já que consiste na realização de um exame não invasivo. Durante a consulta, o TCLE foi entregue aos responsáveis dos pacientes, explicado de forma clara, informando o procedimento do exame, os riscos, e que a não participação não acarreta nenhum prejuízo ao paciente. Foi entregue uma cópia para questionamentos posteriores, se necessário, com telefone de contato.

Referências Bibliográficas

1. Adams RJ, McKie VC, Hsu L, Files B, Vichinsky E, Pegelow C, et al. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography. N Engl J Med. 1998; 339: 5-11.
2. Aessopos A, Farmakis D, Hatziliami A, Fragodimitri C, Karabatsos F, Joussef J, et al. Cardiac status in well-treated patients with thalassemia major. Eur J Haematol. 2004; 73: 359-66.
3. Aessopos A, Farmakis D. Pulmonary hypertension in beta-thalassemia. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1054: 342-9.
4. Aliyu ZY, Suleiman A, Attah E, Mamman AI, Babadoko A, Nouraie M, et al. NT-proBNP as a marker of cardiopulmonary status in sickle cell anaemia in Africa. Br J Haematol. 2010; 150: 102-7.
5. Ambrusko SJ, Gunawardena S, Sakara A, Windsor B, Lanford L, Michelson P, et al. Elevation of tricuspid regurgitant jet velocity, a marker for pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. Pediatr Blood Cancer. 2006; 47: 907-13.
6. Anjum F, Lazar J, Zein J, Jamaleddine G, Demetis S, Wadgaonkar R. Characterization of altered patterns of endothelial progenitor cells in sickle cell disease related pulmonary arterial hypertension. Pulm Circ. 2012; 2 :54-60.
7. Araújo PIC. O autocuidado na doença falciforme. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29: 239-246.
8. Ashley-Koch A, Yang Q, Olney RS. Sickle hemoglobin (HbS) allele and sickle cell disease: a HuGE review. Am J Epidemiol. 2000; 151: 839-45.

9. Ashley-Koch AE, Elliott L, Kail ME, De Castro LM, Jonassaint J, Jackson TL, et al. Identification of genetic polymorphisms associated with risk for pulmonary hypertension in sickle cell disease. Blood. 2008; 111: 5721-6.
10. Ataga KI, Brittain JE, Moore D, Jones SK, Hulkower B, Strayhorn D, et al. Urinary albumin excretion is associated with pulmonary hypertension in sickle cell disease: potential role of soluble fms-like tyrosine kinase-1. Eur J Haematol. 2010; 85: 257-63.
11. Ataga KI, Moore CG, Jones S, Olajide O, Strayhorn D, Hinderliter A, et al. Pulmonary hypertension in patients with sickle cell disease: a longitudinal study. Br J Haematol. 2006; 134: 109-15.
12. Ataga KI. Novel therapies in sickle cell disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009; 2009: 54-61.
13. Beghetti M, Berger RM, Schulze-Neick I, Day RW, Pulido T, Feinstein J, et al. Diagnostic evaluation of paediatric pulmonary hypertension in current clinical practice. Eur Respir J. 2013; 42: 689-700.
14. Bhatia M, Walters MC. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. Bone Marrow Transplant. 2008; 41: 109-17.
15. Bingle JP, Huehns ER, Prankerd TA. Haemoglobin-H disease. Br Med J. 1958; 2: 1389-90.
16. Bunn HF, Nathan DG, Dover GJ, Hebbel RP, Platt OS, Rosse WF, et al. Pulmonary hypertension and nitric oxide depletion in sickle cell disease. Blood. 2010; 116: 687-92.
17. Bunn HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. N Engl J Med. 1997; 337: 762-9.

18. Caboot JB, Allen JL. Pulmonary complications of sickle cell disease in children. Curr Opin Pediatr. 2008; 20: 279-87.

19. Cançado RD, Jesus JA, A doença falciforme no Brasil. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29: 204-206.

20. Castro O, Brambilla DJ, Thorington B, Reindorf CA, Scott RB, Gillette P, et al. The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Blood. 1994; 84: 643-9.

21. Castro O, Gladwin MT. Pulmonary hypertension in sickle cell disease: mechanisms, diagnosis, and management. Hematol Oncol Clin North Am. 2005; 19: 881-96.

22. Castro O, Hoque M, Brown BD. Pulmonary hypertension in sickle cell disease: cardiac catheterization results and survival. Blood. 2003; 101: 1257-61.

23. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, McMahon RP, Barton FB, et al. Design of the multicenter study of hydroxyurea in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea. Control Clin Trials. 1995; 16: 432-46.

24. Chaudry RA, Cikes M, Karu T, Hutchinson C, Ball S, Sutherland G, et al. Paediatric sickle cell disease: pulmonary hypertension but normal vascular resistance. Arch Dis Child. 2011; 96: 131-6.

25. Colombatti R, Maschietto N, Varotto E, Grison A, Grazzina N, Meneghello L, et al. Pulmonary hypertension in sickle cell disease children under 10 years of age. Br J Haematol. 2010; 150: 601-9.

26. D'Alonzo GE, Barst RJ, Ayres SM, Bergofsky EH, Brundage BH, Detre KM, et al. Survival in patients with primary pulmonary hypertension. Results from a national prospective registry. Ann Intern Med. 1991; 115: 343-9.

27. Dahoui HA, Hayek MN, Nietert PJ, Arabi MT, Muwakkit SA, Saab RH, et al. Pulmonary hypertension in children and young adults with sickle cell disease: evidence for familial clustering. Pediatr Blood Cancer. 2010; 54: 398-402.

28. Darbari DS, Kple-Faget P, Kwagyan J, Rana S, Gordeuk VR, Castro O. Circumstances of death in adult sickle cell disease patients. Am J Hematol. 2006; 81: 858-63.

29. Das BB, Sobczyk W, Bertolone S, Raj A. Cardiopulmonary stress testing in children with sickle cell disease who are on long-term erythrocytapheresis. J Pediatr Hematol Oncol. 2008; 30: 373-7.

30. Daudt LE, Zechmaister D, Portal L, Neto EC, Silla LMR, Giuliani R. Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2002; 18: 833-841.

31. De Castro LM, Jonassaint JC, Graham FL, Ashley-Koch A, Telen MJ. Pulmonary hypertension associated with sickle cell disease: clinical and laboratory endpoints and disease outcomes. Am J Hematol. 2008; 83: 19-25.

32. Derchi G, Forni GL, Formisano F, Cappellini MD, Galanello R, D'Ascola G, et al. Efficacy and safety of sildenafil in the treatment of severe pulmonary hypertension in patients with hemoglobinopathies. Haematologica. 2005; 90: 452-8.

33. Derchi G, Fonti A, Forni GL, Galliera EO, Cappellini MD, Turati F, et al. Pulmonary hypertension in patients with thalassemia major. Am Heart J. 1999; 138: 384

34. Desai AA, Zhou T, Ahmad H, Zhang W, Mu W, Trevino S, et al. A novel molecular signature for elevated tricuspid regurgitation velocity in sickle cell disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012; 186: 359-68.

35. Dham N, Ensing G, Minniti C, Campbell A, Arteta M, Rana S, et al. Prospective echocardiography assessment of pulmonary hypertension and its potential etiologies in children with sickle cell disease. Am J Cardiol. 2009; 104: 713-20.
36. Dong A, Rivella S, Breda L. Gene therapy for hemoglobinopathies: progress and challenges. Transl Res. 2013; 161: 293-306.
37. Du ZD, Roguin N, Milgram E, Saab K, Koren A. Pulmonary hypertension in patients with thalassemia major. Am Heart J. 1997; 134: 532-7.
38. Farmakis D, Aessopos A. Pulmonary hypertension associated with hemoglobinopathies: prevalent but overlooked. Circulation. 2011; 123: 1227-32.
39. Fonseca GH, Souza R, Salemi VM, Jardim CV, Gualandro SF. Pulmonary hypertension diagnosed by right heart catheterisation in sickle cell disease. Eur Respir J. 2012; 39: 112-8
40. Forget BG, Bunn HF. Classification of the disorders of hemoglobin. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3: a011684.
41. Forrest S, Kim A, Carbonella J, Pashankar F. Proteinuria is associated with elevated tricuspid regurgitant jet velocity in children with sickle cell disease. Pediatr Blood Cancer. 2012; 58: 937-40.
42. Frenette PS, Atweh GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. J Clin Invest. 2007; 117: 850-8.
43. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009; 2009: 26-34.
44. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis. 2010; 5: 11.
45. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. Eur Heart J. 2009; 30: 2493-537.

46. Gallagher PG. Disorders of red cell volume regulation. Curr Opin Hematol. 2013; 20: 201-7.

47. Gaston MH, Verter JI, Woods G, Pegelow C, Kelleher J, Presbury G, et al. Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia. A randomized trial. N Engl J Med. 1986;314-: 1593-9.

48. Gill FM, Sleeper LA, Weiner SJ, Brown AK, Bellevue R, Grover R, et al. Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Blood. 1995; 86: 776-83.

49. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. N Engl J Med. 2004 26; 350: 886-95.

50. Gladwin MT, Vichinsky E. Pulmonary complications of sickle cell disease. N Engl J Med. 2008; 359: 2254-65.

51. Globin Gene Server. HbVar: a database of human hemoglobina variants and thalassemias. http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter (acessado em 28/agosto/2013)

52. Gordeuk VR, Campbell A, Rana S, Nouraie M, Niu X, Minniti CP, et al. Relationship of erythropoietin, fetal hemoglobin, and hydroxyurea treatment to tricuspid regurgitation velocity in children with sickle cell disease. Blood. 2009; 114: 4639-44.

53. Graham GS. Case of sickle cell anemia with necropsy. Arch Intern Med (Chic). 1924; 34: 778-800.

54. Grisaru D, Rachmilewitz EA, Mosseri M, Gotsman M, Lafair JS, Okon E, et al. Cardiopulmonary assessment in beta-thalassemia major. Chest. 1990; 98: 1138-42.

55. Guimarães JI, Lopes AA. Diagnóstico, Avaliação e Terapêutica da Hipertensão Pulmonar. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2005

56. Hagar RW, Morris CR, Vichinsky EP. Pulmonary hypertension in thalassaemia major patients with normal left ventricular systolic function. Br J Haematol. 2006;133: 433-5.

57. Hagar RW, Michlitsch JG, Gardner J, Vichinsky EP, Morris CR. Clinical differences between children and adults with pulmonary hypertension and sickle cell disease. Br J Haematol. 2008; 140: 104-12.

58. Haque AK, Gokhale S, Rampy BA, Adegboyega P, Duarte A, Saldana MJ. Pulmonary hypertension in sickle cell hemoglobinopathy: a clinicopathologic study of 20 cases. Hum Pathol. 2002; 33: 1037-43.

59. Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. Orphanet J Rare Dis. 2010; 5: 13.

60. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 1910. Yale J Biol Med. 2001; 74: 179-84.

61. Hill RJ, Konigsberg W, Guidotti G, Craig LC. The structure of human hemoglobin. I. The separation of the alpha and beta chains and their amino acid composition. J Biol Chem. 1962; 237: 1549-54.

62. Howard LS, Grapsa J, Dawson D, Bellamy M, Chambers JB, Masani ND, et al. Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension: standard operating procedure. Eur Respir Rev. 2012; 21: 239-48.

63. Humbert M, Gerry Coghlan J, Khanna D. Early detection and management of pulmonary arterial hypertension. Eur Respir Rev. 2012; 21: 306-12.

64. Ingram VM. Abnormal human haemoglobins. I. The comparison of normal human and sickle-cell haemoglobins by "fingerprinting". Biochim Biophys Acta. 1989;1000: 151-7.

65. Johnson FL, Look AT, Gockerman J, Ruggiero MR, Dalla-Pozza L, Billings FT 3rd. Bone-marrow transplantation in a patient with sickle-cell anemia. N Engl J Med. 1984; 311: 780-3.

66. Kato GJ, Martyr S, Blackwelder WC, Nichols JS, Coles WA, Hunter LA, et al. Levels of soluble endothelium-derived adhesion molecules in patients with sickle cell disease are associated with pulmonary hypertension, organ dysfunction, and mortality. Br J Haematol. 2005; 130: 943-53.

67. Kato GJ, Onyekwere OC, Gladwin MT. Pulmonary hypertension in sickle cell disease: relevance to children. Pediatr Hematol Oncol. 2007; 24: 159-70.

68. Klings ES, Machado RF, Barst RJ, Morris CR, Mubarak KK, Gordeuk VR, et al. An official american thoracic society clinical practice guideline: diagnosis, risk stratification, and management of pulmonary hypertension of sickle cell disease. Am J Respir Crit Care Med. 2014; 189: 727-40.

69. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Dtsch Arztebl Int. 2011; 108: 532-40.

70. Lee MT, Small T, Khan MA, Rosenzweig EB, Barst RJ, Brittenham GM. Doppler-defined pulmonary hypertension and the risk of death in children with sickle cell disease followed for a mean of three years. Br J Haematol. 2009; 146: 437-41.

71. Leikin SL, Gallagher D, Kinney TR, Sloane D, Klug P, Rida W. Mortality in children and adolescents with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Pediatrics. 1989; 84: 500-8.

72. Lew VL, Bookchin RM. Ion transport pathology in the mechanism of sickle cell dehydration. Physiol Rev. 2005; 85: 179-200.

73. Liem RI, Nevin MA, Prestridge A, Young LT, Thompson AA. Tricuspid regurgitant jet velocity elevation and its relationship to lung function in pediatric sickle cell disease. Pediatr Pulmonol. 2009; 44: 281-9.

74. Liem RI, Young LT, Thompson AA. Tricuspid regurgitant jet velocity is associated with hemolysis in children and young adults with sickle cell disease evaluated for pulmonary hypertension. Haematologica. 2007; 92: 1549-52.

75. Linguraru MG, Orandi BJ, Van Uitert RL, Mukherjee N, Summers RM, Gladwin MT, et al. CT and image processing non-invasive indicators of sickle cell secondary pulmonary hypertension. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2008; 859-62.

76. Lucarelli G, Isgrò A, Sodani P, Gaziev J. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia and sickle cell anemia. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2: a011825.

77. Machado RF, Anthi A, Steinberg MH, Bonds D, Sachdev V, Kato GJ, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and risk of death in sickle cell disease. JAMA. 2006; 296: 310-8.

78. Machado RF, Barst RJ, Yovetich NA, Hassell KL, Kato GJ, Gordeuk VR, et al. Hospitalization for pain in patients with sickle cell disease treated with sildenafil for elevated TRV and low exercise capacity. Blood. 2011; 118: 855-64.

79. Machado RF, Gladwin MT. Chronic sickle cell lung disease: new insights into the diagnosis, pathogenesis and treatment of pulmonary hypertension. Br J Haematol. 2005; 129: 449-64.

80. Machado RF, Hildesheim M, Mendelsohn L, Remaley AT, Kato GJ, Gladwin MT. NT-pro brain natriuretic peptide levels and the risk of death in the cooperative study of sickle cell disease. Br J Haematol. 2011; 154: 512-20.

81. Machado RF, Gladwin MT. Pulmonary hypertension in hemolytic disorders: pulmonary vascular disease: the global perspective. Chest. 2010; 137(6 Suppl): 30S-38S.

82. Machado RF. Sickle cell anemia-associated pulmonary arterial hypertension. J Bras Pneumol. 2007; 33: 583-91.

83. Manci EA, Culberson DE, Yang YM, Gardner TM, Powell R, Haynes J Jr, et al. Causes of death in sickle cell disease: an autopsy study. Br J Haematol. 2003; 123: 359-65.

84. Marotta CA, Wilson JT, Forget BG, Weissman SM. Human beta-globin messenger RNA. III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. J Biol Chem. 1977; 252: 5040-53.

85. Mason VR. Landmark article Oct. 14, 1922: Sickle cell anemia. By V.R. Mason. JAMA. 1985; 254: 1955-7.

86. McQuillan BM, Picard MH, Leavitt M, Weyman AE. Clinical correlates and reference intervals for pulmonary artery systolic pressure among echocardiographically normal subjects. Circulation. 2001; 104: 2797-802.

87. Mehari A, Gladwin MT, Tian X, Machado RF, Kato GJ. Mortality in adults with sickle cell disease and pulmonary hypertension. JAMA. 2012; 307: 1254-6.

88. Mehta PA, Faulkner LB. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia: a global perspective BMT tandem meeting 2013. Biol Blood Marrow Transplant. 2013;19(1 Suppl): S70-3.

89. Miller AC, Gladwin MT. Pulmonary complications of sickle cell disease. Am J Respir Crit Care Med. 2012; 185: 1154-65.

90. Miller ST, Macklin EA, Pegelow CH, Kinney TR, Sleeper LA, Bello JA, et al. Silent infarction as a risk factor for overt stroke in children with sickle cell anemia: a report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. J Pediatr. 2001; 139: 385-90.

91. Ministério da Saúde. Doença Falciforme: Condutas Básicas para Tratamento. Série B. Textos Básicos de Saúde. Brasília (DF), 2012.

92. Minniti CP, Machado RF, Coles WA, Sachdev V, Gladwin MT, Kato GJ. Endothelin receptor antagonists for pulmonary hypertension in adult patients with sickle cell disease. Br J Haematol. 2009; 147: 737-43.

93. Minniti CP, Sable C, Campbell A, Rana S, Ensing G, Dham N, et al. Elevated tricuspid regurgitant jet velocity in children and adolescents with sickle cell disease: association with hemolysis and hemoglobin oxygen desaturation. Haematologica. 2009; 94: 340-7.

94. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bull World Health Organ. 2008; 86(6): 480–487.

95. Morris CR, Gladwin MT, Kato GJ. Nitric oxide and arginine dysregulation: a novel pathway to pulmonary hypertension in hemolytic disorders. Curr Mol Med. 2008; 8: 620-32.

96. Morris CR, Kim HY, Wood J, Porter JB, Klings ES, Trachtenberg FL, et al. Sildenafil therapy in thalassemia patients with Doppler-defined risk of pulmonary hypertension. Haematologica. 2013; 98: 1359-67.

97. Morris CR, Morris SM Jr, Hagar W, Van Warmerdam J, Claster S, Kepka-Lenhart D,et al. Arginine therapy: a new treatment for pulmonary hypertension in sickle cell disease? Am J Respir Crit Care Med. 2003; 168: 63-9.

98. Morris CR. Vascular risk assessment in patients with sickle cell disease. Haematologica. 2011; 96: 1–5.

99. Morris CR. Alterations of the arginine metabolome in sickle cell disease: a growing rationale for arginine therapy. Hematol Oncol Clin North Am. 2014 ; 28: 301-21.

100. Musallam KM, Taher AT, Rachmilewitz EA. β-thalassemia intermedia: a clinical perspective. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2: a013482.

101. Nienhuis AW. Nathan DG. Pathophysiology and Clinical Manifestations of the β-Thalassemias. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2: a011726.

102. Neel JV, Valentine WN. Further Studies on the Genetics of Thalassemia. Genetics. 1947; 32: 38-63.

103. Neel JV. The Inheritance of Sickle Cell Anemia. Science. 1949; 110: 64-6.

104. Nelson SC, Adade BB, McDonough EA, Moquist KL, Hennessy JM. High prevalence of pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2007; 29: 334-7.

105. Nolan VG, Adewoye A, Baldwin C, Wang L, Ma Q, Wyszynski DF, et al. Sickle cell leg ulcers: associations with haemolysis and SNPs in Klotho, TEK and genes of the TGF-beta/BMP pathway. Br J Haematol. 2006; 133: 570-8.

106. Nolan VG, Wyszynski DF, Farrer LA, Steinberg MH. Hemolysis-associated priapism in sickle cell disease. Blood. 2005; 106: 3264-7.

107. Odièvre MH, Verger E, Silva-Pinto AC, Elion J. Pathophysiological insights in sickle cell disease. Indian J Med Res. 2011; 134: 532-7.

108. Onyekwere OC, Campbell A, Teshome M, Onyeagoro S, Sylvan C, Akintilo A, et al. Pulmonary hypertension in children and adolescents with sickle cell disease. Pediatr Cardiol. 2008; 29: 309-12.

109. Parent F, Bachir D, Inamo J, Lionnet F, Driss F, Loko G, et al. A hemodynamic study of pulmonary hypertension in sickle cell disease. N Engl J Med. 2011; 365: 44-53.

110. Pashankar FD, Carbonella J, Bazzy-Asaad A, Friedman A. Longitudinal follow up of elevated pulmonary artery pressures in children with sickle cell disease. Br J Haematol. 2009; 144: 736-41.

111. Pashankar FD, Carbonella J, Bazzy-Asaad A, Friedman A. Prevalence and risk factors of elevated pulmonary artery pressures in children with sickle cell disease. Pediatrics. 2008; 121: 777-82.

112. Pauling L, Itano HA, et al. Sickle cell anemia a molecular disease. Science. 1949; 110: 543-8.

113. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Williams TN, et al. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. Nat Commun. 2010; 1: 104.

114. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. N Engl J Med. 1994; 330: 1639-44.

115. Powars DR, Chan L, Schroeder WA. Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia: clinical implications. Am J Pediatr Hematol Oncol. 1990; 12: 367-74.

116. Quinn CT, Rogers ZR, McCavit TL, Buchanan GR. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. Blood. 2010; 115: 3447-52.

117. Qureshi N, Joyce JJ, Qi N, Chang RK. Right ventricular abnormalities in sickle cell anemia: evidence of a progressive increase in pulmonary vascular resistance. J Pediatr. 2006; 149: 23-7.

118. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010; 376: 2018-31.

119. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, Hogg N, Cannon RO 3rd, Schechter AN, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. Nat Med. 2002; 8: 1383-9.

120. Rivella S. The role of ineffective erythropoiesis in non-transfusion-dependent thalassemia. Blood Rev. 2012; 26 Suppl 1: S12-5.

121. Rudski LG, Lai WW, Afilalo J, Hua L, Handschumacher MD, Chandrasekaran K, et al. Guidelines for the echocardiographic assessment of the right heart in adults: a report from the American Society of Echocardiography. J Am Soc Echocardiogr. 2010; 23: 685-713.

122. Sankaran VG. Targeted therapeutic strategies for fetal hemoglobin induction. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2011; 2011: 459-65.

123. Savitt TL. The second reported case of sickle cell anemia. Charlottesville, Virginia, 1911. Va Med Q. 1997; 124: 84-92.

124. Sachdev V, Machado RF, Shizukuda Y, Rao YN, Sidenko S, Ernst I, et al. Diastolic dysfunction is an independent risk factor for death in patients with sickle cell disease. J Am Coll Cardiol. 2007; 49: 472-9.

125. Sedrak A, Rao SP, Miller ST, Hekmat V, Rao M.A prospective appraisal of pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2009; 31: 97-100.

126. Schaer DJ, Buehler PW. Cell-free hemoglobin and its scavenger proteins: new disease models leading the way to targeted therapies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3: a013433.

127. Serjeant GR. The natural history of sickle cell disease. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3: a011783

128. Setty BN, Betal SG, Zhang J, Stuart MJ. Heme induces endothelial tissue factor expression: potential role in hemostatic activation in patients with hemolytic anemia. J Thromb Haemost. 2008; 6: 2202-9.

129. Sommer CK, Goldbeck AS, Wagner SC, Castro SM. Neonatal screening for hemoglobinopathies: a one-year experience in the public health system in Rio Grande do Sul State, Brazil. Cad Saude Publica. 2006; 22: 1709-14.

130. Sonati MF, Costa FF. The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies. J Pediatr. 2008; 84(4 Suppl): S40-51.

131. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. JAMA. 2003; 289: 1645-51.

132. Stuart MJ, Nagel RL. Sickle-cell disease. Lancet. 2004; 364: 1343-60.

133. Suell MN, Bezold LI, Okcu MF, Mahoney DH Jr, Shardonofsky F, Mueller BU. Increased pulmonary artery pressures among adolescents with sickle cell disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2005; 27: 654-8.

134. Sutton LL, Castro O, Cross DJ, Spencer JE, Lewis JF. Pulmonary hypertension in sickle cell disease. Am J Cardiol. 1994; 74: 626-8.

135. Sydenstricker VP. Further observations on sickle cell anemia. JAMA. 1924; 83: 12-17.

136. Takatsuki S, Beghetti M, Ivy DD. Pulmonary Hypertension in Children. Eur Resp Monogr 2012; 57: 94-107.

137. Tantawy AA, Adly AA, Ismail EA. Soluble CD163 in young sickle cell disease patients and their trait siblings: a biomarker for pulmonary hypertension and vaso-occlusive complications. Blood Coagul Fibrinolysis. 2012; 23: 640-8.

138. Taylor JG 6th, Woods GM, Machado R, Kato GJ, Gladwin MT. Severe pulmonary hypertension in an adolescent with sickle cell disease. Am J Hematol. 2008; 83: 71-2.

139. Thornley I, Lehmann L, Ferguson WS, Davis I, Forman EN, Guinan EC. Homozygous alpha-thalassemia treated with intrauterine transfusions and postnatal hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2003; 32: 341-2.

140. Tissot C, Ivy DD, Beghetti M. Medical therapy for pediatric pulmonary arterial hypertension. J Pediatr. 2010; 157: 528-32.

141. Vichinsky EP. Clinical manifestations of α-thalassemia. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3: a01174.

142. Vichinsky E. Emerging 'A' therapies in hemoglobinopathies: agonists, antagonists, antioxidants, and arginine. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2012; 2012: 271-5.

143. Villagra J, Shiva S, Hunter LA, Machado RF, Gladwin MT, Kato GJ. Platelet activation in patients with sickle disease, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and nitric oxide scavenging by cell-free hemoglobin. Blood. 2007; 110: 2166-72.

144. Villavicencio K, Ivy D, Cole L, Nuss R. Symptomatic pulmonary hypertension in a child with sickle cell disease. J Pediatr. 2008; 152: 879-81.

145. Voelkel MA, Wynne KM, Badesch DB, Groves BM, Voelkel NF. Hyperuricemia in severe pulmonary hypertension. Chest. 2000; 117: 19-24.

146. Wagner SC, de Castro SM, Gonzalez TP, Santin AP, Filippon L, Zaleski CF, et al. Prevalence of common α-thalassemia determinants in south Brazil: Importance for the diagnosis of microcytic anemia. Genet Mol Biol. 2010; 33: 641-5.

147. Wahl S, Vichinsky E. Pulmonary hypertension in hemolytic anemias. F1000 Med Rep. 2010; 2: 10.

148. Watson J. The significance of the paucity of sickle cells in newborn Negro infants. Am J Med Sci. 1948; 215: 419-23.

149. Ware RE, Aygun B. Advances in the use of hydroxyurea. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009; 2009: 62-9.

150. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ. 2001; 79: 704-12.

151. Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. Blood. 2010; 115: 4331-6.

152. Widlitz A, Barst RJ. Pulmonary arterial hypertension in children. Eur Respir J. 2003; 21: 155-76.

153. Williams TN. How do hemoglobins S and C result in malaria protection? J Infect Dis. 2011; 204: 1651-3.

154. Williams VL. Pathways of innovation: a history of the first effective treatment for sickle cell anemia. Perspect Biol Med. 2004; 47: 552-63.

155. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2: a011692.

156. World Health Organization. Sickle-cell disease and other haemoglobin disorders. Fact sheet. Geneva; 2011. (WHO – Fact sheet n° 308).

157. World Health Organization. Control of Hereditary Disease. Report. Geneva; 1996. (WHO – Technical Report Series, 865).

158. Yi JS, Moertel CL, Baker KS. Homozygous alpha-thalassemia treated with intrauterine transfusions and unrelated donor hematopoietic cell transplantation. J Pediatr. 2009; 154: 766-8.

159. Yin XL, Zhang XH, Wu ZK, Zhao DH, Zhou YL, Yu YH, et al. Pulmonary Hypertension Risk in Patients with Hemoglobin H Disease: Low Incidence and Absence of Correlation with Splenectomy. Acta Haematol. 2013; 130: 153-159.

160. Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das Doenças Falciformes: da mutação genética a insuficiência de múltiplos órgãos. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29: 207-214.

161. Zorca S, Freeman L, Hildesheim M, Allen D, Remaley AT, Taylor JG 6th, et al. Lipid levels in sickle-cell disease associated with haemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. Br J Haematol. 2010; 149: 436-45.

Artigo

Resumo

Ferreira CB. *Prevalência de Hipertensão Pulmonar em Crianças e Adolescentes com Hemoglobinopatias* [dissertação]. Porto Alegre, Hospital de Clínicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2013.

INTRODUÇÃO: As Hemoglobinopatias podem ser divididas em Talassemias e Doença Falciforme (DF), mas do ponto de vista clínico, ambas apresentam um quadro de anemia hemolítica crônica, o que acarreta uma série de complicações, entre estas a Hipertensão Pulmonar (HP). Estima-se que cerca de 20-40% da população com DF/talassemia apresente HP, sendo que este diagnóstico está associado a uma elevada morbi-mortalidade. Poucos estudos avaliaram esta prevalência em crianças. O Objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência desta complicação na população pediátrica, e associá-la com características clínicas e laboratoriais. MÉTODOS: Estudo de Corte Transversal, com avaliação de 45 pacientes com diagnóstico de DF ou Talassemia maior/ intermédia entre 3-18 anos, atendidos de forma consecutiva no ambulatório de Hemoglobinopatias do HCPA. Os pacientes foram submetidos a um ecocardiograma para estimativa da pressão sistólica da artéria pulmonar, sendo que foi considerado como tendo risco de HP os pacientes com velocidade de regurgitação tricúspide (VRT) $\geq$ 2,5m/s. Foram obtidos dados clínicos e laboratoriais para avaliação dos parâmetros hemolíticos, função hepática e renal por levantamento de prontuário e comparados os grupos. RESULTADOS: 15% (6/40) dos pacientes apresentaram VRT $\geq$ 2,5m/s, sugestivo de HP, sendo que destes pacientes todos tinham diagnóstico de Anemia Falciforme (AF). Considerando apenas esta população, a prevalência de HP aumenta para 20% (6/30). A população com VRT $\geq$ 2,5m/s apresentou média de idade mais elevada, Hb mais baixa, RDW mais alargado, reticulócitos e LDH mais elevado que o grupo com VRT < 2,5m/s. A principal intercorrência clínica nesta população foi a ocorrência de priapismo ($p < 0,05$). CONCLUSÕES: Os nossos resultados foram concordantes com o que já foi relatado na literatura, pacientes com Hemoblobinopatias estão em risco aumentado para desenvolvimento de HP desde a infância, principalmente aqueles com AF. Desta forma seria indicado a realização de triagem com ecocardiograma nesta população de forma precoce. Estes pacientes apresentam os parâmetros laboratoriais sugestivos de hemólise alterados, assim como outros sintomas associados ao quadro hemolítico como o priapismo quando comparados com pacientes com VRT normal.

Introdução

As Hemoglobinopatias fazem parte das doenças genéticas mais prevalentes no mundo[1], e estão associadas à maior mortalidade infantil. São altamente prevalentes em países da África e sudeste Asiático, assim como no Mediterrâneo. No Brasil, a prevalência do gene de HbS foi estimado em 2-6%, e no RS esta prevalência foi de 1,2%[2,3]. Classicamente são divididas em alterações quantitativas das cadeias globínicas (Talassemias) e alterações qualitativas (Doença Falciforme - DF). A DF pode estar presente em homozigose (HbSS) ou heterozigose, associada a outras Hbs (Ex: HbSC, HbSE, HbS/Btalassemia)[4].

Clinicamente se manifestam por um quadro de anemia hemolítica crônica, associado a sintomas vaso-oclusivos ou a eritropoiese ineficaz. A hemólise crônica leva a um quadro de disfunção endotelial através da redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, substância vasodilatadora. Ocorre aumento da arginase, endotelina-1 e ativação plaquetária, resultando em vasoconstricção, proliferação endotelial e trombose. Desta forma, os pacientes apresentam maior risco de desenvolver úlcera de membros inferiores, acidente vascular cerebral e Hipertensão Pulmonar (HP)[5,6,7,8].

A HP é caracterizada por uma aumento da pressão na artéria pulmonar ≥ 25mmHg medida por cateterização cardíaca[9]. Está presente em cerca de 20-40%[10,11,12] da população adulta com Doença Falciforme, e associada a maior morbi-mortalidade. No entanto, a prevalência e o significado deste achado na população pediátrica ainda é muito variável e pouco estabelecido[13].

O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência desta complicação em uma população de pacientes pediátricos atendidos no ambulatório de referência do HCPA.

Métodos

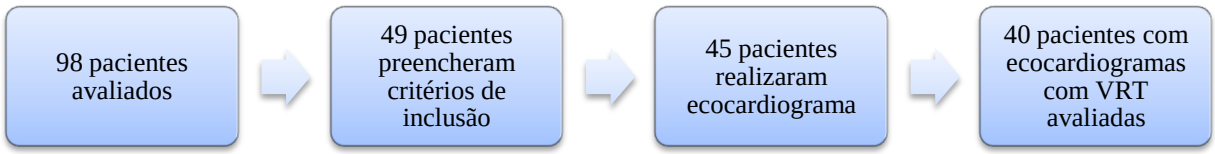
Estudo de corte transversal, prospectivo, com avaliação de 98 pacientes consecutivos entre julho de 2011 e junho de 2013 com diagnóstico de Anemia Falciforme (HbSS), HbSC, HbS/β-talassemia e Talassemia maior ou intermédia, acompanhados no ambulatório de hemoglobinopatias do HCPA. Critérios de inclusão: idade entre 3-18 anos, assinatura do TCLE. Foram excluídos pacientes com diagnóstico de cardiopatia congênita, história de pneumonia, infecção, crise hemolítica ou vaso-oclusiva nos últimos 15 dias.

Os pacientes foram submetidos a um ecocardiograma com doppler transtorácico para avaliação não invasiva da pressão sistólica na artéria pulmonar (PSAP) através da velocidade de regurgitação do jato tricúspide (VRT). Através da equação de Bernoulli foi possível estimar a PSAP, sendo PSAP = (VRT^2 x 4) + PAD[9,14]. A PAD foi estimada em 5mmHg para todos os pacientes que não apresentassem alterações na veia cava inferior. Foi considerado como tendo risco de HP o paciente com VRT ≥ 2,5m/s. Foram coletados dados epidemiológicos (sexo, idade), antropométricos (peso, altura, IMC), clínicos (sintomas como AVC, STA, crises álgicas, infecções, osteonecrose e priapismo, realização de esplenectomia, necessidade de transfusão crônica, e uso de hidroxiuréia e terapia de quelação) e laboratoriais (hemograma, plaquetas, reticulócitos, HbF, ferritina, LDH, bilirrubinas, TGO, TGP, GGT, creatinina) através de levantamento de prontuário para comparação dos grupos.

A análise estatística foi realizada através do SPSS, com dados descritivos de média (DP) e mediana (IIQ). As variáveis contínuas foram analisadas utilizando o teste de Mann-Whitney, e para as variáveis categóricas o teste do qui-quadrado e t de Fischer. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do HCPA.

Resultados

Dos 98 pacientes avaliados, apenas 49 preencheram os critérios do estudo, e destes, 4 pacientes não compareceram para realizar o ecocardiograma. Desta forma, foram avaliados efetivamente 45 pacientes. 5 pacientes realizaram o ecocardiograma porém por motivos técnicos não foi possível avaliar a VRT, portanto temos 40 pacientes com VRT avaliada.



Os dados epidemiológicos e laboratoriais da população estão resumidos na Tabela 1, sendo possível observar que a média e mediana de idade foram similares. A média da PSAP foi de 31mmHg, e a média da VRT foi de 2m/s. É possível observar que a população tem uma tendência a anemia, reticulocitose, RDW alargado, LDH elevado e leucócitos discretamente aumentados. A distribuição entre os sexos foi similar, como podemos ver na Figura1.

Avaliando os tipos de hemoglobinopatias, 75% dos pacientes eram HbSS, 10% HbSC, 5% HbS/Btal, 5% Btal maior, 5% Btal intermédia (Figura 2.). Todos os pacientes vinham em uso de hidroxiuréia, exceto 3 pacientes com diagnóstico de HbSC e os pacientes com diagnóstico de B – talassemia intermédia e maior. No entanto, alguns pacientes apresentam dificuldade de aderência, o que impediu a real avaliação de seu uso. Seis pacientes estavam em esquema transfusional crônico, três HbSS, todos por história prévia de AVC, dois pacientes com diagnóstico de β-talassemia maior e um

dos pacientes com β-talassemia intermédia. Destes todos vinham em uso de deferasirox para controle da sobrecarga de ferro.

Tabela.1 Dados da população Geral

	Todos N=40	
Variáveis	Média (DP)	Mediana (IIQ)
Idade (anos)	11 (± 5)	11 (7-16)
Peso (Kg)	35,6 (± 13,5)	24,6 (25,5 - 47,6)
Altura (cm)	140 (± 22)	140 (122 - 157)
SC	1,1 (± 0,35)	1,1 (0,9 - 1,4)
IMC (kg/m^2)	17,4 (± 2,45)	17,4 (15 - 18,8)
PSAP (mmHg)	31 (± 4,1)	31 (28 - 33)
VRT (m/s)	2 (± 0,78)	2,2 (2 - 2,3)
HbF(%)	16,4% (± 10%)	14,4% (8-26%)
Ferritina (ng/dl)	433 (± 675)	211 (89-463)
Hematocrito	24,3 (± 4,2)	24,8 (21,2-27,6)
Hemoglobina (g/dl)	8,3 (± 1,5)	8,5 (7 - 9,3)
VCM (fl)	91 (± 12,9)	91,7 (80,4 - 102,2)
CHCM	34,3 (± 2,2)	34,9 (33,8 - 35,6)
HCM	31,1 (± 5,2)	31,4 (27,8 - 35)
RDW	20,4 (± 4,9)	19,4 (17,3 - 23,3)
Reticulócitos (%)	9,7 (± 5,9)	9,1 (4,7 - 13,6)
Leucócitos (x10^3/dl)	10,2 (± 5,4)	9,6 (6,6 - 11,9)
Plaquetas (x103/dl)	372,7 (± 179,8)	354(237 - 456)
LDH (U/L)	880,9 (± 394,9)	788,5 (589,5 - 1040,75)
Bilirrubina Total (mg/dl)	2,1(± 1,27)	1,8 (1,1 - 3)
TGO (U/L)	40,9 (± 14,6)	38 (31 - 42,5)
TGP (U/L)	20,1 (± 10,6)	18 (13,5 - 24,5)
GGT (U/L)	19,3 (± 13,3)	15 (11,25 - 21,5)
Creatinina (mg/dl)	0,5 (± 0,3)	0,4 (0,325 - 0,47)

DP = desvio padrão; IIQ = intervalo interquartil; SC = superfície corpórea; IMC = índice de massa corpórea; VCM = volume corpuscular médio; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM = hemoglobina corpuscular média; RDW = largura de distribuição de eritrócitos; LDH = lactato desidrogenase; TGO = transaminase glutâmico oxalacética; TGP = transaminase glutâmico pirúvica; GGT = gama glutil transferase.

Ecodoppler transcraniano (EDTC) para avaliação do fluxo em artéria cerebral média havia sido realizado em 28 dos 40 pacientes e nenhum apresentou velocidade acima de 150m/s. Os dados clínicos dos pacientes estão resumidos na Tabela 2.

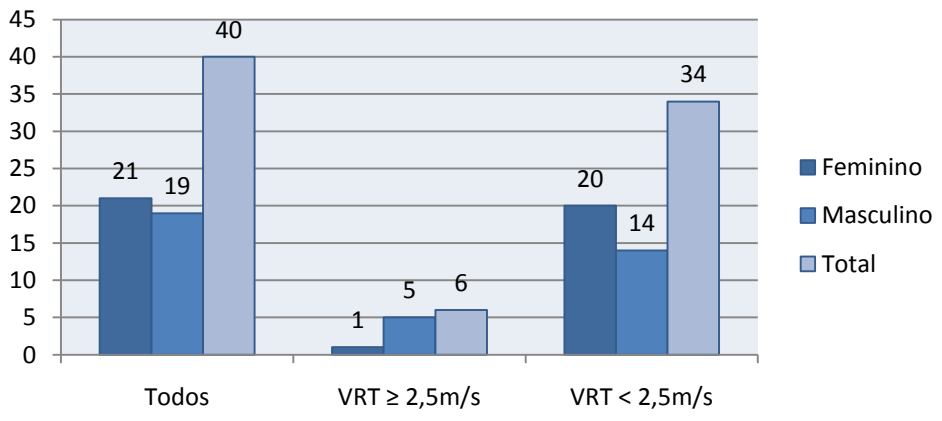


Figura1. Distribuição por Sexo

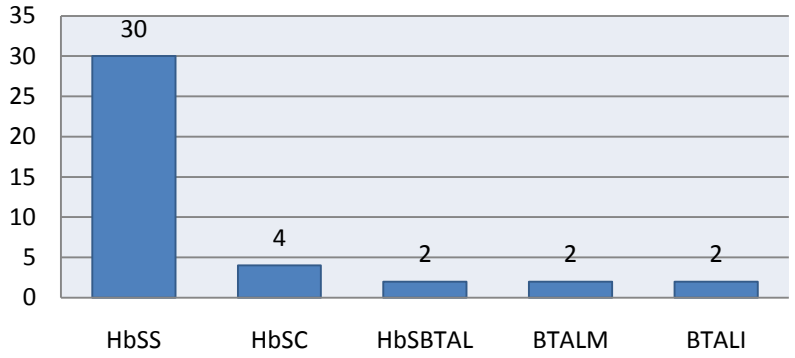


Figura2. Prevalência por tipo de hemoglobinopatia.
HbSS – Anemia Falciforme; HbSC – Doença Falciforme/C, HbSBTAL – Beta-talassemia; BTALM – Beta- talassemia maior; BTALI – Beta-talassemia intermédia

Entre os 40 pacientes avaliados por ecografia, em 5 pacientes não foi possível medir a VRT por regurgitação mínima. Estes pacientes foram considerados como tendo VRT ≤ 2,5m/s. Desta forma, 15% dos pacientes apresentaram aumento na VRT sugestivo de HP. A média da VRT neste grupo foi de 2,6 m/s (±0,07), e o valor máximo não ultrapassou 2,8m/s. Destes 6 pacientes com VRT alterada, todos tinham diagnóstico de HbSS , e uma média de idade de 14 anos (Tabela 3.). Apenas um paciente era do sexo feminino e os demais do sexo masculino (Figura1.), e a principal intercorrência clínica neste grupo foi o relato de priapismo (p=0,037). Um deles tinha relato de AVC prévio, em esquema transfusional crônico e um de insuficiência renal crônica (IRC).

Tabela 2. Dados Clínicos

	Todos	VRT ≥ 2,5m/s	VRT < 2,5m/s
Sintomas			
Assintomáticos	12	0	12
AVC	5	1	4
STA	4	1	3
Priapismo	4	3	1
IRC	1	1	0
Crise álgica	3	0	3
NCF	4	0	4
Convulsão	1	0	1
Dactilite	1	0	1
Trombose	1	0	1
Esplenomegalia	4	0	4
Esplenectomia	4	1	3
Colecistectomia	1	0	1
Politransfundidos	9	3	6
Uso HU	33*	6	27
Uso Exjade	5**	1	4
Esquema Transfusional Crônico	5***	1	4

AVC – Acidente Vascular Cerebral; STA – Síndrome Torácica Aguda; IRC – Insuficiência Renal Crônica; NCF – Necrose Cabeça do Fêmur; HU – Hidroxiuréia; Exjade – Deferasirox.

* Todos os pacientes com diagnóstico de HbSS vinham em uso de hidroxiuréia.

** Todos os pacientes em uso de desferasirox estavam em esquema transfusional crônico.

*** 3 pacientes com diagnóstico de B – talassemia e 2 pacientes com anemia falciforme com história prévia de AVC.

A prevalência de VRT ≥ 2,5m/s se considerarmos apenas os pacientes com diagnóstico de anemia falciforme (HbSS) foi de 20%.

Foram comparados os dados antropométricos e laboratoriais entre os grupos conforme Tabela 3. Podemos verificar que há diferença nas médias e medianas dos principais parâmetros hemolíticos (nível de Hb, Hb Fetal, Bilirrubinas, Reticulócitos, LDH), sendo que só houve diferença estatisticamente significativa para o RDW e TGP entre o grupo com VRT ≥2,5m/s e VRT □ 2,5m/s.

Tabela 3. Comparação dos dados laboratoriais e epidemiológicos entre os grupos

	VRT< 2,5 N=34		VRT >2,5 N=6		
Variáveis	Média (DP)	Mediana (IIQ)	Média (DP)	Mediana (IIQ)	p*
Idade (anos)	11 (±5)	11 (6,25-14,75)	14 (±4)	16 (13-16,75)	0,087
Peso (Kg)	34,32 (±13,57)	31,8 (25-45)	42,5 (±10,9)	46,2 (42-50)	
Altura (cm)	137 (±22)	135 (121-155)	160 (±17,5)	160 (154-164)	
SC	1,1 (±0,35)	1,1 (0,92-1,38)	1,3 (±0,25)	1,4 (1,3-1,47)	
IMC (kg/m^2)	17,4 (±2,5)	17,3 (15-18,9)	17,2 (±1,7)	17,5 (16,5-18,2)	0,907
PSAP (mmHg)	29,7 (± 3)	30 (28-32)	37,5 (±1,5)	37,5 (37-38)	
VRT (m/s)	1,9 (± 0,8)	2,2 (2-2,3)	2,6 (±0,07)	2,6 (2,59-2,64)	
HbF(%)	15,9% (± 11%)	14,4% (6,8-25,8)	18,9 (±7%)	17,7% (12,3-26,8)	0,396
Ferritina (ng/dl)	424,2 (±700,8)	211,8 (88,8-464,9)	480 (±568,7)	312,9 (128,1-728,9)	0,631
Hematócrito	24,8 (±4)	25,1 (22-28,1)	21,5 (±4,6)	22,4 (16-25,7)	0,125
Hemoglobina (g/dl)	8,45 (±1,45)	8,5 (7,3-9,4)	7,5 (±1,7)	8,1 (5,6-8,8)	0,255
VCM (fl)	90,2 (±13,6)	91,2 (79-102,1)	96,6 (±6,9)	95,5 (90,2-104,1)	0,289
CHCM	34,1 (±2,3)	34,6 (33,5-35,3)	35,1 (±1)	35,4 (33,8-36,1)	0,321
HCM	30,7 (±5,5)	31,2 (26,6-35)	33,4 (±2,6)	32,5 (31-36,6)	0,293
RDW	19,9 (±5,2)	18,9 (16,8-21,3)	23 (±1,7)	23,3 (21,1-24,1)	0,021
Reticulócitos (%)	9,3 (±6,1)	8,7 (3,6-13,8)	11,9 (± 4,5)	11,9 (7,6-14,5)	0,315
Leucócitos (x10^3/dl)	10,2 (±5,6)	9,4 (6,2-11,9)	9,9 (±3,7)	11,2 (6,9-12,3)	0,677
Plaquetas (x103/dl)	371,9(±185,9)	337 (227,5-453)	377,3 (±156,4)	397,5 (224,5-516,2)	0,755
LDH (U/L)	841,88 (±359,1)	781,5 (550,5-1022)	1102,3 (±544)	911,5 (698-1528,2)	0,272
BT (mg/dl)	2,1 (±1,3)	1,7 (0,9-3)	2,2 (±0,8)	2,4 (1,4-3)	0,585
TGO (U/L)	41,3 (±14,2)	39 (31-43)	38,8 (±16,4)	35,5 (29,7-36,7)	0,227
TGP (U/L)	21,3 (± 11,1)	19 (14-27,5)	13,6 (±4,8)	14 (8,7-17,2)	0,043
GGT (U/L)	18,8 (±13,5)	14,5 (11-21,5)	21,6 (±14,5)	17 (11,7-29,7)	0,575
Creatinina (mg/dl)	0,42 (±0,15)	0,38 (0,31-0,45)	0,72 (±0,73)	0,48 (0,33-0,94)	0,266

*p – significativo quando < 0,05.

DP = desvio padrão; IIQ = intervalo interquartil; SC = superfície corpórea; IMC = índice de massa corpórea; VCM = volume corpuscular médio; CHCM = concentração de hemoglobina corpuscular média; HCM = hemoglobina corpuscular média; RDW = largura de distribuição de eritrócitos; LDH = lactato desidrogenase; TGO = transaminase glutâmico oxalacética; TGP = transaminase glutâmico pirúvica; GGT = gama glutil transferase.

Discussão

Os resultados encontrados neste trabalho são concordantes com o que já foi descrito na literatura[15-24]. No entanto, este é o primeiro trabalho que descreve estes achados em uma população pediátrica no Brasil. A prevalência de HP estimada pela VRT ≥ 2,5m/s foi de 15%, e aumentou para 20% quando avaliado exclusivamente os pacientes com diagnóstico de Anemia Falciforme.

Devido ao número reduzido de pacientes com outras Hemoglobinopatias, não foi possível avaliar a ocorrência desta complicação nas crianças com diagnóstico de talassemia, HbS/beta-talassemia e HbSC.

A prevalência exclusiva de VRT alterada na população com HbSS é compatível com a teoria de que o desenvolvimento de HP está associado ao grau de hemólise intravascular[25], considerando que os pacientes com AF têm um fenótipo mais grave, com maior número de crises hemolíticas agudas. O que também foi corroborado pela avaliação dos dados laboratoriais destes pacientes, como descrito na Tabela 3. Considerando que a população avaliada neste trabalho foi obtida por busca passiva, e limitou-se aos pacientes atendidos em um serviço de referência, não foi atingido o tamanho amostral necessário para obter significância estatística na análise dos dados. No entanto, os dados descritivos mostram de forma clara o aumento dos parâmetros laboratoriais de hemólise na população com VRT ≥ 2,5m/s.

Além disso, encontramos um dado interessante, ainda não descrito, que foi a associação deste grupo de pacientes com a ocorrência de priapismo (p=0,037). Sabemos que o priapismo é um sintoma comum aos pacientes do sexo masculino com AF, e que está associado a um perfil hemolítico. Por outro lado, não encontramos associação com episódios frequentes de STA como previamente descrito[18].

Verifica-se então que a utilização do ecocardigrama como ferramenta de triagem na população pediátrica é de fundamental importância, e deve ser utilizada de forma rotineira[26,27]. Apesar dos resultados publicados recentemente por Fonseca et al. e Parent et al., que verificaram uma baixa prevalência de HP nestes pacientes após realização de cateterismo cardíaco, considerado padrão ouro para diagnóstico de HP, o índice de correlação da VRT do ecocardiograma com a PSAP medida pelo cateterismo foi bom (0,77)[28], devendo ainda ser levado em consideração o risco deste procedimento na população pediátrica, com elevada morbi-mortalidade (5,9% e 0,6% respectivamente)[26].

Outros estudos, no entanto, relatam a associação direta da VRT com mortalidade na populaçõ adulta[30], independente do diagnóstico de HP pelo cateterismo. Castro *et al*., 2003 evidenciou que a pressão na artéria pulmonar tinha uma relação inversa com a sobrevida dos pacientes, com um aumento de 1.7 vezes (95% IC 1,2 a 2,7) na razão de risco de morte a cada aumento de 10mmHg. Gladwin *et al*., em 2004, reportou a associação de uma velocidade de regurgitação da tricúspide ≥ 2,5m/s nesta população a uma razão de risco de morte aumentado (10.1, 95% IC 2.2 a 47). Ataga *et al*., 2006 encontrou um risco relativo de morte associado à HP avaliada por ecocardiograma de 9,24 (95% IC 1,2 a 73,3). De Castro *et al*., 2007, também encontrou uma razão de risco de morte elevado (15.9). Na população pediátrica a VRT aumentada parece não estar associada à mortalidade[12,23], e sim a morbidade[31]. O real papel da VRT e do ecocardiograma na avaliação dos pacientes com DF ainda parece incerto, mas com certeza deve ser utilizado como ferramenta de triagem na população pediátrica[26,27,31].

Referências

1. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2: a011692.

2. Araújo PIC. O autocuidado na doença falciforme. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. 2007; 29: 239-246.
3. Daudt LE, Zechmaister D, Portal L, Neto EC, Silla LMR, Giuliani R. Triagem Neonatal para Hemoglobinopatias: um estudo piloto em Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Cad. Saúde Pública. 2002; 18: 833-841.
4. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Dtsch Arztebl Int. 2011; 108: 532-40.
5. Bunn HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. N Engl J Med. 1997; 337: 762-9.
6. Forget BG, Bunn HF. Classification of the disorders of hemoglobin. Cold Spring Harb Perspect Med. 2013; 3: a011684.
7. Frenette PS, Atweh GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. J Clin Invest. 2007 117: 850-8.
8. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010; 376: 2018-31.
9. Galiè N, Hoeper MM, Humbert M, Torbicki A, Vachiery JL, Barbera JA, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension. Eur Heart J. 2009; 30: 2493-537.
10. Ataga KI, Moore CG, Jones S, Olajide O, Strayhorn D, Hinderliter A, et al. Pulmonary hypertension in patients with sickle cell disease: a longitudinal study. Br J Haematol. 2006; 134: 109-15.
11. Castro O, Gladwin MT. Pulmonary hypertension in sickle cell disease: mechanisms, diagnosis, and management. Hematol Oncol Clin North Am. 2005; 19: 881-96.

12. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. N Engl J Med. 2004; 350: 886-95.
13. Lee MT, Small T, Khan MA, Rosenzweig EB, Barst RJ, Brittenham GM. Doppler-defined pulmonary hypertension and the risk of death in children with sickle cell disease followed for a mean of three years. Br J Haematol. 2009;1 46: 437-41.
14. Howard LS, Grapsa J, Dawson D, Bellamy M, Chambers JB, Masani ND, et al. Echocardiographic assessment of pulmonary hypertension: standard operating procedure. Eur Respir Rev. 2012; 21: 239-48.
15. Ambrusko SJ, Gunawardena S, Sakara A, Windsor B, Lanford L, Michelson P, et al. Elevation of tricuspid regurgitant jet velocity, a marker for pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. Pediatr Blood Cancer. 2006; 47: 907-13.
16. Chaudry RA, Cikes M, Karu T, Hutchinson C, Ball S, Sutherland G, et al. Paediatric sickle cell disease: pulmonary hypertension but normal vascular resistance. Arch Dis Child. 2011; 96: 131-6.
17. Dahoui HA, Hayek MN, Nietert PJ, Arabi MT, Muwakkit SA, Saab RH. Pulmonary hypertension in children and young adults with sickle cell disease: evidence for familial clustering. Pediatr Blood Cancer. 2010; 54: 398-402.
18. Hagar RW, Michlitsch JG, Gardner J, Vichinsky EP, Morris CR. Clinical differences between children and adults with pulmonary hypertension and sickle cell disease. Br J Haematol. 2008; 140: 104-12.

19. Liem RI, Young LT, Thompson AA. Tricuspid regurgitant jet velocity is associated with hemolysis in children and young adults with sickle cell disease evaluated for pulmonary hypertension. Haematologica. 2007; 92: 1549-52.
20. Minniti CP, Sable C, Campbell A, Rana S, Ensing G, Dham N, et al. Elevated tricuspid regurgitant jet velocity in children and adolescents with sickle cell disease: association with hemolysis and hemoglobin oxygen desaturation. Haematologica. 2009; 94: 340-7
21. Nelson SC, Adade BB, McDonough EA, Moquist KL, Hennessy JM. High prevalence of pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2007; 29: 334-7.
22. Onyekwere OC, Campbell A, Teshome M, Onyeagoro S, Sylvan C, Akintilo A, et al. Pulmonary hypertension in children and adolescents with sickle cell disease. Pediatr Cardiol. 2008; 29: 309-12.
23. Pashankar FD, Carbonella J, Bazzy-Asaad A, Friedman A. Longitudinal follow up of elevated pulmonary artery pressures in children with sickle cell disease. Br J Haematol. 2009; 144: 736-41.
24. Sedrak A, Rao SP, Miller ST, Hekmat V, Rao M.A prospective appraisal of pulmonary hypertension in children with sickle cell disease. J Pediatr Hematol Oncol. 2009; 31: 97-100.
25. Gladwin MT, Vichinsky E. Pulmonary complications of sickle cell disease. N Engl J Med. 2008; 359: 2254-65.
26. Beghetti M, Berger RM, Schulze-Neick I, Day RW, Pulido T, Feinstein J, et al. Diagnostic evaluation of paediatric pulmonary hypertension in current clinical practice. Eur Respir J. 2013; 42: 689-700.

27. Widlitz A, Barst RJ. Pulmonary arterial hypertension in children. Eur Respir J. 2003; 21: 155-76.

28. Fonseca GH, Souza R, Salemi VM, Jardim CV, Gualandro SF. Pulmonary hypertension diagnosed by right heart catheterisation in sickle cell disease. Eur Respir J. 2012; 39: 112-8

29. Parent F, Bachir D, Inamo J, Lionnet F, Driss F, Loko G, et al. A hemodynamic study of pulmonary hypertension in sickle cell disease. N Engl J Med. 2011; 365: 44-53.

30. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. N Engl J Med. 2004; 350: 886-95.

31. Klings ES, Machado RF, Barst RJ, Morris CR, Mubarak KK, Gordeuk VR, et al. An official american thoracic society clinical practice guideline: diagnosis, risk stratification, and management of pulmonary hypertension of sickle cell disease. Am J Respir Crit Care Med. 2014; 189: 727-40.

Conclusão

As Hemoglobinopatias são de longe a doença monogênica mais comum no mundo, com cerca de 300 – 400.000 bebês nascendo com estes distúrbios a cada ano (WILLIAMS E WEATHERALL, 2012). Desta forma, é de extrema importância reconhecer e tratar precocemente esta população, visando reduzir as suas complicações.

Dentre as complicações das Hemoglobinopatias, e principalmente da Doença Falciforme (DF), vem surgindo como importante causa de morbi-mortalidade na população adulta e peditrica a Hipertensão Pulmonar (HP) (GLADWIN E VICHINSKY, 2008). Estima-se que cerca de 20-40% destes pacientes apresentem HP (GLADWIN *et al.*, 2004; CASTRO *et al.*, 2005; ATAGA *et al.*, 2006).

Neste estudo, encontramos uma prevalência de velocidade de regurgitação da tricúspide ≥ 2,5m/s, sugestivo de HP em 15% quando avaliada toda a população, e de 20% quando avaliado apenas os pacientes com AF, o que condiz com as prevalências encontradas pelos demais autores. Pela análise dos dados laboratoriais podemos associar os pacientes com esta complicação a um perfil fenotípico da doença com maior grau de hemólise, como postulado por Gladwin e Vichinsky. Podemos concluir então que os pacientes com HbSS estão em maior risco de desenvolver HP. Observamos uma maior incidência de HP nos pacientes do sexo masculino, com idade mais avançada, e encontramos uma associação com a ocorrência de priapismo, dado ainda não relatado na literatura. Não encontramos associação com a STA conforme descrito por Caboot *et al*., e Hagar *et al*.

Devido ao número limitado de pacientes, não foi possível estabelecer associação dos dados clínicos e fatores de risco, assim como não foi possível avaliar os pacientes com outras Hemoglobinopatias, já que todos os pacientes que apresentaram

VRT alterada tinham diagnóstico de AF. Foi optado por não realizar o cateterismo cardíaco nos pacientes com ecocardiograma sugestivo de HP pelos potenciais riscos mencionados acima, o que pode superestimar a prevalência encontrada neste estudo. No entanto, independente do diagnóstico de HP, sabemos que o fato destes pacientes terem uma VRT aumentada implica em aumento de morbidade, devendo esta população receber tratamentos mais intensivos para controle da doença (KLINGS *et al*., 2014).

Em conclusão, o ecocardiograma tem um papel de extrema importância na triagem destes pacientes, incluindo a população pediátrica, e deve fazer parte da rotina de acompanhamento ambulatorial, com intuito de diagnosticar de forma precoce a HP, permitindo que seja possível uma conduta terapêutica adequada, com redução da morbidade. Estudos que avaliem em longo prazo o significado desta complicação na população pediátrica ainda são necessários, assim como abordagens terapêuticas também precisam ser estabelecidas, já que a maioria dos estudos enfoca na população adulta.

FICHA DOS PACIENTES

NOME: _____

PRONT:_____ DATA NASC:_____

IDADE:_____ SEXO:_____

PESO:_____ ALTURA:_____

DIAGNOSTICO:_____ DATA DIAG:_____

METODO DIAGNÓSTICO:_____

EXAMES LABORATORIAIS:

SINTOMAS NOS ÚLTIMOS 3 MESES:_____

_____

_____

_____

USO DE HIDROXIUREIA:_____ DOSE:_____

DATA DE INICIO:_____ TRANSFUSOES:_____

FREQUENCIA:_____ DATA INÍCIO:_____

RX DE TORAX:_____

ECOCARDIOGRAMA:_____

_____

_____

_____

ECODOPPLER CEREBRAL:_____

_____

_____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Após ser esclarecido(a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado(a) de forma alguma.

Título do Projeto: "Prevalência de hipertensão pulmonar em pacientes pediátricos e adolescentes com hemoglobinopatias."

Pesquisador Responsável : Dra. Liane Daudt / Dra. Clarissa Ferreira - Serviço de Hematologia e Transplante de Medula Óssea, 9º andar

Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Rua Ramiro Barcelos, 2350 Santa Cecília, CEP 90035-903 Telefone para contato (inclusive ligações a cobrar): 81066308 / FAX (51) 3359.8317

Comitê de Ética em Pesquisa CEP/ GPPG 2º andar - Hospital de Clínicas de Porto Alegre - Rua Ramiro Barcelos, 2350 Santa Cecília, CEP 90035-903 FAX (51) 3359.8304

Este projeto será realizado com objetivo de avaliar a presença de hipertensão pulmonar, que significa aumento da pressão sanguínea dentro dos vasos do pulmão, uma possível complicação das hemoglobinopatias como a anemia falciforme e a talassemia, em crianças e adolescentes acompanhadas neste ambulatório de hemoglobinopatias do HCPA. A hipertensão pulmonar pode causar sintomas como cansaço, falta de ar, impedindo a realização de algumas atividades básicas do dia a dia. Como qualquer outra complicação, deve ser diagnosticada o mais cedo e rápido possível, para que seja estabelecido o tratamento adequado.

Para participar do estudo, o paciente não terá nenhum gasto financeiro e nem precisará comparecer a outros locais fora do habitual da sua rotina de acompanhamento. Será solicitada a realização de um ecocardiograma com Doppler, exame que utiliza um aparelho com gel sobre o peito para visualizar o coração e os vasos sanguíneos, a ser realizado no próprio hospital. Este exame não apresenta riscos conhecidos ao paciente, o único desconforto previsto é a sensação de frio provocada pelo gel. O resultado será entregue ao paciente assim como todos os outros exames que realiza na próxima

consulta que tiver. Desta forma, o paciente se beneficia com a realização de um exame que pode informar quanto à presença de uma complicação de sua doença de base. A conduta em relação ao resultado do exame será decisão de seu médico assistente, assim como o acompanhamento.

Portanto, a participação consiste apenas na autorização para realização do exame, e utilização de seus dados, não sendo necessários outros procedimentos ou intervenções.

Será respeitada a vontade do paciente em todos os momentos, com sigilo em relação às informações obtidas, e liberdade para retirar o consentimento em qualquer momento, sem prejuízo. Assim como estaremos disponíveis para quaisquer dúvidas e esclarecimentos durante todo o tempo de realização do estudo.

Pesquisador

Nome: _____

Assinatura:_____

Data e Local: _____

Paciente

Eu, _____, responsável pelo paciente _____, portadora do RG_____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo "Prevalência de hipertensão pulmonar em pacientes pediátricos e adolescentes com hemoglobinopatias" como sujeito. Fui devidamente informado e esclarecido pelo pesquisador _____sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/ assistência/tratamento.

Local e data _____/_____/_____/

Nome: _____

Assinatura do sujeito ou responsável: