

Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Análise das alterações laboratoriais relacionadas ao hemograma, à dosagem de bilirrubinas e lactato desidrogenase como fatores preditores de crises vaso-oclusivas em crianças com anemia falciforme

Uberaba

2024

Adriana Machado Martins

Análise das alterações laboratoriais relacionadas ao hemograma, à dosagem de bilirrubinas e lactato desidrogenase como fatores preditores de crises vaso-oclusivas em crianças com anemia falciforme

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, como requisito para obtenção do título de mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Bernadelli De Vito

Coorientador: Prof. Dr. Helio Moraes de Souza

Uberaba

2024

**Catálogo na fonte: Biblioteca da Universidade Federal do
Triângulo Mineiro**

M341a Martins, Adriana Machado
Análise das alterações laboratoriais relacionadas ao hemograma, à dosagem de bilirrubinas e lactato desidrogenase como fatores preditores de crises vaso-oclusivas em crianças com anemia falciforme / Adriana Machado Martins. – 2024.
60 p. : il., fig., graf., tab.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) -- Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 2024
Orientadora: Profa. Dra. Fernanda Bernadelli De Vito
Coorientador: Prof. Dr. Helio Moraes de Souza

1. Anemia falciforme. 2. Contagem de células sanguíneas. 3. Bilirrubina.
4. L-Lactato desidrogenase. 5. Biomarcadores. I. De Vito, Fernanda Bernadelli. II. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. III. Título.

616.155.194

Sônia Maria Rezende Paolinelli - Bibliotecária CRB-6/1191

ADRIANA MACHADO MARTINS

ANÁLISE DAS ALTERAÇÕES LABORATORIAIS RELACIONADAS AO HEMOGRAMA, À DOSAGEM DE BILIRRUBINAS E LACTATO DESIDROGENASE COMO FATORES PREDITORES DE CRISES VASO-OCCLUSIVAS EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, área de concentração “Medicina Translacional” (Linha de Pesquisa: Aspectos clínicos, diagnósticos e terapêuticos das doenças) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Uberaba, 28 de fevereiro de 2024

Banca Examinadora:

Dra. Fernanda Bernadelli De Vito – Orientadora
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dra. Sarah Cristina Sato Vaz Tanaka
Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Dr. Denys Eiti Fujimoto
Universidade de Santo Amaro



Documento assinado eletronicamente por **FERNANDA BERNADELLI DE VITO**, Técnico-Administrativo em Educação, em 28/02/2024, às 10:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por **SARAH CRISTINA SATO VAZ TANAKA**, Técnico-Administrativo em Educação, em 28/02/2024, às 10:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



Documento assinado eletronicamente por **Denys Eiti Fujimoto, Usuário Externo**, em 28/02/2024, às 10:27, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#) e no art. 34 da [Portaria Reitoria/UFTM nº 165, de 16 de junho de 2023](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.uftm.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1199416** e o código CRC **0F885D00**.

Este trabalho é dedicado a Deus, a minha
mãe, a meus filhos e a todos que tomaram e
tomam parte em minha trajetória.

AGRADECIMENTOS

Agradecer é a forma de compartilhar a felicidade da realização de um sonho e reconhecer que não caminhamos sós. Assim, agradeço a Deus pela vida e pelas oportunidades. À minha família, por tanta confiança, carinho e amor incondicional. Em especial à minha mãe e meus filhos, cuja colaboração foi imprescindível.

À minha querida orientadora professora Fernanda Bernadelli De Vito, pela assistência e por acreditar que eu seria capaz, me auxiliando e me apoiando sempre. E ao meu coorientador, professor Helio Moraes de Souza, cuja homenagem emérita traduz e releva toda sua trajetória.

A toda equipe de Hematologia e do Laboratório de Pesquisa da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, amigos e mestres, que em algum momento se colocaram disponíveis para que hoje pudéssemos participar da conclusão deste trabalho, a minha gratidão.

Dedico esta realização à minha mãe e meus queridos filhos, Yasmim e Gabriel. É por vocês que tento, a cada dia, ser uma pessoa melhor.

RESUMO

Crianças com anemia falciforme frequentemente procuram serviços de emergência para tratamento de crises vaso-oclusivas (CVO). As complicações de longo prazo da VOC incluem danos a múltiplos órgãos além reduzir consideravelmente a qualidade de vida e aumentar o risco de morte. Ações preventivas para CVO poderiam contribuir para um melhor atendimento destes pacientes. Diante disso, este estudo monitorou as alterações dos exames hematológicos e bioquímicos em crianças (menores de 18 anos) com anemia falciforme (HbSS) durante a ocorrência de CVO. Dados relacionados ao hemograma como número de hemácias, concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (*red cell distribution width* - RDW), contagem de reticulócitos, número de leucócitos e número de plaquetas, bem como dosagem de bilirrubinas e lactato desidrogenase (LDH) foram analisados. Estes mesmos exames foram avaliados nas duas consultas que precederam a crise, nas quais o paciente não apresentava queixa de dor ou outras complicações. Os pacientes foram subdivididos quanto ao uso ou não de hidroxiureia. Durante o período avaliado, foram identificados 133 episódios de atendimento de urgência sendo que destes, 76 estavam relacionados à CVO. Foi observada uma diminuição no número de hemácias, hematócrito, níveis de hemoglobina, HCM, plaquetas, eosinófilos e um aumento do número de leucócitos totais, neutrófilos, monócitos, níveis de bilirrubina direta na CVO em comparação ao encontrado na consulta de rotina. Pacientes que não estavam em uso de hidroxiureia apresentaram menores valores de hematócrito, VCM e maiores índices de RDW durante as consultas de rotina, bem como níveis mais baixos de hematócrito e VCM, maior número de monócitos e linfócitos e níveis mais elevados de bilirrubina direta durante os episódios de crise, em comparação àqueles que estavam em uso da medicação. Valores de CHCM, RDW, bilirrubina direta e LDH aumentaram significativamente na consulta que precedeu a CVO, comparada à consulta de rotina anterior a essa, sugerindo que estes marcadores poderiam ser indicativos de um prenúncio de crise. Diante dos achados relacionados aos parâmetros hematológicos e bioquímicos de crianças com anemia falciforme durante a CVO, principalmente sobre o uso da hidroxiureia, acreditamos que conseguimos ajudar a entender a fisiopatologia da doença. Cabe estender as análises aqui apresentadas para estabelecer se estes parâmetros poderiam ser considerados preditores de CVO em toda a população de pacientes com anemia falciforme.

Palavras-chave: anemia falciforme; crise vaso-oclusiva; hemograma; bilirrubina; lactato desidrogenase; biomarcadores.

ABSTRACT

Children with sickle cell anemia frequently seek emergency services for treatment of vaso-occlusive crises (VOC). The long-term complications of VOC include damage to multiple organs, considerably reduced quality of life, and increased risk of death. Preventive actions for VOC could contribute to better care for these patients. Given this, this study monitored changes in hematological and biochemical tests in children (under 18 years of age) with sickle cell anemia (HbSS) during the occurrence of VOC. Blood count data such as red blood cell count, hemoglobin concentration (Hb), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), red cell distribution width (RDW), reticulocyte count, leukocyte count and platelet count, as well as bilirubin and lactate dehydrogenase (LDH) levels were analyzed. These same tests were assessed at the two appointments preceding the crisis, at which the patient had no complaints of pain or other complications. Patients were subdivided according to whether or not they used hydroxyurea. During the period evaluated, 133 episodes of emergency care were identified, 76 of which were related to VOC. A decrease was observed in the number of red blood cells, hematocrit, hemoglobin levels, MCH, platelets, and eosinophils and an increase in the number of total leukocytes, neutrophils, monocytes, conjugated bilirubin levels in the VOC compared to that found in the routine consultation. Patients who were not taking hydroxyurea had lower hematocrit and MCV values and higher RDW indices during routine consultations, as well as lower hematocrit and MCV levels, higher numbers of monocytes and lymphocytes and higher levels of direct bilirubin during crisis episodes, compared to those who were taking the medication. Values of MCHC, RDW, conjugated bilirubin, and LDH increased significantly in the consultation that preceded the VOC, compared to the routine consultation before it, suggesting that these markers could be indicative of a harbinger of crisis. Because of the findings related to the hematological and biochemical parameters of children with sickle cell anemia during VOC, especially regarding the use of hydroxyurea, we believe that we have been able to help understand the pathophysiology of the disease. The analyses presented here should be extended to establish whether these parameters could be considered predictors of VOC in the entire population of patients with sickle cell anemia.

Keywords: anemia, sickle cell; vase-occlusive crisis; blood cell count; bilirubin; lactate dehydrogenase; biomarkers.

LISTA DE SIGLAS

AF: anemia falciforme

CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média

CVO: crise vaso-oclusiva

DF: doença falciforme

LDH: lactato desidrogenase

GLU: ácido glutâmico

Hb: hemoglobina

HbF: hemoglobina fetal

HbS: hemoglobina S

HCT: hematócrito

HU: hidroxúria

RDW: índice relacionado ao tamanho eritrocitário

TGO: transaminase oxalacética

TGP: transaminase pirúvica

UFTM: Universidade Federal do Triângulo Mineiro

VAL: valina

VCM: volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 DESENVOLVIMENTO	11
2.1 REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1.1 Anemia falciforme - conceitos.....	11
2.1.2 Dados epidemiológicos.....	12
2.1.3 Diagnóstico.....	12
2.1.4 Fisiopatologia e complicações.....	13
2.1.5 Alterações laboratoriais na crise vaso-oclusiva em pacientes com anemia falciforme.....	14
2.1.6 Tratamento de pacientes com anemia falciforme na crise vaso-oclusiva.....	16
2.2 JUSTIFICATIVA.....	17
2.3 HIPÓTESE.....	18
2.4 OBJETIVO GERAL.....	19
2.4.1 Objetivos específicos.....	19
2.5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
2.5.1 Caracterização do estudo e aspectos éticos.....	20
2.5.2 Caracterização da amostra.....	20
2.5.3 Dados avaliados.....	20
2.5.4 Análise estatística.....	20
2.6 RESULTADOS.....	22
2.7 DISCUSSÃO.....	28
3 CONCLUSÕES	32
4 REFERÊNCIAS	33

ANEXO A – Parecer consubstanciado do CEP

ANEXO B – Artigo submetido

1. INTRODUÇÃO

O termo “doença falciforme” refere-se ao grupo das hemoglobinopatias relacionadas à presença da hemoglobina S (HbS). A HbS é caracterizada por uma mutação missense na posição 6 da cadeia β , na qual o aminoácido ácido glutâmico é substituído por valina ($\beta 6^{GLU} \rightarrow^{VAL}$). Pode ocorrer na forma homozigótica, ocasionando a anemia falciforme (HbSS), mas também pode ocorrer a combinação da HbS com outros tipos de hemoglobinas alteradas, como a hemoglobina C e a beta-talassemia (NAGEL *et al.*, 1985; SEAKINS *et al.*, 1973).

A anemia falciforme (AF) é a forma mais grave das doenças falciformes e de maior prevalência no país, afetando cerca de 0,1% a 0,3% da população negra. Em virtude da alta taxa de miscigenação, um aumento na ocorrência de anemia falciforme tem sido observado na população caucasiana brasileira. Estimativas indicam que 5% a 6% da população carrega o gene da HbS e que a incidência fica em torno de 700 – 1000 novos casos por ano (ALMEIDA, BERETTA, 2017).

A dor é uma complicação da AF e é geralmente aguda, frequente e grave. Esta manifestação é consequência da fisiopatologia subjacente da crise vaso-oclusiva, uma vez que quando as hemácias adquirem forma de foice, em situações de estresse e baixa de oxigenação, tornam-se mais aderentes ao endotélio e obstruem vasos sanguíneos causando isquemia, dando início a um processo inflamatório no local (RAMSAY, 2021).

Pacientes com AF sofrem desde o nascimento com morbidades e limitações que uma doença crônica causa. Levando isso em consideração, há uma necessidade da realização de pesquisas que busquem não só a longevidade, mas também uma melhor qualidade de vida a estes pacientes (LINO *et al.*, 2021).

Uma vez que a maioria das complicações da doença está relacionada à frequência de crises vaso-oclusivas e que estas poderiam ter relação direta com parâmetros hematológicos, a presente proposta visa avaliar se alterações nos exames laboratoriais como hemograma, contagem de reticulócitos e dosagens de bilirrubinas e lactato desidrogenase (LDH) poderiam ser fatores preditivos de crises vaso-oclusivas em crianças com AF.

2. DESENVOLVIMENTO

2.1 REVISÃO DA LITERATURA

2.1.1 Anemia falciforme - conceitos

Doença falciforme (DF) é um termo que engloba um grupo de doenças genéticas hereditárias do sangue, sendo a anemia falciforme (AF - HbSS) a forma mais comum e mais grave. Outras formas de doença falciforme incluem a hemoglobina SC (HbSC) e a hemoglobina S β -talassemia. A hemoglobina (Hb) é uma proteína tetramérica composta por diferentes associações de subunidades de globina, cada subunidade da globina está ligada ao cofator heme, que pode levar uma molécula de oxigênio. A hemoglobina é a principal proteína intracelular da hemácia e também está presente nos reticulócitos (hemácias imaturas). Vários genes codificam diferentes tipos de proteínas globinas, e suas muitas junções tetraméricas criam vários tipos de Hb, que são produzidas em diferentes fases da vida – embrionária, fetal e adulta. A hemoglobina A (HbA) é a forma mais frequente no organismo, que representa mais 90% da Hb adulta. É composta por duas subunidades de α -globina (codificadas pelos genes *HBA1* e *HBA2* duplicados) e duas subunidades de β -globina (NEEL, 1949; KATO *et al.*, 2018).

Quando ocorre a troca de um único nucleotídeo no gene que codifica a hemoglobina, surge o alelo falciforme β^S . A proteína alterada criada a partir deste alelo é a subunidade falciforme da β -globina. Quando há baixa concentração de oxigênio ou quando esta Hb não está ligada ao oxigênio, os tetrâmeros que juntam duas dessas subunidades falciformes mutantes da β -globina polimerizam e fazem com que os eritrócitos adquiram uma forma de meia lua ou foice (BUNN, 1997)

Quando uma pessoa herda o alelo do gene da hemoglobina S de ambos os pais, esta manifesta a anemia falciforme, exibindo assim o genótipo HbSS. Quando herda um gene b^S de um dos pais e um gene *HbA1* do outro, ela é portadora do traço falciforme (HbAS). Indivíduos com o traço falciforme geralmente não apresentam os sintomas da anemia falciforme, uma vez que as hemácias raramente se tornam falciformes, já que a quantidade de HbS é menor que a de HbA, o que dificulta a alteração estrutural da molécula. Entretanto, estes indivíduos podem transmitir o gene mutado para seus filhos. Já a junção da HbS com outras hemoglobinas pode alterar a estrutura, como por exemplo, a HbD e a HbC. (WINTROBE, 1981).

2.1.2 Dados epidemiológicos

Em torno de 300.000 crianças nascem por ano no mundo com a forma homocigótica e mais grave da doença falciforme (HbSS), sendo que mais da metade ocorre na Nigéria, Índia e República Democrática do Congo (KAVANAGH *et al.*, 2022).

No Brasil, entre 2014 e 2020, a média anual de novos casos de crianças diagnosticadas com doença falciforme registrada pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal foi de 1.087, com uma incidência de 3,78 a cada 10 mil nascidos vivos. Estima-se que, atualmente, há entre 60 mil e 100 mil pacientes com doença falciforme no país. A distribuição no Brasil é bastante heterogênea, sendo a Bahia, o Distrito Federal e o Piauí as unidades federadas de maior incidência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2022). Nos estados brasileiros, a distribuição é maior onde a população negra é mais predominante, apesar de a doença ocorrer também entre brancos (PEREIRA *et al.*, 2008).

Em estados como Santa Catarina e Paraná há uma incidência menor comparada à do resto do país, de um recém-nascido diagnosticado com a doença falciforme para cada 13.500 nascimentos, muito provavelmente porque a população negra é menor na região sul do país. No estado de São Paulo, a incidência da doença falciforme pode chegar a 1:4.000, no Espírito Santo 1:1.800, em Goiás 1:1.300, e até 1:650 na Bahia (SILVA, 2016). No estado de Minas, segundo os dados do Programa de Triagem Neonatal, a incidência da doença falciforme é de um caso para cada 1.400 recém-nascidos, sendo mais da metade HbSS (PTN-MG, 2016).

2.1.3 Diagnóstico

Alguns países como os Estados Unidos da América (EUA) realizam o rastreio neonatal de todas as crianças; já em outros países, o rastreio é opcional ou realizado de forma seletiva, resultando potencialmente na negligência do diagnóstico da doença falciforme em alguns pacientes (CDC, 2012).

No Brasil o diagnóstico da anemia falciforme geralmente ocorre na Atenção Básica, por meio da triagem neonatal (“teste do pezinho”), realizado entre o 3º e 5º dia pós-nascimento. Quando o teste é positivo, é realizado o encaminhamento para o Serviço de Atenção Especializada da região. A triagem é realizada em amostras de sangue obtidas por punções no calcanhar da criança, visando detectar a presença de variantes de hemoglobina. Cromatografia líquida de alto desempenho ou testes de focalização isoelétrica são utilizados para detectar a presença de variantes de hemoglobina e o diagnóstico é confirmado pela eletroforese de hemoglobina (Ministério da Saúde, 2018).

1 Quando a anemia falciforme não é identificada na triagem neonatal, pode ser
2 diagnosticada como parte da avaliação de uma anemia com ou sem ocorrência de dor aguda.
3 A detecção de HbS e suas associações com outras hemoglobinas variantes é realizada por
4 eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose (eletroforese alcalina) e/ou eletroforese de
5 hemoglobina em agarose (eletroforese ácida). Além disso, é realizada a dosagem dos tipos de
6 hemoglobina, incluindo a hemoglobina fetal (HbF) (DUARTE, 2014).

7 8 **2.1.4 Fisiopatologia e complicações**

9 A fisiopatologia da anemia falciforme (AF) inicia-se na polimerização das moléculas
10 de HbS em condições de falta oxigenação, causando a alteração da forma da hemácia. Essa
11 variação estrutural do eritrócito é conhecida como “falcização” (SUNDD *et al.*, 2019). Esse
12 processo de falcização pode ser revertido quando se aumenta a pressão parcial de O₂;
13 entretanto quando ocorrem repetidas falcizações, esse processo altera de forma irreversível a
14 estrutura da membrana da hemácia (FERREIRA e GOUVÊA, 2018).

15 A hemólise recorrente dos eritrócitos, combinada com o aumento da viscosidade
16 devido à deformação nestas células promove aderência anormal ao endotélio que associados à
17 cascata inflamatória causam vaso-oclusões, que culminam em crises dolorosas, podendo se
18 apresentar de forma aguda recorrente, levando à disfunção multiorgânica significativa e
19 mortalidade prematura (CONRAN *et al.*, 2009; CARDEN *et al.*, 2019; SUNDD *et al.*, 2019).
20 A vaso-oclusão gera uma isquemia no local, causando dor aguda, podendo variar sua
21 intensidade de leve a insuportável (SIL *et al.*, 2016).

22 Além da dor, as complicações de longo prazo da vaso-oclusão incluem danos a
23 músculos e/ou ossos e a órgãos vitais como o fígado, baço, rins e cérebro. Esta dor intensa
24 ligada às crises vaso-oclusivas também tem um efeito importante na piora da qualidade de
25 vida destes indivíduos, sendo a principal causa de procura a serviços de urgência e
26 hospitalizações (BALLAS, 2007; OSUNKWO *et al.*, 2020).

27 O acometimento pulmonar é uma das principais complicações na AF que resulta em
28 significativa morbimortalidade na faixa pediátrica. A síndrome torácica aguda (STA) é a
29 segunda causa de hospitalização na doença falciforme e é responsável por até 25% das causas
30 de óbito. Após o primeiro episódio, há muitas chances de recorrência, sendo imperativo o
31 diagnóstico preciso. É importante salientar que episódios repetidos estão associados ao
32 desenvolvimento de doença pulmonar crônica e mortalidade precoce (STOUSE *et al.*, 2008).

1 O segundo órgão mais afetado em pacientes com anemia falciforme são os ossos. Pode
2 ocorrer osteonecrose asséptica da cabeça do fêmur, necrose avascular do quadril, necrose
3 epifisária superior do fêmur por isquemia ou infarto ósseo, que podem afetar entre 20 e 50%
4 dos pacientes falciformes (DALTRO *et al.*, 2018).

5 A hemólise intravascular crônica representa o maior fator de risco para o
6 desenvolvimento de Hipertensão Arterial Pulmonar que leva à vasoconstrição da arteríola
7 pulmonar. A doença pulmonar obstrutiva pode ser observada em 16% das crianças e 8% dos
8 adultos enquanto a doença pulmonar restritiva pode ser observada em até 28% dos adultos e
9 7% das crianças (COHEN *et al.*, 2016).

10 Complicações do sistema nervoso central ocorrem com aumento da adesão falciforme
11 dos glóbulos vermelhos e ativação endotelial causada por hemólise a mudança do tônus
12 vasomotor e os acidentes vasculares cerebrais se tornam evidente nestes pacientes (SWITZER
13 *et al.*, 2006). Os acidentes vasculares cerebrais manifestam-se como fraqueza ou parésia,
14 disartria ou afasia, convulsões, déficits sensoriais, cefaleias ou alteração do nível de
15 consciência, enquanto os infartos cerebrais silenciosos estão associados a déficits cognitivos e
16 desempenho acadêmico prejudicado (DEBAUN *et al.*, 2020).

17 Devido à grande quantidade de hemólise na AF, o baço aumenta o volume e agrava o
18 quadro de anemia e hipovolemia. A asplenia funcional ocorre quando o sequestro esplênico
19 das hemácias é reincidente, tornando-o fibrótico e calcificado (BRUNETTA *et al.*, 2010). O
20 sequestro esplênico é uma complicação potencialmente fatal. Ocorre mais comumente antes
21 dos cinco anos de idade, mas pode ocorrer em qualquer idade. Uma opção é a esplenectomia
22 eletiva ou terapia transfusional crônica (BECK *et al.*, 2022).

23 As complicações renais geralmente não promovem sintomas no início, mas tendem à
24 piora com a idade. A hiperfiltração leva ao aumento da albumina e ocorre um aumento
25 absoluto na taxa de filtração glomerular que pode ser observada em 43% das crianças com
26 doença falciforme (LEBENSBURGER *et al.*, 2019).

27 A retinopatia tem apresentação silenciosa, sendo necessários exames periódicos, pois
28 tem incidência de 3% na AF. Já a retinopatia falciforme proliferativa se desenvolve em 14%
29 dos pacientes. A incidência da retinopatia tende a aumentar com a idade e podendo levar a
30 10% da perda visual destes pacientes (DOWNES *et al.*, 2005).

31 32 **2.1.5 Alterações laboratoriais na crise vaso-oclusiva em pacientes com anemia falciforme**

33 No hemograma, a drepanocitose eritrocitária (aumento de hemácias falcizadas),
34 característica da AF, pode ser observada por meio de microscópio óptico. O aparelho

1 automatizado de hemograma fornece informações complementares por meio dos índices
2 hematimétricos e da contagem de leucócitos e plaquetas, que têm importância na avaliação da
3 evolução da doença (NOGUEIRA *et al.*, 2013). O paciente com AF pode apresentar RDW
4 (amplitude de distribuição dos eritrócitos) índice relacionado ao tamanho eritrocitário,
5 consideravelmente alto (acima de 19%), apesar de apresentar CHCM (concentração de
6 hemoglobina corpuscular média) normal ou até mesmo aumentado, por conta da desidratação
7 celular. O aumento dos reticulócitos é indicativo de atividade proliferativa compensatória da
8 medula óssea frente ao aumento de hemólise (ARAI *et al.*, 2011). A presença de leucocitose
9 pode indicar aumento de hemólises, processo pelo qual os monócitos destroem as hemácias
10 através da fagocitose (PRUDENCIO *et al.*, 2000).

11 Alguns trabalhos relatam que a contagem total e diferencial de leucócitos, eritrócitos e
12 reticulócitos têm utilidade clínica limitada como fator preditivo de crise. Frush e
13 colaboradores (1995) analisaram 146 visitas de pacientes pediátricos com anemia falciforme a
14 um pronto-socorro por febre ou controle da dor e concluíram que a contagem de leucócitos e a
15 contagem absoluta de neutrófilos não eram preditivas de admissão.

16 Já Chapman e colaboradores (2004) relataram posteriormente 86 visitas de crianças
17 com anemia falciforme ao pronto-socorro devido a crises de dor. O estudo não demonstrou
18 diferença significativa na contagem de leucócitos, diferenciais, contagens de reticulócitos e
19 contagens absolutas de neutrófilos entre cursos hospitalares complicados e não complicados.
20 Por outro lado, encontraram uma pequena, mas estatisticamente significativa mudança nos
21 valores de hemoglobina entre os pacientes que receberam alta do pronto-socorro e aqueles que
22 necessitaram de internação. Os pacientes que receberam alta hospitalar demonstraram um
23 aumento da hemoglobina de 0,2 g/dL em relação à hemoglobina em estado estacionário,
24 enquanto aqueles admitidos apresentaram uma queda de 0,2 g/dL em relação ao estado
25 estacionário. Embora a diferença tenha se mostrado estatisticamente significativa, os autores
26 do artigo acreditam que sua utilidade clínica é limitada, sendo necessários mais estudos sobre
27 o tema.

28 Ao avaliar preditores clínicos e laboratoriais da frequência de crises dolorosas entre
29 pacientes com anemia falciforme na Nigéria, Ugwu e colaboradores (2017) observaram que
30 os valores médios dos parâmetros hematológicos, incluindo concentração de hemoglobina,
31 contagem de leucócitos, contagem de plaquetas e contagem de neutrófilos, foram
32 significativamente maiores naqueles com crises graves do que nas crises leves a moderadas.

33 Em meados da década de 1970, alguns estudos foram conduzidos em pacientes adultos
34 e concluíram que a contagem de plaquetas tem quedas estatisticamente significativas durante

1 os momentos de crise (GORDON *et al.*, 1974; FREEDMAN e KARPATKIN, 1975;
2 ALKJAERSIG *et al.*, 1976; IBANGA, 2003). Existe um corpo de literatura que sugere que as
3 plaquetas desempenham um papel significativo na doença das células falciformes. A maioria
4 desses estudos enfoca a função plaquetária, incluindo alterações na ativação, agregação e
5 mediadores plaquetários, durante o estado estacionário (sem crise) da doença com o objetivo
6 de revelar novas opções terapêuticas para pacientes envolvendo antiplaquetários, intervenções
7 trombolíticas e de anticoagulação (FRANCIS, 1991; WUN *et al.*, 1997; ATAGA e
8 ORRINGER, 2003).

9 Os marcadores hemolíticos e a concentração sérica de lactato desidrogenase (LDH)
10 estão elevados na AF, sobretudo em episódios de síndrome torácica aguda. As concentrações
11 de bilirrubina total e indireta também aparecem elevadas e pode ser associada à
12 hepatomegalia (CERQUEIRA *et al.*, 2010).

13

14 **2.1.6 Tratamento de pacientes com anemia falciforme na crise vaso-oclusiva**

15 O tratamento durante a CVO envolve hidratação venosa e analgesia. Quando a dor é
16 leve, analgésicos como dipirona e paracetamol são administrados por via oral e, em casos
17 mais graves, o uso de opióides endovenosos como a morfina se faz necessário. Entretanto, o
18 uso de opióides aumenta a chance de pacientes apresentarem dor torácica seguida de febre,
19 dispnéia e hipoxemia caracterizando a síndrome torácica aguda, complicação que conduz a
20 um maior índice de mortalidade na doença falciforme (ZAGO *et al.*, 2007).

21 A transfusão não é a primeira opção para tratamento de CVO, entretanto, quando
22 evolui para síndrome torácica aguda ou o paciente apresenta $Hb < 5g/dL$, passa a ser uma
23 escolha e, dependendo da gravidade, pode ser associada à exsanguínea. A escolha entre
24 transfusão simples ou transfusão de troca dependerá dos níveis de hemoglobina (Hb) do
25 paciente. Os valores de hemoglobina pós-transfusionais devem ser maiores ou iguais a $10g/dL$
26 (GLASSBERG, 2011).

27 A hidroxiureia (HU) é um inibidor da ribonucleotídeo reductase que induz a produção
28 de hemoglobina fetal (HbF), que normalmente é suprimida logo após o nascimento. É um
29 agente citotóxico que além de aumentar a produção de HbF, promove o aumento do volume
30 corpuscular médio, aumento da hidratação da hemácia e melhora os níveis de hemoglobina
31 (FIGUEIREDO *et al.*, 2007). A hidroxiureia também aumenta as concentrações de óxido
32 nítrico (um potente vasodilatador) e diminui a adesão das hemácias (que contribui para a
33 vaso-oclusão). Um outro aspecto favorável que tem sido observado no tratamento com HU é a
34 diminuição da expressão de moléculas de adesão tais como fosfatidilserina da superfície

1 eritrocitária e plaquetária, bem como a diminuição das proteínas receptoras localizadas em
2 células endoteliais, contribuindo desse modo para a redução das crises vaso-oclusivas
3 (COVAS *et al.*, 2004). A hidroxiureia é indicada como medicação de primeira linha e deve
4 ser prescrita a partir dos 9 meses de idade (BRASIL, 2018).

5 Apesar disso, os pacientes com AF frequentemente apresentam eventos de CVO,
6 sendo tratados apenas os sintomas da crise. Assim, torna-se necessária a realização de estudos
7 que visem compreender o mecanismo patológico do processo vaso-oclusivo com o objetivo
8 de reduzir a frequência e gravidade das crises e, por conseguinte, diminuir a lesão aos tecidos
9 e órgãos.

10 A expectativa de vida é aproximadamente de 47 anos, 20 anos inferior à da população
11 em geral, podendo ser afetada por vários fatores do indivíduo e do meio. Os fatores
12 intrínsecos incluem frequência de crises, cronicidade das complicações e dinâmica
13 psicológicas os fatores socioculturais; relacionamentos, emprego e educação. Tem ainda o
14 acesso a saúde, opções terapêuticas e os fatores estruturais (KAVANAGH *et al.*, 2022).

16 2.2 JUSTIFICATIVA

17 Crianças com doença falciforme frequentemente procuram serviços de emergência
18 para tratamento de CVO. Além disso, pesquisas mostram que pacientes com anemia
19 falciforme correm maior risco de dependência de opioides do que outras populações de
20 pacientes (OSBORNE *et al.*, 2021). O acompanhamento e tratamento precoce das crianças
21 com anemia falciforme é imprescindível para minimizar as morbidades resultantes das crises
22 vaso-oclusivas que têm sua ocorrência já nos primeiros meses de vida. De acordo com o local
23 da oclusão, o dano pode ser leve e reversível como uma dactilite (inflamação das mãos), ou
24 até grave e irreversível como um AVC, que poderá afetar todo o seu desenvolvimento
25 neuropsicomotor. Portanto, se faz necessária a intervenção cada vez mais adiantada, para que
26 estes pacientes possam chegar à idade adulta e com o mínimo de lesões possíveis.

27 Uma vez que atualmente contamos apenas com o tratamento da sintomatologia na
28 maioria dos casos de CVO, fica claro que pesquisas que visam uma atuação preventiva da
29 CVO podem contribuir para um melhor atendimento destes pacientes. A literatura científica
30 ainda não chegou a um consenso se parâmetros laboratoriais poderiam auxiliar como
31 preditores de crise. Entretanto, é preciso realizar a monitorização das alterações de exames
32 hematológicos e bioquímicos não só no momento da crise, mas também em situações em que
33 não haja sintomatologia para determinar realmente se alterações laboratoriais podem indicar
34 um prenúncio de CVO.

1 2.3 HIPÓTESE

2

3 Alterações de exames laboratoriais relacionados ao hemograma e à dosagem de
4 bilirrubinas e lactato desidrogenase podem ser fatores preditivos para a ocorrência de crises
5 vaso-oclusivas em crianças com anemia falciforme.

1 2.4 OBJETIVO GERAL

2

3 Analisar as alterações de exames laboratoriais relacionados ao hemograma e à
4 dosagem de bilirrubinas e lactato desidrogenase de crianças com AF com crises vaso-
5 oclusivas e verificar se existe algum fator preditor para esta complicação.

6

7 **2.4.1 Objetivos específicos**

8

9 1. Analisar quais as alterações no hemograma e na dosagem de bilirrubinas e lactato
10 desidrogenase de crianças com AF ocorrem nas crises vaso-oclusivas.

11 2. Comparar as alterações dos resultados quanto ao uso de hidroxiureia, em exames pré-crise
12 e durante a crise vaso-oclusiva em crianças com AF.

13 3. Determinar a existência de fatores preditivos da ocorrência de crises vaso-oclusivas em
14 crianças com AF.

2.5 MATERIAIS E MÉTODOS

2.5.1 Caracterização do estudo e aspectos éticos

Trata-se de um estudo primário, observacional, transversal de coorte. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFTM por meio da Plataforma Brasil (CAAE: CAAE: 63873722.8.0000.8667) (Anexo 1).

2.5.2 Caracterização da amostra

Foram incluídos no estudo pacientes com anemia falciforme (homozigotos SS), menores de 18 anos, que buscaram pronto atendimento no Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HC/UFTM) por crise-vaso oclusiva, no período de 2016 a 2022.

Foram excluídos da pesquisa os casos em que o atendimento no HC/UFTM se deu por infecção ou febre a esclarecer, aqueles que faziam acompanhamento ambulatorial onde o intervalo entre as consultas foi superior a cinco meses e os pacientes que receberam transfusão de sangue antes de 1 mês de sua consulta ou visita ao pronto-atendimento.

2.5.3 Dados avaliados

Foram analisados os resultados dos exames hemograma, dosagem de bilirrubinas e LDH dos pacientes em todos os episódios de crise-vaso oclusiva atendidos no HC/UFTM, no primeiro dia de atendimento, por meio dos seus prontuários eletrônicos.

Dados relacionados ao hemograma como número de hemácias, concentração de hemoglobina (Hb), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), amplitude de distribuição dos glóbulos vermelhos (red cell distribution width - RDW), contagem de reticulócitos, número de leucócitos e número de plaquetas, bem como dosagem de bilirrubinas e LDH foram coletados e inseridos em planilha eletrônica para posterior análise. Estes mesmos exames foram também avaliados nas duas consultas que precederam a crise, nas quais o paciente não apresentava queixa de dor ou outras complicações. Os pacientes foram subdivididos quanto ao uso ou não de hidroxiureia.

2.5.4 Análise estatística

A análise descritiva dos dados foi apresentada em valores absolutos e porcentagens. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk.

1 As estatísticas comparativas do mesmo paciente, em dois momentos (última consulta vs. crise
2 ou entre as duas últimas consultas) foram realizadas com os testes t pareado ou Wilcoxon, de
3 acordo com a normalidade dos dados. Análises comparando o uso de hidroxiureia foram
4 realizadas por meio dos testes t student (para os dados paramétricos) ou o teste Mann-
5 Whitney (para os não paramétricos). Todas as análises foram realizadas com o software
6 GraphPad Prism versão 9.5.1 (San Diego, CA), sendo as diferenças consideradas
7 significativas quando $p < 0,05$.

2.6 RESULTADOS

Todos diagnósticos com doença falciforme pelo teste do pezinho são encaminhados ao Hemocentro Regional de Uberaba - Fundação Hemominas e, entre os anos 2016 e 2022, foram documentados 77 casos de doença falciforme em menores de 18 anos. Destes, 17 apresentavam HbS associada à HbC (HbSC) e seis HbS associada à beta-talassemia, sendo os restantes 54 pacientes com anemia falciforme (HbSS). Quatorze deles nunca haviam procurado o atual Serviço de Saúde. Outros quatro compareceram apenas a uma ou duas consultas e não deram continuidade ao tratamento. Dos demais, um paciente fez acompanhamento em serviço privado de saúde, dois não tiveram crise registrada e outros dois tiveram crise constante, portanto não foi possível coletar dados no período estacionário (fora de crise) durante as consultas, como delimitado na metodologia.

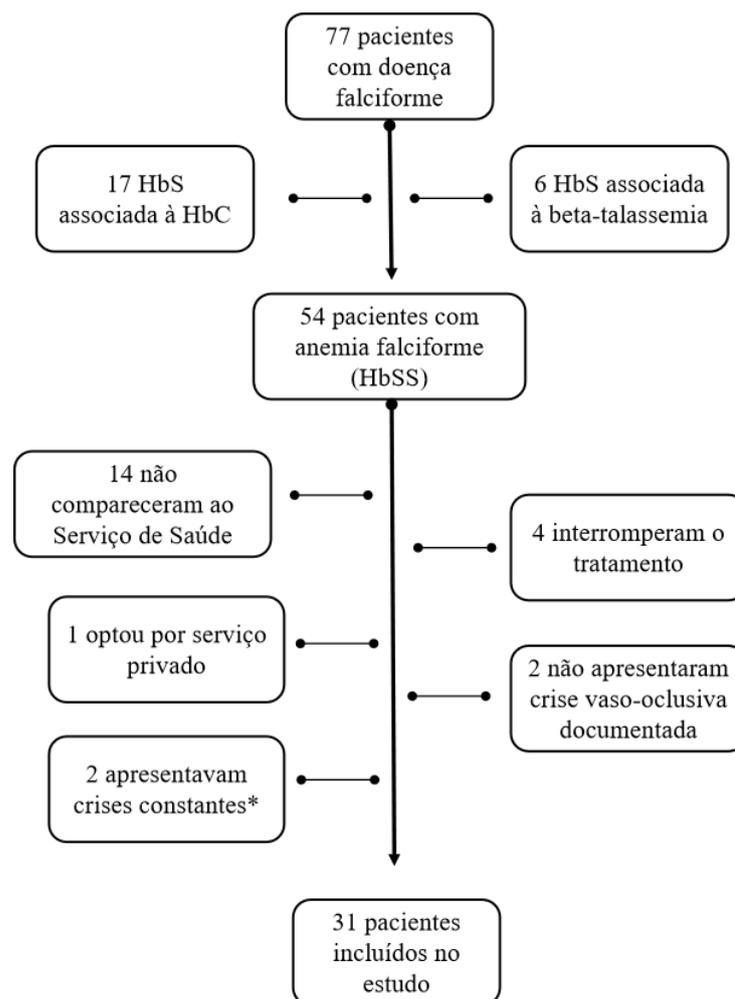


Figura 01. Fluxograma de seleção da amostra de pacientes de 0 a 18 anos avaliada na presente pesquisa. *Dois pacientes que apresentavam crises vaso-oclusivas constantes foram excluídos do estudo, uma vez que não seria possível coletar dados no período estacionário (fora de crise).

1 Dos 31 pacientes avaliados, 19 eram (61,3%) do sexo masculino e 12 (38,7%) do sexo
2 feminino. Quanto ao tratamento, 23 (74,2%) faziam uso contínuo de hidroxíureia e 8 (25,8%)
3 não faziam uso da medicação, sendo que dois pacientes interromperam o tratamento por conta
4 própria. Todos estavam em acompanhamento com intervalo máximo de 5 meses entre as
5 consultas.

6 No período avaliado, foram identificados 302 episódios de atendimento de emergência
7 para esses pacientes. Em 133 casos foi possível obter dados de exames laboratoriais
8 realizados em consultas de acompanhamento anteriores a esse evento, quando os pacientes
9 não apresentavam queixas clínicas. Destes, 76 atendimentos estavam relacionados a crises
10 vaso-oclusivas. Os demais estavam relacionados a outros motivos, sobretudo processos
11 infecciosos. O número de dias de internação variou de 1 a 30 dias.

12 Numa análise posterior, incluímos as visitas de pacientes nos quais foi possível analisar
13 duas visitas de rotina subsequentes seguidas de um episódio de CVO, para determinar
14 preditores de crise.

15

16 **2.6.1 Alterações laboratoriais nas crises vaso-oclusivas**

17 Para identificar as alterações laboratoriais mais significativas nos eventos de CVO, os
18 valores basais da última consulta de rotina foram comparados com aqueles obtidos no
19 momento da crise.

20 De acordo com os valores do hemograma encontrados, no momento da CVO, houve
21 diminuição do número de hemácias ($p < 0,0001$), do hematócrito ($p < 0,0001$), dos níveis de
22 hemoglobina ($p < 0,0001$) e da HCM ($p = 0,0423$).

23 Além disso, foi possível observar aumento significativo no número de leucócitos totais
24 ($p < 0,0001$), neutrófilos ($p < 0,0001$), monócitos ($p = 0,0003$) e diminuição de eosinófilos
25 ($p = 0,0026$), em relação aos valores encontrados em testes de rotina. A contagem de plaquetas
26 diminuiu significativamente ($p = 0,0001$).

27 Em relação aos parâmetros bioquímicos, os níveis de bilirrubina direta aumentaram
28 durante a CVO ($p = 0,0310$), enquanto a bilirrubina indireta diminuiu ($p = 0,0405$). Os demais
29 parâmetros não diferiram significativamente entre os dois períodos (Tabela 01).

30
31

1 Tabela 01. Comparação dos índices relacionados aos níveis de hemograma, bilirrubinas e
 2 lactato desidrogenase (LDH) em crianças com anemia falciforme durante a crise vaso-
 3 oclusiva (CVO) e a consulta de acompanhamento antes do evento.

Parâmetro	Consulta de acompanhamento	CVO	p
	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	
Hemácias (x10 ³ /uL)	2745 (2050-3870)	2530 (1570-3650)	<0,0001
Hemoglobina (g/dL)	8,4 (5,8-11,6)	7,6 (5,0-12,5)	<0,0001
Hematócrito (%)	23,6 (17,9-34,4)	22,0 (13,9-36,9)	<0,0001
VCM	87,5 (66,7-113,6)	85,2 (68,1-111,5)	0,5339
HCM	29,8 (21,5-41,4)	29,4 (22,8-41,1)	0,0423
CHCM	36,76 (32,3-37,7)	34,25 (28,5-40,0)	0,2149
RDW	21,2 (±3,7)	21,7 (±3,7)	0,1348
Reticulócitos	8,2 (±2,7)	8,0 (±2,1)	0,4945
Leucócitos (/uL)	11070 (5800-29910)	17020 (5870-31830)	<0,0001
Neutrófilos (/uL)	4863 (1690-15760)	9632 (2583-26460)	<0,0001
Eosinófilos (/uL)	405 (60-3962)	290 (63-1715)	0,0026
Monócitos (/uL)	958 (253-2758)	1194 (176-3583)	0,0003
Linfócitos (/uL)	4464 (1246-20094)	4120 (754-27268)	0,8924
Plaquetas (/uL)	465500 (± 149600)	394100 (±170400)	0,0001
Bilirrubina não conjugada	1,4 (0,6-4,3)	1,3 (0,3-4,9)	0,0405
Bilirrubina conjugada	0,5 (0,3-1,3)	0,6 (0,2-2,2)	0,0310
Bilirrubina total	2,1 (0,9-9,7)	2,3 (0,5-9,8)	0,4401
LDH	617,8 (±211,7)	665,7 (±220,2)	0,1984

4 DP: desvio padrão; min: mínimo; máximo: máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM:
 5 hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração média de hemoglobina corpuscular; RDW: faixa de
 6 distribuição das hemácias; LDH: lactato desidrogenase. Foram utilizados o teste t pareado (dados
 7 paramétricos) e o teste de Wilcoxon (dados não paramétricos). As diferenças foram consideradas
 8 significativas quando p<0,05.

9

10

11 2.6.2 Influência do uso da hidroxiureia nas alterações laboratoriais antes e durante 12 crises vaso-oclusivas

13 Para avaliar a influência do uso da hidroxiureia nos parâmetros de hemograma,
 14 bilirrubina e níveis de LDH de crianças com AF, foram considerados os valores desses
 15 exames realizados na consulta de rotina antes da crise, quando ainda não apresentavam sinais
 16 e sintomas, e no momento do CVO foram comparados. Avaliando a consulta de
 17 acompanhamento pré-crise, foi possível constatar que os pacientes que não estavam em uso
 18 de hidroxiureia apresentaram menores valores de HCT (p=0,0028), menor VCM (p=0,0104) e
 19 maior RDW (p=0,0032), e um maior número de monócitos (p=0,0133). Os valores dos
 20 demais testes não diferiram significativamente (Tabela 02).

1 Tabela 02. Comparação dos índices relacionados aos níveis de hemograma, bilirrubinas e
 2 lactato desidrogenase (LDH) de crianças com anemia falciforme na consulta de
 3 acompanhamento antes do evento de vaso-oclusão de crianças com anemia falciforme que
 4 estavam ou não usando hidroxiureia.

Parâmetro	Hidroxiureia	Sem hidroxiureia	p
	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	
Hemácias (x10 ³ /uL)	2807 (±397)	2759 (±427)	0,7085
Hemoglobina (g/dL)	8,6 (±1,3)	7,8 (±0,6)	0,0677
Hematócrito (%)	25,0 (±3,8)	21,7 (±2,3)	0,0028
VCM	90,3 (±10,8)	82,2 (±7,8)	0,0104
HCM	31,0 (±4,2)	30,0 (±2,0)	0,4428
CHCM	34,4 (32,4-37,7)	35,5 (32,3-37,7)	0,0990
RDW	20,6 (±3,4)	23,7 (±3,7)	0,0032
Reticulócitos	8,0 (±3,2)	8,0 (±1,5)	0,9891
Leucócitos (/uL)	11050 (5800-28300)	11810 (7600-29910)	0,2959
Neutrófilos (/uL)	4724 (1690-15760)	4956 (3567-10469)	0,7061
Eosinófilos (/uL)	343 (60-1988)	776 (152-1999)	0,1285
Monócitos (/uL)	894 (253-2758)	1262 (649-1795)	0,0133
Linfócitos (/uL)	4039 (1311-20094)	4775 (2886-8477)	0,0210
Plaquetas (/uL)	469500 (±159800)	466100 (±100800)	0,9418
Bilirrubina não conjugada	1,3 (0,6-4,0)	1,5 (0,6-4,3)	0,6380
Bilirrubina conjugada	0,5 (± 0,1)	0,5 (±0,1)	0,6834
Bilirrubina total	2,0 (1,1-4,6)	2,2 (0,9-4,7)	0,7057
LDH	666,0 (225-1440)	488,5 (371-1040)	0,0918

5
 6 DP: desvio padrão; min: mínimo; máximo: máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM:
 7 hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração média de hemoglobina corpuscular; RDW: faixa de
 8 distribuição das hemácias; LDH: lactato desidrogenase. Foram utilizados teste t de Student (dados
 9 paramétricos) e teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos); ns: não significativo. As diferenças foram
 10 consideradas significativas quando p<0,05.

11

12

13 Na análise durante a VOC, os pacientes que não tomaram a medicação apresentaram
 14 menor hematócrito (p=0,0353), menor VCM (p=0,0298), maior número de monócitos
 15 (p=0,0084) e linfócitos (p<0,0001) e maiores níveis de bilirrubina (p=0,0271) do que aqueles
 16 em uso de hidroxiureia (Tabela 03).

17

18

1 Tabela 03. Comparação dos índices relacionados aos níveis de hemograma, bilirrubinas e
 2 lactato desidrogenase (LDH) no evento de vaso-oclusão em crianças com anemia falciforme
 3 em uso ou não de hidroxiureia.

Parâmetro	Hidroxiureia	Sem hidroxiureia	p
	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	Média (± DP) Mediana (mín - máx)	
Hemácias (x10 ³ /uL)	2530 (1570-3650)	2500 (2300-3590)	0,6403
Hemoglobina (g/dL)	7,9 (±1,5)	7,3 (±0,8)	0,2315
Hematócrito (%)	23,3 (±4,6)	20,3 (±5,3)	0,0353
VCM	87,5 (71,0-111,5)	81,7 (68,1-97,5)	0,0298
HCM	29,7 (22,8-41,0)	28,7 (25,8-32,7)	0,5174
CHCM	34,4 (±1,7)	34,8 (±3,0)	0,5369
RDW	21,3 (±3,5)	22,4 (±3,4)	0,3054
Reticulócitos	8,0 (±2,8)	8,0 (±1,5)	0,9981
Leucócitos (/uL)	16801 (±6181)	16800 (±4773)	0,9940
Neutrófilos (/uL)	9740 (±4607)	9869 (±2471)	0,9254
Eosinófilos (/uL)	322 (±209)	480 (±342)	0,0995
Monócitos (/uL)	1072 (176-3501)	1672 (1134-2551)	0,0084
Linfócitos (/uL)	894 (253-2758)	2105 (890-5376)	<0,0001
Plaquetas (/uL)	393300 (±162500)	414900 (±134700)	0,6568
Bilirrubina não conjugada	1,2 (0,2-2,9)	1,4 (0,4-2,6)	0,9236
Bilirrubina conjugada	0,5 (±0,2)	0,7 (±0,2)	0,0271
Bilirrubina total	2,0 (±0,9)	2,1 (±1,1)	0,7190
LDH	661,1 (±206,4)	734,3 (±333,3)	0,3585

4 DP: desvio padrão; min: mínimo; máximo: máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM:
 5 hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração média de hemoglobina corpuscular; RDW: faixa de
 6 distribuição das hemácias; LDH: lactato desidrogenase. Foram utilizados teste t de Student (dados
 7 paramétricos) e teste de Mann-Whitney (dados não paramétricos); ns: não significativo. As diferenças foram
 8 consideradas significativas quando p<0,05.

9

10

11 2.6.3 Determinação de fatores preditivos para ocorrência de crises vaso-oclusivas

12 Neste estudo, avaliamos se alterações em algum dos parâmetros laboratoriais avaliados
 13 poderiam fornecer alguma indicação subclínica da ocorrência de CVO. Foram comparados os
 14 valores laboratoriais de duas consultas de acompanhamento antes de um evento de CVO,
 15 entre as quais o paciente não apresentou complicações. A partir de 58 análises (visita 1 vs.
 16 visita 2), constatou-se que a CHCM aumentou significativamente na visita mais próxima da
 17 crise (35,4 vs. 35,6; 0,0425), assim como os valores de RDW (medianas 19,2 vs. 19,9; p=
 18 0,0397), bilirrubina direta (mediana 0,5 vs. 0,6; p=0,0450) e LDH (mediana 596,5 vs. 618,0;
 19 p=0,0174). Os demais parâmetros não diferiram significativamente (Tabela 04).

20

- 1 Tabela 04. Comparação dos índices relacionados aos níveis de hemograma, bilirrubinas e
 2 lactato desidrogenase (LDH) nas duas últimas consultas de acompanhamento anteriores à
 3 crise vaso-oclusiva (CVO) evento em crianças com anemia falciforme.

Parâmetro	Consulta de	Consulta de	p
	acompanhamento	acompanhamento antes da CVO	
	Média (± DP)	Média (± DP)	
	Mediana (mín - máx)	Mediana (mín - máx)	
Hemácias (x10³/uL)	2700 (1900-3,560)	2670 (1970-3630)	0,4222
Hemoglobina (g/dL)	8,3 (±1,2)	8,3 (±1,3)	0,8451
Hematócrito (%)	24,2 (14,8-30,8)	24,1 (14,8-31,8)	0,7108
VCM	88,7 (±9,2)	88,4 (±9,5)	0,7159
HCM	31,2 (±3,4)	31,2 (±3,6)	0,6882
CHCM	35,4 (31,9-37,9)	35,6 (32,3-37,8)	0,0425
RDW	19,2 (14,3-25,4)	19,9 (13,5-30,1)	0,0397
Reticulócitos	7,9 (3,6-12,5)	7,8 (3,3-16,0)	0,1971
Leucócitos (/uL)	10070 (4670-25090)	11060 (5800-27360)	0,8073
Neutrófilos (/uL)	3999 (1382-11756)	4563 (1396-11180)	0,2516
Eosinófilos (/uL)	3855 (778,0-12796)	4505 (776,0-12263)	0,4858
Monócitos (/uL)	977 (±426)	1004 (±367)	0,6225
Linfócitos (/uL)	3770 (1541-10843)	3487 (1631-11062)	0,3314
Plaquetas (/uL)	488400 (±143800)	472500 (±128200)	0,4748
Bilirrubina não conjugada	2,0 (±0,9)	2,0 (±0,9)	0,8529
Bilirrubina conjugada	0,5 (±0,1)	0,6 (±0,1)	0,0450
Bilirrubina total	2,0 (±0,9)	2,0 (±0,9)	0,8529
LDH	571,4 (±141,6)	614,7 (±173,6)	0,0174

- 4 DP: desvio padrão; min: mínimo; máximo: máximo; VCM: volume corpuscular médio; HCM:
 5 hemoglobina corpuscular média; CHCM: concentração média de hemoglobina corpuscular; RDW: faixa de
 6 distribuição das hemácias; LDH: lactato desidrogenase. Foram utilizados o teste t pareado (dados
 7 paramétricos) e o teste de Wilcoxon (dados não paramétricos). As diferenças foram consideradas
 8 significativas quando p<0,05.

- 9
 10
 11

2.7 DISCUSSÃO

Em pacientes com AF, a diminuição na taxa de hemoglobina total juntamente com acentuada reticulocitose caracteriza a gravidade da anemia hemolítica. Na amostra avaliada, foi observada durante a CVO uma diminuição no número de hemácias, hematócrito, níveis de hemoglobina, HCM, plaquetas e um aumento do número de leucócitos totais, neutrófilos, monócitos e níveis de bilirrubina direta, demonstrando as extensas alterações laboratoriais decorrentes deste processo.

Enquanto alguns trabalhos na literatura relatam alterações na contagem total e diferencial de leucócitos, hemácias e reticulócitos, outros afirmam que alguns destes parâmetros não são preditivos de admissão em pronto-atendimento (FRUSH *et al.*, 1995; CHAPMAN *et al.*, 2004). Entretanto, a diminuição dos níveis de hemoglobina e da contagem de plaquetas durante a crise já foi bastante documentada (FREEDMAN, KARPATKIN, 1975; ALKJAERSIG *et al.*, 1976; FRUSH *et al.*, 1995; IBANGA, 2003).

Chapman e colaboradores (2004) avaliaram 86 visitas de crianças com anemia falciforme ao pronto-socorro por crises dolorosas e encontraram uma pequena, mas estatisticamente significativa mudança nos valores de hemoglobina entre os pacientes que receberam alta do pronto-socorro e aqueles que necessitaram de internação. Os pacientes que receberam alta hospitalar apresentavam um aumento da hemoglobina de 0,2 g/dL em relação à hemoglobina em estado estacionário, enquanto aqueles admitidos apresentaram uma queda de 0,2 g/dL. Embora a diferença tenha se mostrado estatisticamente significativa, os autores do artigo acreditam que sua utilidade clínica é limitada, sendo necessários mais estudos sobre o tema.

Em relação à série leucocitária, sabe-se que a presença de leucocitose pode ser um indicativo da presença de hemólise, processo pelo qual os monócitos destroem as hemácias através da fagocitose (PRUDENCIO *et al.*, 2000). Monócitos de pacientes com AF estão geralmente ativados e podem aumentar a vaso-oclusão através de uma resposta inflamatória endotelial promovida pela regulação positiva de moléculas de adesão e fator tecidual mediada por NF- κ B (BELCHER *et al.*, 2000). Na presente pesquisa ficou evidente como o organismo do paciente com anemia falciforme sofre alterações laboratoriais hematimétricas e bioquímicas durante os eventos agudos. Mais ainda, foi possível visualizar a importância da hidroxíureia na manutenção de melhores quadros laboratoriais tanto durante quanto fora de crise.

1 A hidroxiureia é um agente quimioterápico cuja principal ação encontra-se no
2 bloqueio da síntese de DNA através de inibição da ribonucleotídeo redutase, mantendo as
3 células em fase S, sendo de fácil utilização e principalmente de poucos efeitos tóxicos e com
4 um efeito mielossupressor facilmente revertido. Por esses motivos a hidroxiureia teve grande
5 adesão nos protocolos de tratamento da anemia falciforme (AF) desde a década de 80, nos
6 pacientes adultos, sendo o seu uso posteriormente autorizado em crianças (BANDEIRA *et al.*,
7 2004).

8 No presente estudo, pacientes que não estavam em uso de hidroxiureia apresentaram
9 menores valores de hematócrito e VCM, com maiores índices de RDW em momentos fora de
10 crise. Efeitos múltiplos sobre a linhagem eritrocitária com o uso da hidroxiureia foram
11 demonstrados, como o aumento no nível de Hb F em cerca de 60% dos pacientes tratados,
12 aumento da taxa de hemoglobina, do VCM e diminuição o número de reticulócitos
13 (ANDRADE *et al.*, 2001), o que vai de encontro aos achados aqui apresentados.

14 Crianças com AF permanecem em um estado contínuo de inflamação devido a
15 repetidas lesões teciduais causadas pelos drepanócitos. Isto leva a um quadro grave, com
16 alterações importantes do sistema imunológico, com aumento e ativação de vários tipos
17 celulares como neutrófilos, monócitos e eosinófilos (ANYAEGBU *et al.*, 1998; CANALLI *et*
18 *al.*, 2004).

19 É sabido que os marcadores inflamatórios estão elevados em crianças com AF em
20 comparação com controles saudáveis, entretanto, foi constatado que estão mais elevados em
21 crianças não tratadas em relação àquelas expostas a terapias modificadoras da doença
22 (LANARO *et al.*, 2009). A terapia com hidroxiureia reduziu os níveis de moléculas
23 inflamatórias de forma mais eficiente e seu uso prolongado sustentou a redução da maioria
24 desses fatores. Além disso, mostrou estar associada a uma redução nas CVO, enquanto a
25 terapia transfusional crônica não reduziu as moléculas inflamatórias no mesmo grau
26 (CHARACHE *et al.*, 1996).

27 Pacientes com AF são acompanhados ambulatorialmente e realizam exames de rotina
28 para acompanhar a evolução da doença e indicar quando é necessário realizar intervenções
29 terapêuticas como por exemplo a transfusão sanguínea. Ao avaliar a possibilidade de
30 determinar fatores preditores de CVO, foi possível constatar que parâmetros obtidos nestes
31 exames de rotina podem indicar um prenúncio de crise. Tanto o CHCM quanto o RDW
32 aumentaram significativamente na consulta mais próxima da crise.

33 Sabe-se que vários fatores influenciam o grau de polimerização da HbS nas células
34 vermelhas: a porcentagem de HbS intracelular, o grau de desidratação celular, o tempo de

1 trânsito dos glóbulos vermelhos na microcirculação, a composição das hemoglobinas dentro
2 das células (% de HbS e % de Hb não-S), o pH, entre outros (NOGUCHI, 1984; EATON e
3 HOFRICHTER, 1987; EATON e HOFRICHTER, 1990).

4 A desidratação celular aumenta a concentração de hemoglobina corpuscular média
5 (CHCM), facilitando a falcização, por aumentar a possibilidade de contato entre as moléculas
6 de HbS. Como resultado da polimerização da HbS, do aumento da CHCM e das alterações de
7 membrana, os eritrócitos são sequestrados e prematuramente destruídos pelo sistema
8 monocítico fagocitário.

9 O paciente com AF pode apresentar RDW, índice relacionado ao tamanho eritrocitário,
10 consideravelmente alto (acima de 19%). Frente ao aumento de hemólise, ocorre um aumento
11 dos reticulócitos como medida proliferativa compensatória da medula óssea (ARAI, 2011).
12 Tudo isso somado aumento de hemácias falcizadas refletiria em um aumento do RDW.

13 Níveis elevados de bilirrubina sérica e LDH são considerados preditores de nefropatia em
14 pacientes com AF (MAHDI *et al.*, 2023). Nos pacientes aqui avaliados, as análises mostraram
15 que os valores de bilirrubina direta e de LDH de crianças com AF aumentaram
16 significativamente na consulta mais próxima da crise, comparada à anterior. Ballas e
17 Marcolina (2006) verificaram que durante a evolução de episódios dolorosos em pacientes
18 com AF, houve aumento significativo da bilirrubina total, LDH, contagem de hemácias
19 nucleadas e RDW, que são indicativos de hiper-hemólise. Níveis elevados de lactato
20 desidrogenase no soro também foram associados a uma evolução grave de CVO
21 (STANKOVIC *et al.*, 2012).

22 É importante ressaltar que os dados laboratoriais dos pacientes envolvidos na presente
23 pesquisa se referem apenas aos momentos iniciais do seu atendimento. Talvez por isso não foi
24 possível observar um aumento significativo de bilirrubina indireta, sabidamente um marcador
25 de hemólise. O aumento da bilirrubina conjugada está mais relacionado às alterações
26 hepáticas como colestase intra-hepática aguda e colelitíase (FARGO *et al.*, 2017).

27 O fígado ocupa papel central no metabolismo da bilirrubina, sendo responsável por
28 sua captação, conjugação e excreção. Em condições normais, a bilirrubina não conjugada é
29 rapidamente captada e metabolizada pelo fígado que a prepara para ser eliminada. A
30 bilirrubina conjugada, por ser solúvel em água, penetra mais facilmente em fluidos corpóreos
31 e é capaz de provocar graus mais acentuados de icterícia que a bilirrubina não conjugada
32 (LEVITT *et al.*, 2014).

33 Nos processos de hemólise, a função excretora do fígado geralmente não é afetada,
34 mas os eritrócitos sofrem hemólise rápida e as células hepáticas simplesmente não podem

1 excretar a bilirrubina com a mesma velocidade em que é formada. Desta forma, a
2 concentração plasmática de bilirrubina livre aumenta e atinge valores bem acima do normal.
3 Se há uma lesão hepática, podemos ter um aumento tanto de bilirrubina não conjugada,
4 quanto de bilirrubina conjugada, tendo em vista que ambas podem ser encontradas no interior
5 do hepatócito (ERLINGER *et al.*, 2014).

6 Diante dos achados relacionados aos parâmetros hematológicos e bioquímicos de
7 crianças com AF durante CVO, sobretudo em relação ao uso de hidroxiureia, acreditamos que
8 pudemos auxiliar na compreensão da fisiopatologia da doença. Cabe estender as análises aqui
9 apresentadas para estabelecer se estes parâmetros poderiam ser considerados preditores de
10 CVO em toda a população de pacientes com AF.

11

1 3 CONCLUSÕES

2
3 Diante dos achados, foi possível concluir que no momento da CVO foi observada uma
4 diminuição no número de hemácias, hematócrito, níveis de hemoglobina, HCM, plaquetas,
5 eosinófilos e um aumento do número de leucócitos totais, neutrófilos, monócitos, níveis de
6 bilirrubina direta.

7 Pacientes que não estavam em uso de hidroxiureia apresentaram menores valores de
8 hematócrito, VCM e maiores índices de RDW durante as consultas de rotina, bem como
9 níveis mais baixos de hematócrito e VCM, maior número de monócitos e linfócitos e níveis
10 mais elevados de bilirrubina direta durante os episódios de crise, em comparação àqueles que
11 estavam em uso da medicação

12 Valores de CHCM, RDW, bilirrubina direta e LDH aumentaram significativamente na
13 consulta que precedeu a CVO, comparada à consulta de rotina anterior a essa. Considera-se
14 então que estes parâmetros necessitam ser avaliados com mais atenção, visto a possibilidade
15 de indicar alterações que podem prenunciar uma crise.

3 REFERÊNCIAS

1
2
3 ALKJAERSIG N., FLETCHER A., JOIST H., CHAPLIN H.J.R. Hemostatic alterations
4 accompanying sickle cell pain crises. **J Lab Clin Med.** vol.88, n.3, p.440-9, 1976.

5
6 ALMEIDA R.A., BERETTA A.L.R.Z. Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma
7 breve revisão de literatura. **Rev Bras Anál Clín.** vol. 49, n.2, p.131-4, 2017.

8
9 ANDRADE S.R. Características hematológicas e bioquímicas da doença falciforme no estado
10 do Rio Grande do Norte. **Rev Bras Anál Clín.** vol.33(4), p.205-210, 2001.

11
12 ANDREOLI, T. *et. Al.*, Distúrbios das hemácias. In: Andreoli, Thomas et al. **Cecil: medicina**
13 **interna básica.** Rio de Janeiro Editora Guanabara Koogan. p.368-383, 1997.

14
15 ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Manual de**
16 **diagnóstico e tratamento de doenças falciformes.** Brasília, DF, 2002.

17
18 ARAI M., HENNEBERG R., NASCIMENTO A.J., ARAI J.Y, SILVA P.H.
19 RETICULOCITOGAMA em pacientes com anemia falciforme e hemoglobinopatias SC.
20 **Publ. UEPG Biol. Health Sci.** vol.1, p. 53-8, 2011.

21
22 ATAGA K.I., ORRINGER E.P. Hypercoagulability in sickle cell disease: a curious paradox.
23 **Am J Med.** vol.115, p.721-728, 2003.

24
25 BADDAM S, ABAN I, HILLIARD L, HOWARD T, ASKENAZI D, LEBENSBURGER JD.
26 Acute kidney injury during a pediatric sickle cell vaso-occlusive pain crisis. **Pediatr ria**
27 **Nephrol.** vol.32(8), p.1451-6, 2017.

28
29 BALLAS, S. K., & MARCOLINA, M. J. Hyperhemolysis during the evolution of
30 uncomplicated acute painful episodes in patients with sickle cell anemia. **Transfusion.**
31 vol.46(1), p.105-110, 2006.

32
33 BALLAS S.K., DAMPIER C. Risk factors associated with increased emergency department
34 utilization in patients with sickle cell disease: a systematic literature. Review. **Annals of**
35 **Hematology** vol.99, p.2483-2495, 2020.

36
37 BANDEIRA M. G. C, et al., Hidroxiuréia em pacientes com síndromes falciformes
38 acompanhados no Hospital Hemope, Recife, Brasil **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** vol. 26
39 (3), 2004.

40
41 BECK C. E., TROTTIER E.D. KIRBY-ALLEN M. PASTORE Y. Acute complications in
42 children with sickle cell disease: Prevention and management **Paediatrics & Child Health.**
43 vol. 27, p. 50-55, 2022.

44
45 BORSATO ML, BRUNIERA P, CUSATO MP, SPEWIEN KE, DURIGON EL,
46 TOPOROVSKI J. Crise aplástica da anemia falciforme condicionada pelo parvovírus B19. **J**
47 **Pediatr (Rio J).** vol.76, p.458-60, 2000.

48
49 BRANDOW M. LIEM R. I. Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease
50 **Journal of Hematology & Oncology** 2022. <https://doi.org/10.1186/s13045-022-01237-z>

1
2 BRAUNSTEIN, E. M. **MANUAL MSD**. Versão para Profissionais de Saúde. 2022.

3
4 BRUNETTA DM, CLÉ DV, HAES TM, RORIZ-FILHO JS, MORIGUTI JC. Manejo das
5 complicações agudas da doença falciforme. **Rev. Medicina** (Ribeirão Preto) vol.43(3), p.231-
6 7, 2010.

7
8 BUNN HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *N. Engl. J. Med.* vol.337,
9 p.762–69, 1997.

10
11 CARDEN MA, FASANO RM, MEIER ER. Nem todos os glóbulos vermelhos falciformes
12 são iguais: contribuições dos reticulócitos para a patologia da doença na anemia falciforme.
13 **Blood Rev.** 2019. doi:10.1016/j.blre.2019.100637

14
15 CARVALHO S.G., CARVALHO L .C, FERNANDES J.C, SANTOS, M.J.S Em busca da
16 equidade no sistema de saúde brasileiro: o caso da doença falciforme. Relato de Experiência
17 **Saúde soc.** p.23-2, 2014. <https://doi.org/10.1590/S0104-12902014000200029>

18
19 CAVALCANTI J.M, MAIO M.C, Entre negros e miscigenados: a anemia e o traço falciforme
20 no Brasil nas décadas de 1930 e 1940 Dossiê Malária Hist. cienc. saúde-Manguinhos
21 vol.18(2), 2011. <https://doi.org/10.1590/S0104-59702011000200007>

22
23 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Grand Rounds: newborn screening
24 and improved outcomes. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** vol. 61(21), p.390–393, 2012.

25
26 CERQUEIRA B. A.V, BOAS W.V., ZANETTE A.A.D., REIS M.G. GONÇALVES M.S.
27 Ação de marcadores labora associação de marcadores laboratoriais a toriais ao perfil clínico
28 em p o perfil clínico em pacientes com anemia falciforme de sal alciforme de Salvador.
29 **Gazeta Médica da Bahia**, vol.80(3), p.24-28, 2010.

30
31 CHAPMAN J.I., EL-SHAMMAA E.N., BONSU B.K. The utility of screening laboratory
32 studies in pediatric patients with sickle cell pain episodes. **Am J Emerg Med.** vol.22, p. 258-
33 263, 2004.

34
35 COHEN RT, STRUNK RC, RODEGHIER M, ROSEN CL, KIRKHAM FJ, KIRKBY J, *et*
36 *al.*, O padrão de função pulmonar não está associado à morbidade prévia ou futura em
37 crianças com anemia falciforme. **Ann Am Thorac Soc.** vol.13(8) p.1314–23, 2016.

38
39 CONRAN N., FRANCO-PENTEADO C.F., COSTA F.F. Newer aspects of the
40 pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. **Hemoglobin.** vol.33, n.1, p.1-16, 2009.

41
42 DALTRO, G., FRANCO, B.A., FALEIRO, T.B. *et al.* Osteonecrose em pacientes com
43 doença falciforme da Bahia, Brasil: um estudo transversal. **Ortopedia Internacional (SICOT)**
44 vol.42, p.1527–1534, 2018. <https://doi.org/10.1007/s00264-018-3905-z>

45
46 DEBAUN MR, JORDAN LC, KING AA, SCHATZ J, VICHINSKY E, FOX CK, *et al.*
47 American Society of Hematology 2020 guidelines for sickle cell disease: prevention,
48 diagnosis, and treatment of cerebrovascular disease in children and adults. **Blood Adv.**
49 vol.4(8), p.1554–88, 2020.

50

1 DE CEULAER K, HIGGS DR, WEATHERALL DJ, HAYES RJ, SERJEANT GR,
2 SERJEANT GR. Alpha thalassemia reduces the hemolytic rate in homozygous sickle-cell
3 disease. **N Eng J Med** vol.309, p.189–190, 1983.

4
5 DLAMINI N, SAUNDERS DE, BYNEVELT M, TROMPETER S, COX TC, BUCKS RS, *et*
6 *al.* Dessaturação noturna de oxiemoglobina e arteriopatia em uma coorte pediátrica de doença
7 falciforme. **Neurologia**. vol.89(24), p.2406–12, 2017.

8
9 DOWNES, S.M.; HAMBLETON, I.R.; CHUANG, E.L.; LOIS, N.; SERJEANT, G.R.; BIRD,
10 A.C. Incidence and natural history of proliferative sickle cell retinopathy: observations from a
11 cohort study. **Ophthalmology**, vol.112(11), p.1869-75, 2005.

12
13 DUARTE BG. **Métodos de diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. In: Anais do**
14 **Conic-Semesp**, SP-Brasil. vol.2, p.11, 2014.

15
16 FERREIRA R., GOUVÊA C.M.C.P. Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme.
17 **Rev. Medica de MG**, vol.28, p.1-6, 2018.

18
19 FIGUEIREDO A. K.B , SANTOS, F.V.A, SOARES E SÁ L.H. , SOUSA N.D.L. Anemia
20 falciforme: diagnóstico laboratorial, alterações morfológicas e tratamento **Revista de Ciências**
21 **da Saúde Nova Esperança**, v. 12, n. 1, 2014.

22
23 FOY *et al.* The variability of sickle-cell rates in the tribes of Kenya and the Southern Sudan.
24 **British Medical Journal**, London, v.1, n.4857, p.294-296, 1954.

25
26 FRANCIS R.B.J. Platelets, coagulation, and fibrinolysis in sickle cell disease: their possible
27 role in vascular occlusion. **Blood Coagul Fibrinolysis**, vol.2, p.341-353, 1991.

28
29 FREEDMAN M.L., KARPATKIN S. Elevated platelet count and megathrombocyte number
30 in sickle cell anemia. **Blood**, vol.46, p.579-582, 1975.

31
32 Fry, Peter A persistência da raça: ensaios antropológicos sobre o Brasil e a África austral.
33 **Civilização Brasileira: Rio de Janeiro**, 2005.

34
35 FRUSH K., WARE R.E., KINNEY T.R. Emergency department visits by children with sickle
36 hemoglobinopathies: factors associated with hospital admission. **Pediatr Emerg Care**, vol.11,
37 n.1, p.9-12, 1995.

38
39 GLADWIN MT, VICHINSKY E. Complicações pulmonares da doença falciforme. **N Engl J**
40 **Med**. vol.359(21), p.2254-2265, 2008. doi:10.1056/ NEJMra080441

41
42 GLASSBERG, J. Evidence-based management of sickle cell disease in the
43 emergency department. **Emergency Medicine Practice**, 2011.

44
45 GORDON P.A., BREEZE G.R., MANN J.R., STUART J. Coagulation fibrinolysis in sickle-
46 cell disease. **J Clin Pathol**. vol.27, p.485-489, 1974.

47
48 HIRST C, OWUSU-OFORI S. Prophylactic antibiotics for preventing pneumococcal
49 infection in children with sickle cell disease. **Cochrane Database Syst Rev**. 2014.

50

- 1 IBANGA I.A. Significance of platelet activation in sickle cell anaemia. **Niger J Med.**, vol.15,
2 p.148-150, 2006.
- 3
- 4 KATO G.J, PIEL F.B, REID C.D, GASTON M.H, OHENE-FREMPPONG K,
5 KRISHNAMURTI L, SMITH W.R, PANEPINTO J.A, WEATHERALL D.J, COSTA F.F,
6 VICHINSKY E.P. Sickle cell disease. **Nat Rev Dis Primers.** vol.4, p18010, 2018.
- 7
- 8 KAVANAGH P L. KAVANAGH, FASIPE T.A, WUN T. Sickle Cell Disease A Review
9 Clinical Review & Education *Jama*, V 328, Number 1, 2022.
- 10
- 11 LANE PA. Sickle cell disease. **Pediatr Clin North Am.** vol.73, p.639-64, 1996.
- 12
- 13 LEBENSBURGER JD, ABAN I, PERNELL B, KASZTAN M, FEIG DI, HILLIARD LM, *et*
14 *al.* Hyperfiltration during early childhood precedes albuminuria in pediatric sickle cell
15 nephropathy. *Am J Hematol.* vol.94(4), p.417–23, 2019.
- 16
- 17 LINO B.T., JACOB L.R., GALHEIGO S.M. O adoecimento crônico e o tratamento pelo
18 olhar do adolescente: considerações com base em uma história de vida. **Cad. Bras. Ter.**
19 **Ocup.**, vol.29, e.2813, 2021.
- 20
- 21 LOGGETTO S.R, PELLEGRINI-BRAGA J.A, COSTA-CARVALHO B.T, SOLÉ D.
22 Alterações imunológicas em pacientes com anemia falciforme. **Rev Bras Alerg Imunopatol.**
23 vol.22, p.77-82, 1999.
- 24
- 25 MAGNUS SA, HAMBLETON IR, MOOSDEEN F, SERJEANT GR. Recurrent infections in
26 homozygous sickle cell disease. **Arch Dis Child.**vol.80, p.537-41, 1999.
- 27
- 28 MAIO, M.C, MONTEIRO, S. Tempos de racialização: o caso da 'saúde da população negra'
29 no Brasil. **História, Ciência, Saúde - Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.12, n.2, p.419-446, 2005.
- 30
- 31 MAHDI, M., DACHI, R. A., MUSA, I., AHMED, S. G., GWARZO, A. K., ISMAIL, A., *et al.*
32 Relationship between sickle cell nephropathy and some biochemical markers of haemolysis
33 amongst patients with sickle cell anaemia in Kano, Northwestern Nigeria. **West African**
34 **journal of medicine**, vol. 40(11 Suppl 1), S23–S24, 2023.
- 35
- 36 Ministério da Saúde (BR). **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS.**
37 Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença Falciforme. Brasília: Ministério da Saúde,
38 2015.
- 39
- 40 Ministério da Saúde (BR). **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS.**
41 Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença Falciforme. Brasília: Ministério da Saúde,
42 2018. http://conitec.gov.br/images/Protocolos/PCDT_DoencaFalciforme_2018.pdf
- 43
- 44 Ministério da Saúde. **Governo Federal reforça necessidade do diagnóstico precoce da**
45 **Doença Falciforme.** 2022.
- 46
- 47 MONTEIRO, S, MAIO, M.C., Etnicidade, raça e saúde no Brasil: questões e desafios. In:
48 Minayo, C.; Coimbra Jr., C. (org.) **Críticas e atuantes: ciências sociais e saúde na América**
49 **Latina.** Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz. p. 473-485, 2005.
- 50

1 MOTA FM, FERREIRA JÚNIOR MA, CARDOSO AIQ, POMPEO CM, FROTA OP,
2 TSUHA DH, *et al.* Análise da tendência temporal da mortalidade por anemia falciforme no
3 Brasil. **Rev Bras Enferm.** 2022. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2021-0640>

4
5 NAGEL, R.L. et al. Hematologically and genetically distinct forms of sickle cell anemia in
6 Africa. **N. Engl. J. Med.** vol.312, p. 880-4, 1985.

7
8 NAOUM, P.C, NAOUM, F.A. Doença das células falciformes **São Paulo: Sarvier**, 2004.

9
10 NEEL, J.V. The inheritance of sickle cell anemia. **Science**, v. 110, p. 64-66, 1949.

11
12 NOGUEIRA K.D.A *et al.* Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. **Rev. cient. ITPAC.**
13 (Araguaína). Vol.6(4), p.5-2, 2013.

14
15 OSBORNE J.C., OSAKWE Z., ODLUM M. Opioid Use in Adults With Sickle Cell Disease
16 Hospitalized During Vaso-Occlusive Crisis: A Systematic Review. **J Hematol.**, vol.10, n.2,
17 p.46-52, 2021.

18
19 OSUNKWO I, MANWANI D, KANTER J. Terapias atuais e novas para a prevenção da crise
20 vaso-oclusiva na doença falciforme. **Avanços terapêuticos em hematologia** 2020.
21 doi: 10.1177/2040620720955000

22
23 PAULING L., HARVEY A. I., SINGER S.J., IBERT C. W. **Sickle cell anemia, a molecular**
24 **disease.** Science, v. 110, p. 543- 548, 1949.

25
26 PIEL F.B, STEINBERG M.H, REES D.C. Sickle cell disease. **N Engl J Med.** vol.376,
27 p.1561–1573, 2017.

28
29 PEREIRA S.A.S, CARDOSO C.S, BRENER S., PROIETTI A.B.F.C, Doença falciforme e
30 qualidade de vida: um estudo da percepção subjetiva dos pacientes da Fundação Hemominas,
31 Minas Gerais, Brasil **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** Vol.30 (5), 2008.
32 <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000500015>

33
34 **Programa de Triagem Neonatal-MG.** Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais. 2016

35
36 PRUDENCIO B.C.A.B. COVAS D.T, BONINI-DOMINGOS C.R. Comparação de
37 metodologia utilizada para a detecção de Hemoglobina S (Hb S) em doadores de sangue. **Rev.**
38 **bras. hematol. hemoter.** vol. 22(2), p. 99-109, 2000.

39
40 RAMSAY Z., BARTLETT R., ALI A., GRANT J., GORDON-STRACHAN G., ASNANI M.
41 Sickle Cell Disease and Pain: Is it all Vaso-occlusive Crises? **Clin J Pain.**, vol. 37, n.8,
42 p.583-590, 2021.

43
44 ROGERS, SC et al. A hemoglobina falciforme perturba o acoplamento normal entre o
45 conteúdo de O₂ dos eritrócitos, a glicólise e a capacidade antioxidante. **Blood.** vol.121(9),
46 p.1651-62, 2013.

47
48 SAVITT T.L, GOLDBERG M.F. HERRICK'S. 1910 case report of sickle cell anemia: the
49 rest of the story. **Jama.** vol.261(2), p.266–271, 1989.

50

1 SEAKINS, M., GIBBS, W.N, MILNER, P.F & BERTLES, J.F. Concentração de Hb-S em
2 eritrócitos. Um fator importante na baixa afinidade do sangue pelo oxigênio na anemia
3 falciforme. **J. Clin. Investir.** vol.52, p. 422–432, 1973.

4
5 SIL S, COHEN L.L, DAMPIER C. Resultados psicossociais e funcionais em jovens com dor
6 falciforme crônica. **Clin J Pain.** vol.32(6), p.527–33, 2016.

7
8 SILVA, W. S. *et al.* Screening for Structural Hemoglobin Variants in Bahia, Brazil.
9 **International journal of environmental research and public health** vol.13, p.225, 2016.

10
11 STOUSE. J.J, TAKEMOTTO C.M, KEEFER, N.D, KATO G.J, CASELLA J.F.
12 Corticoesteroids and increased risk of readmission after acute chest syndrome in children with
13 sickle cell disease. **Pediatr Blood Cancer.** vol.50(5), p.1006-12, 2008.

14
15 SUNDD P., GLADWIN M.T, NOVELLI E.M. **Fisiopatologia da doença falciforme.** Annu
16 Rev Pathol. vol.14, p.263-292, 2019. doi:10.1146/annurev pathmechdis-012418-012838

17
18 SWITZER JA, HESS DC, NICHOLS FT, ADAMS RJ. Pathophysiology and treatment of
19 stroke in sickle-cell disease: present and future. **Lancet Neurol.** vol.5(6), p.501–12, 2006.

20
21 TAPPER, M. **In the blood: sickle cell anemia and the politics of race.** **BMJ.** vol.319, p.
22 1582, 1999.

23
24 TELEN, M.J, MALIK, P. & VERCELLOTTI, G.M. Estratégias terapêuticas para a doença
25 falciforme: rumo a uma abordagem multiagente. **Nat Rev Drug Discov** vol.18, p.139–158,
26 2019. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0003-2>

27
28 TORRES, F.R.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Hemoglobinas humanas: hipótese malária ou
29 efeito materno? **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.27, n.1,
30 p.53-60. 2005.

31
32 TRINCÃO, C. Há anemia de células falciformes entre os indígenas das colônias portuguesas?
33 **África Médica Lisboa**, v.8, n.9, p.229-237. 1942.

34
35 UGWU A.O., IBEGBULAM O.G., NWAGHA T.U., MADU A.J., OCHENI S., OKPALA I.
36 Clinical and Laboratory Predictors of Frequency of Painful Crises among Sickle Cell
37 Anaemia Patients in Nigeria. **J Clin Diagn Res.** vol.11, n.6, p.EC22-EC25, 2017.

38
39 WINTROBE, M.M. *et al.* Hemoglobinopathies S, C, D, E and O and associated diseases. In:
40 Wintrobe, M.M. et al. **Clinical Hematology.** Philadelphia: Bea & Febiger. p.835-868, 1981.

41
42 ZAGO M.A., PINTO A.C.S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à
43 insuficiência de múltiplos órgãos. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.** vol.29, n.3, p.207-214,
44 2007.

ANEXO A

1
2
3

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise das alterações de exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos como fatores preditores de crises vaso oclusivas em crianças com anemia falciforme.

Pesquisador: Fernanda Bernadelli De Vito

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 63873722.8.0000.8667

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Triângulo Mineiro

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.696.840

Apresentação do Projeto:

Análise das alterações de exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos como fatores preditores de crises vaso oclusivas em crianças com anemia.

Segundo os documentos que compõem o protocolo apresentado pelos pesquisadores, é possível identificar:

Doença falciforme se refere ao grupo das hemoglobinopatias relacionadas à presença da hemoglobina S (HbS). A HbS é caracterizada por uma mutação missense na posição 6 da cadeia α , na qual o aminoácido ácido glutâmico é substituído por valina (6 GLU VAL). Pode ocorrer na forma homozigótica, ocasionando a anemia falciforme (HbSS), mas também pode ocorrer da combinação da HbS com outros tipos de hemoglobina alterados, como a hemoglobina C e a beta-talassemia (BALLAS, DAMPIER, 2020).

A anemia falciforme é a forma mais grave das doenças falciformes e de maior prevalência no país, afetando cerca de 0,1% a 0,3% da população negra, sendo observada em decorrência da alta taxa de miscigenação, cada vez maior da população caucasiana brasileira. Estimativas indicam que 5% a 6% da população carrega o gene da HbS e que a incidência fica em torno de 700 – 1000 novos casos por ano (ALMEIDA, BERETTA, 2017).

A dor é a principal complicação da doença falciforme e é geralmente aguda, frequente e

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

UF: MG

Telefone: (34)3318-5319

Município: UBERABA

CEP: 38.025-470

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

4

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 5.696.840

grave. Dor aguda e ou crises vaso-oclusivas agudas é consequência da fisiopatologia subjacente da crise vaso oclusiva. Em situação de stress e baixa de oxigenação os glóbulos vermelhos adquirem forma de foice e obstruem vasos sanguíneos causando isquemia e inflamação (RAMSAY, 2021).

Uma vez que a maioria das complicações da doença está relacionada à frequência de crises vaso-oclusivas e que estas poderiam ter relação direta com parâmetros hematológicos, a presente proposta visa avaliar se alterações nos exames laboratoriais como hemograma, contagem de reticulócitos e dosagens de bilirrubinas e HDL poderiam ser fatores preditivos de crises vaso oclusivas em crianças que procuram atendimento em unidades de pronto atendimento.

Ao avaliar preditores clínicos e laboratoriais da frequência de crises dolorosas entre pacientes com anemia falciforme na Nigéria, Ugwu e colaboradores (2017) observaram que os valores médios dos parâmetros hematológicos, incluindo concentração de hemoglobina, contagem de leucócitos, contagem de plaquetas e contagem de neutrófilos, foram significativamente maiores naqueles com crises graves do que nas crises leves a moderadas.

Existe um corpo de literatura que sugere que as plaquetas desempenham um papel significativo na doença das células falciformes. A maioria desses estudos enfoca a função plaquetária, incluindo alterações na ativação, agregação e mediadores plaquetários, durante o estado estacionário (sem crise) da doença falciforme (FRANCIS, 1991; WUN et al., 1997) com o objetivo de revelar novas opções terapêuticas para pacientes com anemia falciforme em relação aos antiplaquetários, intervenções trombolíticas e de anticoagulação (ATAGA, ORRINGER, 2003). Pesquisas mostram um aumento na trombocitose, megacariocitose e ativação plaquetária durante a doença falciforme em estado estacionário (FRANCIS, 1991). Poucas pesquisas examinaram as implicações diagnósticas das plaquetas na doença falciforme, especificamente como visto na rotina exames de sangue, como contagem de plaquetas.

Acredita-se que alterações de exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos podem ser fatores preditivos para a ocorrência de crises vaso oclusivas em crianças com anemia falciforme.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo informações contidas no Projeto de Pesquisa, os objetivos desta pesquisa são:

Objetivo Geral

Analisar as alterações de exames laboratoriais hematológicos e bioquímicos de crianças com anemia falciforme com crises vaso oclusivas e verificar se existe algum fator preditor para esta complicação.

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 5.696.840

Objetivos Específicos

1. Caracterizar os pacientes em relação às características demográficas e clínicas;
2. Verificar as alterações nos exames laboratoriais, pré-crise, durante a crise e pós crise.
3. Correlacionar alterações laboratoriais com o número de crises, características clínicas e desfecho do atendimento.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Segundo os documentos que compõem o protocolo apresentado pelos pesquisadores, é possível identificar:

O risco aos participantes seria de quebra de confidencialidade. Como medidas de minimizar esse risco, os resultados serão publicados em conjunto e os participantes serão identificados apenas por siglas, letras e números, com descarte das fichas preenchidas 5 anos após a publicação e encerramento da pesquisa. O acesso aos dados será restrito aos pesquisadores.

Não são previstos benefícios diretos aos participantes da pesquisa. Os benefícios indiretos seriam de contribuição científica, melhorando a qualidade de vida de pacientes com anemia falciforme, possibilitando diminuir a morbidade e mortalidade destes.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo primário, observacional, transversal retrospectivo de coorte. Será realizada na UFTM, na Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, no período de setembro de 2022 a agosto de 2024. A população alvo são crianças (<18 anos) com anemia falciforme que receberam atendimento em pronto atendimento hospitalar devido à crise vaso-oclusiva. A justificativa para uso de população vulnerável segundo os autores é que a análise dessa população é imprescindível para que seja possível nortear tratamentos que minimizem a progressão da doença e suas complicações, melhorando não só a sobrevida, mas a qualidade de vida dos pacientes com anemia falciforme. Serão incluídas no estudo crianças (<18 anos) com anemia falciforme que receberam atendimento em pronto atendimento hospitalar devido à crise vaso-oclusiva, com queixas relacionadas à dor ou uma pontuação elevada de dor (pontuação > 0 na escala numérica de dor) no momento da apresentação. Serão excluídos do estudo os pacientes que receberam transfusão de sangue dentro de 1 mês de sua visita ao pronto-atendimento, pacientes em terapia de transfusão crônica e aqueles com dados incompletos em seus prontuários. Será realizada a revisão dos

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 5.696.840

prontuários de todos os pacientes atendidos no período de janeiro de 2000 a dezembro de 2021. Serão coletadas informações sobre as características demográficas e clínicas, como: o número de visitas ao pronto-socorro, a idade do paciente, tipo de hemoglobinopatia, queixa principal, localização da dor, valor numérico na pontuação da dor, frequência cardíaca, pressão arterial e se a desidratação era evidente na apresentação (nenhuma, leve, moderada ou grave). Os resultados serão compilados em planilha eletrônica. Os dados qualitativos serão apresentados por meio de estatística descritiva e os dados quantitativos serão submetidos ao teste de normalidade e serão analisados de acordo com o teste apropriado. O nível de significância será de 5%. Será solicitada a dispensa da obtenção do TCLE pelos seguintes motivos: como o trabalho é todo retrospectivo os contatos dos participantes podem estar desatualizados, parte dos pacientes e familiares podem não residir na cidade de Uberaba e além disso, alguns pacientes podem ter evoluído a óbito e a obtenção desse termo se tornaria um inviabilizador do projeto. Outro ponto é que a aplicação do termo de consentimento poderia trazer transtornos emocionais, levando à recordação de um momento de sofrimento tanto para o paciente quanto para o familiar ou cuidador. A pesquisa será encerrada após a obtenção, análise e divulgação dos resultados finais para publicação científica, ou se houver quebra de confidencialidade ou falha ética na condução do projeto. O projeto será realizado no laboratório da disciplina de Hematologia, que conta com os recursos necessários à realização da pesquisa, que incluem, microcomputador com acesso à internet e impressora. Os resultados serão divulgados por meio de publicação científica e dissertação de mestrado. Será elaborado relatório com os resultados obtidos na pesquisa a ser encaminhado ao serviço de Hematologia da UFTM com vista a auxiliar no melhor atendimento aos pacientes. A pesquisa não fará uso de amostras biológicas, imagens ou vídeos. As fichas preenchidas com dados de prontuários serão mantidas em computador e em local com acesso restrito aos pesquisadores por 5 anos e após esse período os arquivos físicos serão destruídos e os digitais serão deletados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os termos de apresentação obrigatória estão disponibilizados adequadamente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

*Parecer do Colegiado:

De acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/12 e norma operacional 001/2013, o colegiado do CEP-HC/UFTM manifesta-se pela aprovação do protocolo de pesquisa proposto, situação definida em reunião do dia 11/10/2022.

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

UF: MG

Município: UBERABA

CEP: 38.025-470

Telefone: (34) 3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 5.696.840

Considerações Finais a critério do CEP:

A aprovação do protocolo de pesquisa pelo CEP/UFTM dá-se em decorrência do atendimento à Resolução CNS 466/12 e norma operacional 001/2013, não implicando na qualidade científica do mesmo.

Conforme prevê a legislação, são responsabilidades, indelegáveis e indeclináveis, do pesquisador responsável, dentre outras: comunicar o início da pesquisa ao CEP; elaborar e apresentar os relatórios parciais (semestralmente), assim como a apresentação do relatório final, quando do término do estudo. Para isso deverá ser utilizada a opção 'notificação' disponível na Plataforma Brasil.

O CEP-HC/UFTM não se responsabiliza pela qualidade metodológica dos projetos analisados, mas apenas pelos pontos que influenciam ou interferem no bem-estar dos participantes da pesquisa conforme preconiza as normas da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP.

A secretaria do CEP-HC/UFTM está à disposição para quaisquer esclarecimentos sobre trâmites e funcionalidades da Plataforma Brasil, durante os dias de segunda a sexta-feira, das 07:00 às 16:00 hrs. Telefone: 34 3318-5319. e-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2017748.pdf	30/09/2022 08:20:16		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	modeloprojetodepesquisa.docx	30/09/2022 08:19:37	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
Outros	checklistdocumental.pdf	27/09/2022 12:14:36	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
Outros	checklistprojetopesquisa.pdf	27/09/2022 12:14:25	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
Declaração de concordância	Autorizacaochefias.pdf	27/09/2022 12:13:51	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termodispensatcle.pdf	27/09/2022 12:13:13	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompromissopesquisador.pdf	27/09/2022 12:12:43	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito
Declaração de	AnuenciaGEP.pdf	27/09/2022	Fernanda Bernadelli	Aceito

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG Município: UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO
TRIÂNGULO MINEIRO -
HC/UFTM



Continuação do Parecer: 5.696.840

Instituição e Infraestrutura	AnuenciaGEP.pdf	09:54:54	De Vito	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	27/09/2022 09:53:14	Fernanda Bernadelli De Vito	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

UBERABA, 11 de Outubro de 2022

Assinado por:
Karoline Faria de Oliveira
(Coordenador(a))

Endereço: R. Benjamin Constant, 16

Bairro: Nossa Srª da Abadia

CEP: 38.025-470

UF: MG **Município:** UBERABA

Telefone: (34)3318-5319

E-mail: cep.hctm@ebserh.gov.br

Anexo B - Artigo submetido

Title: Changes of laboratory parameters as predictors of vaso-occlusive crises in children with sickle cell anemia

ABSTRACT

Background: Children with sickle cell anemia frequently seek emergency services for treatment of vaso-occlusive crises (VOC). The long-term complications of VOC include damage to multiple organs, considerably reduced quality of life, and increased risk of death. **Patients/Methods:** This study monitored changes in blood count data, bilirubin and lactate dehydrogenase (LDH) levels in children (under 18 years) with sickle cell anemia during the occurrence of VOC. These tests were also assessed at the two follow-up appointments preceding the crisis, at which the patient had no complaints of pain or other complications. **Results:** During the period evaluated, 133 episodes of emergency care were identified, 76 of which were related to VOC. A decrease was observed in the number of red blood cells, hematocrit, hemoglobin levels, MCH, platelet count, and an increase in the number of total leukocytes, neutrophils, monocytes, conjugated bilirubin levels in the VOC compared to that found in the routine consultation. Patients who were not taking hydroxyurea had lower hematocrit and MCV values and higher RDW indices during routine consultations, as well as lower hematocrit and MCV levels, higher numbers of monocytes and lymphocytes and higher levels of direct bilirubin during crisis episodes. Values of MCHC, RDW, conjugated bilirubin, and LDH increased significantly in the consultation that preceded the VOC, compared to the routine consultation before it, suggesting that these markers could be indicative of a harbinger of crisis. **Conclusions:** We believe that these results have helped us to understand the pathophysiology related to changes in hematological tests in VOC.

Keywords: anemia, sickle cell; vaso-occlusive crisis; blood cell count; bilirubin; lactate dehydrogenase; biomarkers.

INTRODUCTION

In sickle cell anemia (SCA), recurrent hemolysis of erythrocytes, combined with increased viscosity due to deformation in these cells, promotes abnormal adherence to the endothelium which, associated with the inflammatory cascade, causes vaso-occlusions (VOC), culminating in painful crises, which can present in an acute recurrent form, leading to significant multiorgan dysfunction and premature mortality.¹⁻³ VOC generates ischemia at the site, causing acute pain, the intensity of which can vary from mild to unbearable.⁴

Many environmental and patient-related factors are risk factors for VOC. Patient factors include hypoxia, infection, fever, acidosis, dehydration, pregnancy, menstruation, and obstructive sleep apnea; pain itself can also precipitate painful crises. Anxiety, depression, alcohol consumption, and physical exhaustion can also trigger the onset of VOC.⁵⁻⁷ Environmental factors such as exposure to extreme temperatures have identified as VOC triggers.^{5,8} In one study, colder temperatures and higher wind speeds were associated with a higher incidence of VOC in children under 18 years.⁹

In addition to pain, the long-term complications of VOC include damage to muscles and or bones and vital organs such as the liver, spleen, kidneys, and brain. This intense pain linked to vaso-occlusive crises also has a enormous effect on worsening the quality of life of these individuals, requiring frequent visits to emergency services and hospitalizations.¹⁰⁻¹¹

Some blood parameters were associated with the severity of sickle cell disease. Extracellular hemoglobin levels may also play a role in the development of VOC. When the binding capacity of haptoglobin is exceeded, free hemoglobin levels increase. Once unbound, it consumes the endogenous vasodilator nitric oxide, resulting in vasoconstriction and systemic and pulmonary hypertension.¹²

Hydroxyurea (HU) is a ribonucleotide reductase inhibitor that induces the production of fetal hemoglobin (HbF), which is usually suppressed shortly after birth. It is a cytotoxic

1 agent that, in addition to increasing HbF production, promotes an increase in mean
2 corpuscular volume, increases RBC hydration, and improves hemoglobin levels.¹¹
3 Hydroxyurea also increases nitric oxide concentrations (a potent vasodilator) and decreases
4 RBC adhesion. Another favorable aspect in HU treatment is a decrease in the expression of
5 adhesion molecules such as phosphatidylserine on the erythrocyte and platelet surface, as
6 well as a decrease in receptor proteins located on endothelial cells, thus contributing to a
7 reduction in VOC.¹³

8 Despite this, patients with SCA often have VOC events, and only the symptoms of the
9 crisis are treated. Changes in laboratorial parameters usually are observed when a pain
10 event has already started and are link to the crisis severity rather than being predictive of its
11 onset. Thus, it is cannot distinguish whether this was a consequence rather than a predictor
12 of VOC.

13 Because of this, the present study analyzed changes in laboratory tests related to
14 blood count and bilirubin and lactate dehydrogenase dosage in children with SCA with vaso-
15 occlusive crises to identify some predictive factors for this complication. The data obtained
16 here could help to prevent and reduce the frequency and severity of crises and reduce
17 damage to tissues and organs.

18 **MATERIALS AND METHODS**

19 *Characterization of the study and ethical aspects*

20 This is a primary, observational, cross-sectional cohort study. This study was
21 approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of the Triângulo
22 Mineiro - UFTM (CAAE: 63873722.8.0000.8667).

23 *Sample characterization*

24 The study group consisted of patients with sickle cell anemia (SS homozygotes)
25 under the age of 18 years who sought emergency care for VOC between 2016 and 2022.

26 Cases in which the emergency visit was due to an infection or fever of unknown origin
27 and those whose interval between follow-up visits was longer than five months were
28 excluded from the study.

29 *Data evaluated*

30 The results of the hematological and biochemical blood tests of patients in all
31 episodes of VOC seen at hospital on the first day of care were analyzed using their electronic
32 medical records.

33 It was collected blood count data such as number of red blood cells, hemoglobin
34 concentration (Hb), hematocrit (HCT), mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular
35 hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), red cell
36 distribution width (RDW), reticulocyte count, leukocyte count and platelet count, as well as
37 bilirubin and lactate dehydrogenase (LDH) levels and entered into a spreadsheet for later
38 analysis. It was evaluated these tests also in the two consultations preceding the crisis, in
39 which the patient had no complaints of pain or other complications. Patients were
40 categorized according to whether or not they used hydroxyurea.

41 *Statistical analysis*

42 The descriptive analysis of the data was presented in absolute values and percentages.
43 Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk normality tests were used, and comparative statistics
44 for the same patient at two points in time (last visit vs. crisis or between the last two follow-up
45 visits) were carried out using the paired t-test or Wilcoxon test, depending on the normality of
46 the data. Analyses comparing the use of hydroxyurea were carried out using student's t-tests
47 (for parametric data) or the Mann-Whitney test (for non-parametric data). All analyses were
48 performed in GraphPad Prism software version 9.5.1 (San Diego, CA), and differences were
49 considered significant when $p < 0.05$.

50
51
52
53
54
55

1 RESULTS

2 Between 2016 and 2022, 77 cases under 18 years with sickle cell anemia were
3 documented. Of these, 17 had HbS associated with HbC (HbSC) and six HbS associated
4 with beta thalassemia, with the remaining 54 patients with sickle cell anemia (HbSS).
5 Fourteen of them had never gone to the present Health Service. Another four attended only
6 one or two appointments and did not continue with their treatment. Of the remainder, one
7 patient did the follow-up in private health service, two had no recorded crisis, and another
8 two had crisis constantly, so it was not possible to collect data in the stationary period (out of
9 crisis) during consultations, as defined in the methodology.

10 The remaining 31 patients were 19 (61.3%) male and 12 (38.7%) female. As for
11 treatment, 23 (74.2%) were taking hydroxyurea continuously and, 8 (25.8%) were not taking
12 the medication, with two patients having stopped treatment on their own. All of them were
13 being followed-up with a maximum interval of 5 months between appointments.

14 During the period evaluated, 302 episodes of emergency care were identified for
15 these patients. In 133 cases, it was possible to obtain data from laboratory tests carried out
16 in follow-up visits before this event, when the patients had no clinical complaints. Of these,
17 76 were related to vaso-occlusive crises. The number of days of hospitalization ranged from
18 1 to 30 days.

19 In a later analysis, we included the visits of patients in whom it was possible to analyze two
20 subsequent routine visits followed by a VOC episode, to determine predictors of crisis.

21 *Laboratory changes in vaso-occlusive crises*

22 To identify the most significant laboratory alterations in VOC events, baseline values
23 from the last routine consultation were compared with those obtained at the moment of the
24 crisis.

25 According to the blood count values found, at the time of CVO, there was a decrease in the
26 number of red blood cells ($p < 0.0001$), hematocrit ($p < 0.0001$), hemoglobin levels ($p < 0.0001$)
27 and mean corpuscular hemoglobin (MCH) ($p = 0.0423$). Furthermore, it was possible to
28 observe a significant increase in the number of total leukocytes ($p < 0.0001$), neutrophils
29 ($p < 0.0001$), and monocytes ($p = 0.0003$) and a decrease in eosinophils ($p = 0.0026$), compared
30 to the values found in routine tests. The platelet count decreased significantly ($p = 0.0001$).
31 Concerning biochemical parameters, direct bilirubin levels increased during VOC ($p = 0.0310$),
32 while indirect bilirubin decreased ($p = 0.0405$). The other parameters did not differ significantly
33 between the two periods (Figure 01 and Table 01).

34 *Influence of the use of hydroxyurea on laboratory changes before and during vaso-occlusive* 35 *crises*

36 To assess the influence of the use of hydroxyurea on the blood count parameters,
37 bilirubin, and LDH levels of children with SCA, the values of these tests carried out during the
38 routine consultation before the crisis, when they still had no signs and symptoms, and at the
39 time of the VOC were compared. Evaluating the pre-crisis follow-up consultation, it was
40 possible to see that patients who were not taking hydroxyurea had lower HCT values
41 ($p = 0.0028$), lower MCV ($p = 0.0104$) and higher RDW ($p = 0.0032$), and a higher number of
42 monocytes ($p = 0.0133$). The values of the other tests did not differ significantly (Figure 02 and
43 Table 02).

44 In the analysis during CVO, patients not taking the medication had lower hematocrit
45 ($p = 0.0353$), lower MCV ($p = 0.0298$), higher numbers of monocytes ($p = 0.0084$), and
46 lymphocytes ($p < 0.0001$) and higher levels of direct bilirubin ($p = 0.0271$) than those taking
47 hydroxyurea (Figure 03 and Table 03).

48 *Determining predictive factors for the occurrence of vaso-occlusive crises*

49 In this study, we assessed whether changes in any of the laboratory parameters evaluated
50 could provide some subclinical indication of the occurrence of VOC. Laboratory values from
51 two follow-up consultations before a VOC event, between which the patient had no
52 complications, were compared. From 58 analyses (visit 1 vs. visit 2), it was found that the
53
54
55

1 MCHC increased significantly at the visit closest to the crisis (35.4 vs. 35.6; 0.0425), as did
2 the RDW values (medians 19.2 vs. 19.9; $p=0.0397$), direct bilirubin (medians 0.5 vs. 0.6;
3 $p=0.0450$) and LDH (medians 596.5 vs. 618.0; $p=0.0174$). The other parameters did not
4 differ significantly (Figure 04 and Table 04).

6 DISCUSSION

7 In patients with SCA, a decrease in the total hemoglobin level, with marked
8 reticulocytosis, characterizes the severity of hemolytic anemia.¹⁴ In the sample evaluated,
9 during VOC the number of red blood cells, hematocrit, hemoglobin levels, MCH, and platelet
10 count decreased, and there was an increase in the number of total leukocytes, neutrophils,
11 monocytes, and conjugated bilirubin levels, demonstrating the extensive laboratory changes
12 resulting from this process.

13 While some studies report changes in total leukocyte, red blood cells, and reticulocyte
14 count, others state that some of these parameters are not predictive markers of admission to
15 the emergency department.¹⁵⁻¹⁶ However, the decrease in hemoglobin levels and platelet
16 count during the crisis has been well documented.^{15, 17-19}

17 Chapman et al.¹⁶ evaluated 86 emergency room visits by children with sickle cell
18 anemia due to painful crises. They found a small but statistically significant change in
19 hemoglobin values between patients discharged from the hospital and those who required
20 hospitalization. Patients discharged from the hospital had an increase in hemoglobin of 0.2
21 g/dL compared to steady-state hemoglobin, while those admitted showed a drop of 0.2 g/dL.
22 Although the difference was statistically significant, the authors believe that its clinical
23 usefulness is limited.

24 About the leukocyte profile, it is known that the presence of leukocytosis can indicate
25 the presence of hemolysis, a process by which monocytes destroy red blood cells through
26 phagocytosis.²⁰ Monocytes from patients with SCA are generally activated and can increase
27 vaso-occlusion through an endothelial inflammatory response promoted by the up-regulation
28 of adhesion molecules and tissue factors mediated by NF- κ B.²¹ In this study, it became clear
29 how the body of patients with sickle cell anemia undergoes hematometric and biochemical
30 laboratory changes during acute events. Furthermore, it was possible to see the importance
31 of hydroxyurea in maintaining better laboratory conditions both during and after a crisis.

32 Hydroxyurea is a chemotherapeutic agent whose the main action is to block DNA
33 synthesis by inhibiting ribonucleotide reductase, keeping cells in S-phase. It is easy to use
34 and, above all, has few toxic effects and a myelosuppressive effect that can be easily
35 reversible.¹³ Because of this, hydroxyurea has been widely used in SCA treatment protocols
36 since the 1980s in adult patients, and its use was later authorized in children.¹¹

37 In the present study, not taking hydroxyurea patients had lower hematocrit and MCV
38 values, with higher RDW indices in non-crisis moments. Multiple effects on the erythrocyte
39 lineage with the use of hydroxyurea have been demonstrated, such as an increase in the
40 level of Hb F in around 60% of the patients treated, an increase in the hemoglobin rate, the
41 MCV and a decrease in the number of reticulocytes,²² which is in line with the findings
42 presented here.

43 Children with SCA remain in a continuous state of inflammation due to repeated
44 tissue damage caused by drepanocytes, that leads to a severe condition, with significant
45 changes in the immune system, with an increase and activation of various cell types such as
46 neutrophils, monocytes, and eosinophils.^{23,24}

47 Compared to healthy controls, inflammatory markers are elevated in children with
48 SCA, but these markers are higher in untreated children than those exposed to disease-
49 modifying therapies.²⁵ Hydroxyurea therapy reduced the levels of inflammatory molecules
50 more efficiently, and its prolonged use sustained the reduction of most of these factors. In
51 addition, the drug was associated with a decrease in the frequency of VOC, while chronic
52 transfusion therapy did not reduce inflammatory molecules to the same degree.¹³

53 Patients with SCA are monitored on an outpatient basis and undergo routine tests to
54 monitor the progression of the disease and indicate when therapeutic interventions, such as
55 blood transfusion, are necessary. When evaluating the possibility of determining predictors of

1 CVO, it was possible to see that the parameters obtained in these routine tests can indicate
2 a harbinger of crisis. Both CHCM and RDW increased significantly at the visit closest to the
3 crisis.

4 Several factors are known to influence the degree of HbS polymerization in red blood
5 cells: the percentage of intracellular HbS, the degree of cellular dehydration, the transit time
6 of red blood cells in the microcirculation, the type of hemoglobin within the cells, pH, among
7 others.^{26,27}

8 Cell dehydration increases the concentration of mean corpuscular hemoglobin
9 (MCHC), facilitating sickling by improving the possibility of contact between HbS molecules.
10 As a result of HbS polymerization, increased MCHC, and membrane alterations, erythrocytes
11 are sequestered and prematurely destroyed by the monocytic phagocytic system.

12 Patients with SCA may have a considerably high RDW, an index related to
13 erythrocyte size (above 19%), and an increase in sickled red blood cells would increase
14 RDW.

15 High levels of serum bilirubin and LDH are considered predictors of nephropathy in
16 patients with SCA.²⁸ Ballas and Marcolina found that during the evolution of painful episodes
17 in patients with SCA, there was a significant increase in total bilirubin, LDH, nucleated red
18 blood cell count, and RDW, which are markers indicative of hyperhemolysis.²⁹ High serum
19 lactate dehydrogenase levels have also been associated with a severe course of VOC.³⁰

20 It is important to note that the laboratory data of the patients involved in this study
21 only refers to the initial moments of their care, and this is presumably why a significant
22 increase in indirect bilirubin, known as a marker of hemolysis, was not observed. The
23 increase in conjugated bilirubin is more related to liver alterations such as acute intrahepatic
24 cholestasis and cholelithiasis.³¹

25 The liver plays a central role in bilirubin metabolism, being responsible for its uptake,
26 conjugation, and excretion. Under normal conditions, unconjugated bilirubin is rapidly taken
27 up and metabolized by the liver, which prepares it for elimination. Because it is water-soluble,
28 conjugated bilirubin penetrates the body fluids and is capable of causing more pronounced
29 degrees of jaundice than unconjugated bilirubin.³²

30 In hemolysis processes, the liver's excretory function is generally not affected, but
31 erythrocytes undergo rapid hemolysis and liver cells simply cannot excrete bilirubin at the
32 same rate as it is formed. As a result, the plasma concentration of free bilirubin increases
33 and reaches values well above normal values. If there is liver damage, there may be an
34 increase in both unconjugated bilirubin and conjugated bilirubin, since both can be found
35 inside the hepatocyte.³³

36 Given the findings related to the hematological and biochemical parameters of
37 children with SCA during VOC, especially about the use of hydroxyurea, we believe that we
38 have been able to help understand the pathophysiology of the disease. The analyses here
39 presented must be extended to establish whether these parameters could be considered
40 predictors of VOC in the whole population of patients with SCA.

41
42
43 'Declaration of Generative AI and AI-assisted technologies in the writing process'.

44 *Statement: During the preparation of this work the author(s) did not use generative AI and AI-*
45 *assisted technologies.*

46 47 48 REFERENCES

- 49 1. Conran, N., Franco-Penteado, C. F., & Costa, F. F. (2009). Newer aspects of the
50 pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. *Hemoglobin*, 33(1), 1–16.
51
52 2. Carden, M. A., Fasano, R. M., & Meier, E. R. (2020). Not all red cells sickle the same:
53 Contributions of the reticulocyte to disease pathology in sickle cell anemia. *Blood reviews*, 40,
54 100637.
55

- 1 3. Sundd, P., Gladwin, M. T., & Novelli, E. M. (2019). Pathophysiology of Sickle Cell Disease.
2 Annual review of pathology, 14, 263–292.
- 3
- 4 4. Sil, S., Cohen, L. L., & Dampier, C. (2016). Psychosocial and Functional Outcomes in
5 Youth With Chronic Sickle Cell Pain. *The Clinical journal of pain*, 32(6), 527–533.
- 6
- 7 5. Mousa, S. A., Al Momen, A., Al Sayegh, F., Al Jaouni, S., Nasrullah, Z., Al Saeed, H.,
8 Alabdullatif, A., Al Sayegh, M., Al Zahrani, H., Hegazi, M., Al Mohamadi, A., Alsulaiman, A.,
9 Omer, A., Al Kindi, S., Tarawa, A., Al Othman, F., & Qari, M. (2010). Management of painful
10 vaso-occlusive crisis of sickle-cell anemia: consensus opinion. *Clinical and applied*
11 *thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied*
12 *Thrombosis/Hemostasis*, 16(4), 365–376.
- 13
- 14 6. Chalacheva, P., Khaleel, M., Sunwoo, J., Shah, P., Detterich, J. A., Kato, R. M.,
15 Thuptimdang, W., Meiselman, H. J., Sposto, R., Tsao, J., Wood, J. C., Zeltzer, L., Coates, T.
16 D., & Khoo, M. C. K. (2017). Biophysical markers of the peripheral vasoconstriction response
17 to pain in sickle cell disease. *PloS one*, 12(5), e0178353.
- 18
- 19 7. Alkindi, S., Al-Busaidi, I., Al-Salami, B., Raniga, S., Pathare, A., & Ballas, S. K. (2020).
20 Predictors of impending acute chest syndrome in patients with sickle cell anaemia. *Scientific*
21 *reports*, 10(1), 2470.
- 22
- 23 8. Coates, T. D., Chalacheva, P., Zeltzer, L., & Khoo, M. C. K. (2018). Autonomic nervous
24 system involvement in sickle cell disease. *Clinical hemorheology and microcirculation*, 68(2-
25 3), 251–262.
- 26
- 27 9. Rogovik, A. L., Persaud, J., Friedman, J. N., Kirby, M. A., & Goldman, R. D. (2011).
28 Pediatric vasoocclusive crisis and weather conditions. *The Journal of emergency medicine*,
29 41(5), 559–565.
- 30
- 31 10. Ballas S.K., Dampier C. (2020). Risk factors associated with increased emergency
32 department utilization in patients with sickle cell disease: a systematic literature. Review.
33 *Annals of Hematology*, vol.99, p.2483–2495.
- 34
- 35 11. Osunkwo, I., Manwani, D., & Kanter, J. (2020). Current and novel therapies for the
36 prevention of vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *Therapeutic advances in*
37 *hematology*, 11, 2040620720955000.
- 38
- 39 12. Zhou, Z., Behymer, M., & Guchhait, P. (2011). Role of extracellular hemoglobin in
40 thrombosis and vascular occlusion in patients with sickle cell anemia. *Anemia*, 2011, 918916.
- 41
- 42 13. Charache, S., Barton, F. B., Moore, R. D., Terrin, M. L., Steinberg, M. H., Dover, G. J.,
43 Ballas, S. K., McMahon, R. P., Castro, O., & Orringer, E. P. (1996). Hydroxyurea and sickle
44 cell anemia. Clinical utility of a myelosuppressive "switching" agent. *The Multicenter Study of*
45 *Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. Medicine*, 75(6), 300–326.
- 46
- 47 14. Kato, G. J., Piel, F. B., Reid, C. D., Gaston, M. H., Ohene-Frempong, K., Krishnamurti, L.,
48 Smith, W. R., Panepinto, J. A., Weatherall, D. J., Costa, F. F., & Vichinsky, E. P. (2018).
49 Sickle cell disease. *Nature reviews. Disease primers*, 4, 18010.
- 50
- 51 15. Frush, K., Ware, R. E., & Kinney, T. R. (1995). Emergency department visits by children
52 with sickle hemoglobinopathies: factors associated with hospital admission. *Pediatric*
53 *emergency care*, 11(1), 9–12.
- 54

- 1 16. Chapman, J. I., El-Shammaa, E. N., & Bonsu, B. K. (2004). The utility of screening
2 laboratory studies in pediatric patients with sickle cell pain episodes. *The American journal of*
3 *emergency medicine*, 22(4), 258–263.
- 4
- 5 17. Freedman, M. L., & Karpatkin, S. (1975). Elevated platelet count and megathrombocyte
6 number in sickle cell anemia. *Blood*, 46(4), 579–582.
- 7
- 8 18. Alkjaersig, N., Fletcher, A., Joist, H., & Chaplin, H., Jr (1976). Hemostatic alterations
9 accompanying sickle cell pain crises. *The Journal of laboratory and clinical medicine*, 88(3),
10 440–449.
- 11
- 12 19. Ibanga I. A. (2006). Significance of platelet activation in sickle cell anaemia. *Nigerian*
13 *journal of medicine : journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria*, 15(2),
14 148–150.
- 15
- 16 20. Mahoney, D. H., Jr, & Fernbach, D. J. (1983). Monocyte functions in sickle cell disorders.
17 *The American journal of pediatric hematology/oncology*, 5(4), 409–411.
- 18
- 19 21. Belcher, J. D., Marker, P. H., Weber, J. P., Hebbel, R. P., & Vercellotti, G. M. (2000).
20 Activated monocytes in sickle cell disease: potential role in the activation of vascular
21 endothelium and vaso-occlusion. *Blood*, 96(7), 2451–2459.
- 22
- 23 22. ANDRADE, S.R. (2001). Características hematológicas e bioquímicas da doença
24 falciforme no estado do Rio Grande do Norte. *Rev Bras Anál Clín*, 33(4): 205-210.
- 25
- 26 23. Anyaegbu CC, Okpala IE, Akren'Ova YA, et al. (1998). Peripheral blood neutrophil count
27 and candidacidal activity correlate with the clinical severity of sickle cell anaemia (SCA). *Eur*
28 *J Haematol*, 60(4):267–268.
- 29
- 30 24. Canalli AA, Conran N, Fattori A, et al. (2004). Increased adhesive properties of
31 eosinophils in sickle cell disease. *Exp Hematol*, 32(8):728–734.
- 32
- 33 25. Lanaro C, Franco-Penteado CF, Albuquerque DM, et al. (2009) Altered levels of cytokines
34 and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and
35 effects of hydroxyurea therapy. *J Leukoc Biol*, 85(2):235–242.
- 36
- 37 26. Noguchi CT. (1984). Polymerization in erythrocytes containing S and non-S hemoglobins.
38 *Biophys J*, v. 45, p. 1154-1158.
- 39
- 40 27. Eaton WA, Hofrichter J. (1990). Sickle cell hemoglobin polymerization. *Advances in*
41 *Protein Chemistry*, v. 40, p. 263-269.
- 42
- 43 28. Mahdi, M., Dachi, R. A., Musa, I., Ahmed, S. G., Gwarzo, A. K., Ismail, A., et al. (2023).
44 Relationship between sickle cell nephropathy and some biochemical markers of haemolysis
45 amongst patients with sickle cell anaemia in Kano, Northwestern Nigeria. *West African*
46 *journal of medicine*, 40(11 Suppl 1), S23–S24.
- 47
- 48 29. Ballas, S. K., & Marcolina, M. J. (2006). Hyperhemolysis during the evolution of
49 uncomplicated acute painful episodes in patients with sickle cell anemia. *Transfusion*, 46(1),
50 105–110.
- 51
- 52 30. Stankovic Stojanovic K, Steichen O, Lefevre G, et al. (2012). High lactate dehydrogenase
53 levels at admission for painful vaso-occlusive crisis is associated with severe outcome in
54 adult SCD patients. *Clin Biochem*, 45: 1578-1582.
- 55

1 31. Fargo, M. V., Grogan, S. P., & Saguil, A. (2017). Evaluation of Jaundice in Adults.
2 American family physician, 95(3), 164–168.

3
4 32. Levitt DG, Levitt MD. (2014). Quantitative assessment of the multiple processes
5 responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. Clin Exp Gastroenterol, 7:307-
6 328.

7
8 33. Erlinger S, Arias IM, Dhumeaux D. (2014). Inherited disorders of bilirubin transport and
9 conjugation: new insights into molecular mechanisms and consequences. Gastroenterology,
10 146(7):1625-1638.

11
12
13 **Acknowledgements**

14 The research was supported by grants from Fundação de Amparo à Pesquisa do
15 Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (APQ-02627-21), and Universidade Federal do
16 Triângulo Mineiro.

17
18
19
20

1 **TABLES**

2
3 Table 01. Comparison of indices related to blood count, bilirubin, and lactate dehydrogenase
4 (LDH) levels in children with sickle cell anemia during the vaso-occlusive crisis (VOC) and
5 the follow-up consultation before the event.

Parameter	Follow-up consultation Mean (\pm SD) Median (min - max)	VOC Mean (\pm SD) Median (min - max)	p
Red blood cells ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2,745 (2,050-3,870)	2,530 (1,570-3,650)	<0.0001
Hemoglobin (g/dL)	8.4 (5.8-11.6)	7.6 (5.0-12.5)	<0.0001
Hematocrit (%)	23.6 (17.9-34.4)	22.0 (13.9-36.9)	<0.0001
MCV	87.5 (66.7-113.6)	85.2 (68.1-111.5)	0.5339
MCH	29.8 (21.5-41.4)	29.4 (22.8-41.1)	0.0423
MCHC	36.76 (32.3-37.7)	34.25 (28.5-40.0)	0.2149
RDW	21.2 (± 3.7)	21.7 (± 3.7)	0.1348
Reticulocytes	8.2 (± 2.7)	8.0 (± 2.1)	0.4945
Leukocytes (/μL)	11,070 (5,800-29,910)	17,020 (5,870-31,830)	<0.0001
Neutrophils (/μL)	4,863 (1,690-15,760)	9,632 (2,583-26,460)	<0.0001
Eosinophils (/μL)	405 (60-3,962)	290 (63-1,715)	0.0026
Monocytes (/μL)	958 (253-2,758)	1,194 (176-3,583)	0.0003
Lymphocytes (/μL)	4,464 (1,246-20,094)	4,120 (754-27,268)	0.8924
Platelets (/μL)	465,500 (± 149.600)	394,100 (± 170.4)	0.0001
Unconjugated bilirubin	1.4 (0.6-4.3)	1.3 (0.3-4.9)	0.0405
Conjugated bilirubin	0.5 (0.3-1.3)	0.6 (0.2-2.2)	0.0310
Total bilirubin	2.1 (0.9-9.7)	2.3 (0.5-9.8)	0.4401
LDH	617.8 (± 211.7)	665.7 (± 220.2)	0.1984

6 SD: standard deviation; min: minimum; max: maximum; MCV: mean corpuscular volume;
7 MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration;
8 RDW: red blood cell distribution range; LDH: lactate dehydrogenase. The paired t-test
9 (parametric data) and Wilcoxon test (non-parametric data) were used. Differences were
10 considered significant when $p < 0.05$.

11
12

1 Table 02. Comparison of the indices related to blood count, bilirubin, and lactate
 2 dehydrogenase (LDH) levels of children with sickle cell anemia in the follow-up consultation
 3 before the vaso-occlusion event of children with sickle cell anemia who were or were not
 4 using hydroxyurea.

Parameter	Using hydroxyurea	Not using hydroxyurea	p
	Mean (\pm SD) Median (min - max)	Mean (\pm SD) Median (min - max)	
Red blood cells ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2,807 ($\pm 3,97$)	2,759 ($\pm 4,27$)	0.7085
Hemoglobin (g/dL)	8.6 (± 1.3)	7.8 (± 0.6)	0.0677
Hematocrit (%)	25.0 (± 3.8)	21.7 (± 2.3)	0.0028
MCV	90.3 (± 10.8)	82.2 (± 7.8)	0.0104
MCH	31.0 (± 4.2)	30.0 (± 2.0)	0.4428
MCHC	34.4 (32.4-37.7)	35.5 (32.3-37.7)	0.0990
RDW	20.6 (± 3.4)	23.7 (± 3.7)	0.0032
Reticulocytes	8.0 (± 3.2)	8.0 (± 1.5)	0.9891
Leukocytes (/ μL)	11,050 (5,800-28,300)	11,810 (7,600-29,910)	0.2959
Neutrophils (/ μL)	4,724 (1,690-15,760)	4,956 (3,567-10,469)	0.7061
Eosinophils (/ μL)	343 (60-1,988)	776 (152-1,999)	0.1285
Monocytes (/ μL)	894 (253-2,758)	1262 (649-1,795)	0.0133
Lymphocytes (/ μL)	4,039 (1,311-20,094)	4,775 (2,886-8,477)	0.0210
Platelets (/ μL)	469,500 ($\pm 159,800$)	466,100 ($\pm 100,800$)	0.9418
Unconjugated bilirubin	1.3 (0.6-4.0)	1.5 (0.6-4.3)	0.6380
Conjugated bilirubin	0.5 (± 0.1)	0.5 (± 0.1)	0.6834
Total bilirubin	2.0 (1.1-4.6)	2.2 (0.9-4.7)	0.7057
LDH	666.0 (225-1440)	488.5 (371-1040)	0.0918

5 SD: standard deviation; min: minimum; max: maximum; MCV: mean corpuscular volume;
 6 MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration;
 7 RDW: red blood cell distribution range; LDH: lactate dehydrogenase. Student's t-test
 8 (parametric data) and Mann-Whitney test (non-parametric data) were used; ns: not
 9 significant. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

10
 11

1 Table 03. Comparison of the indices related to blood count, bilirubin, and lactate
 2 dehydrogenase (LDH) levels at the vaso-occlusion event in children with sickle cell anemia
 3 who were or were not using hydroxyurea.
 4

Parameter	Using hydroxyurea	Not using hydroxyurea	p
	Mean (\pm SD) Median (min - max)	Mean (\pm SD) Median (min - max)	
Red blood cells ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	2,530 (1,570-3,650)	2,500 (2,300-3,590)	0.6403
Hemoglobin (g/dL)	7.9 (\pm 1.5)	7.3 (\pm 0.8)	0.2315
Hematocrit (%)	23.3 (\pm 4.6)	20.3 (\pm 5.3)	0.0353
MCV	87.5 (71.0-111.5)	81.7 (68.1-97.5)	0.0298
MCH	29.7 (22.8-41.0)	28.7 (25.8-32.7)	0.5174
MCHC	34.4 (\pm 1.7)	34.8 (\pm 3.0)	0.5369
RDW	21.3 (\pm 3.5)	22.4 (\pm 3.4)	0.3054
Reticulocytes	8.0 (\pm 2.8)	8.0 (\pm 1.5)	0.9981
Leukocytes (/uL)	16,801 (\pm 6,181)	16,800 (\pm 4,773)	0.9940
Neutrophils (/uL)	9,740 (\pm 4,607)	9,869 (\pm 2,471)	0.9254
Eosinophils (/uL)	322 (\pm 209)	480 (\pm 342)	0.0995
Monocytes (/uL)	1,072 (176-3501)	1,672 (1,134-2,551)	0.0084
Lymphocytes (/uL)	894 (253-2,758)	2,105 (890-5,376)	<0.0001
Platelets (/uL)	393,300 (\pm 162,500)	414,900 (\pm 134,700)	0.6568
Unconjugated bilirubin	1.2 (0.2-2.9)	1.4 (0.4-2.6)	0.9236
Conjugated bilirubin	0.5 (\pm 0.2)	0.7 (\pm 0.2)	0.0271
Total bilirubin	2.0 (\pm 0.9)	2.1 (\pm 1.1)	0.7190
LDH	661.1 (\pm 206.4)	734.3 (\pm 333.3)	0.3585

5 SD: standard deviation; min: minimum; max: maximum; MCV: mean corpuscular volume;
 6 MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration;
 7 RDW: red blood cell distribution range; LDH: lactate dehydrogenase. Student's t-test
 8 (parametric data) and Mann-Whitney test (non-parametric data) were used; ns: not
 9 significant. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

10
 11
 12

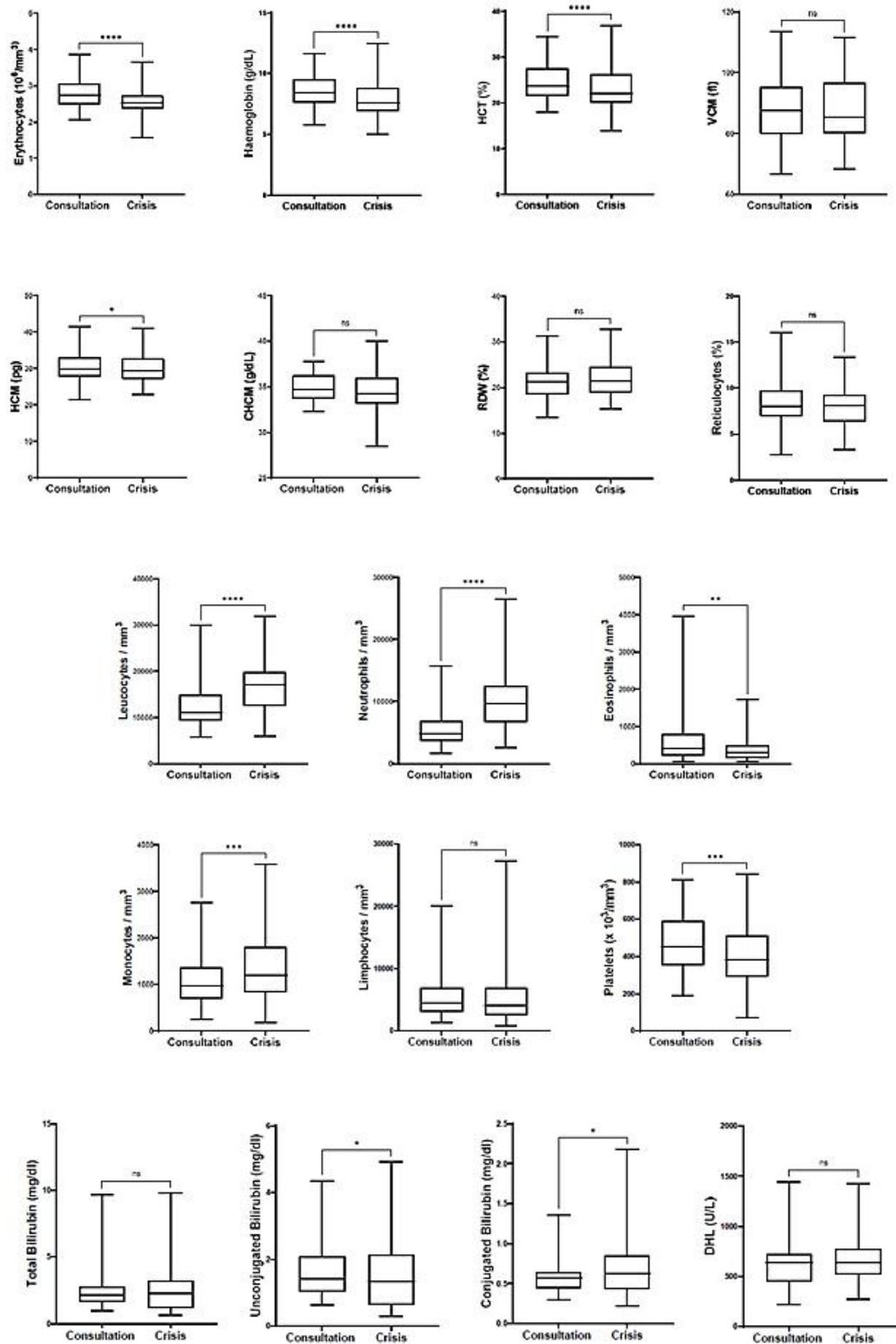
1 Table 04. Comparison of the indices of the blood counts taken at the last two follow-up
 2 consultation preceding the vaso-occlusion (VOC) event in children with sickle cell anemia.

Parameter	Follow-up consultation	Follow-up consultation preceding VOC	p
	Mean (\pm SD) Median (min - max)	Mean (\pm SD) Median (min - max)	
Red blood cells	2,700 (1,900-3,560)	2,670 (1,970-3,630)	0.4222
Hemoglobin (g/dL)	8.3 (\pm 1.2)	8.3 (\pm 1.3)	0.8451
Hematocrit (%)	24.2 (14.8-30.8)	24.1 (14.8-31.8)	0.7108
MCV	88.7 (\pm 9.2)	88.4 (\pm 9.5)	0.7159
MCH	31.2 (\pm 3.4)	31.2 (\pm 3.6)	0.6882
MCHC	35.4 (31.9-37.9)	35.6 (32.3-37.8)	0.0425
RDW	19.2 (14.3-25.4)	19.9 (13.5-30.1)	0.0397
Reticulocytes	7.9 (3.6-12.5)	7.8 (3.3-16.0)	0.1971
Leukocytes (/uL)	10,070 (4,670-25,090)	11060 (5,800-27,360)	0.8073
Neutrophils (/uL)	3,999 (1,382-11,756)	4563 (1,396-11,180)	0.2516
Eosinophils (/uL)	3,855 (778.0-12,796)	4505 (776.0-12,263)	0.4858
Monocytes (/uL)	977 (\pm 426)	1004 (\pm 367)	0.6225
Lymphocytes (/uL)	3,770 (1,541-10,843)	3487 (1,631-11,062)	0.3314
Platelets (/uL)	488,400 (\pm 143,800)	472500 (\pm 128,200)	0.4748
Unconjugated bilirubin	2.0 (\pm 0.9)	2.0 (\pm 0.9)	0.8529
Conjugated bilirubin	0.5 (\pm 0.1)	0.6 (\pm 0.1)	0.0450
Total bilirubin	2.0 (\pm 0.9)	2.0 (\pm 0.9)	0.8529
LDH	571.4 (\pm 141.6)	614.7 (\pm 173.6)	0.0174

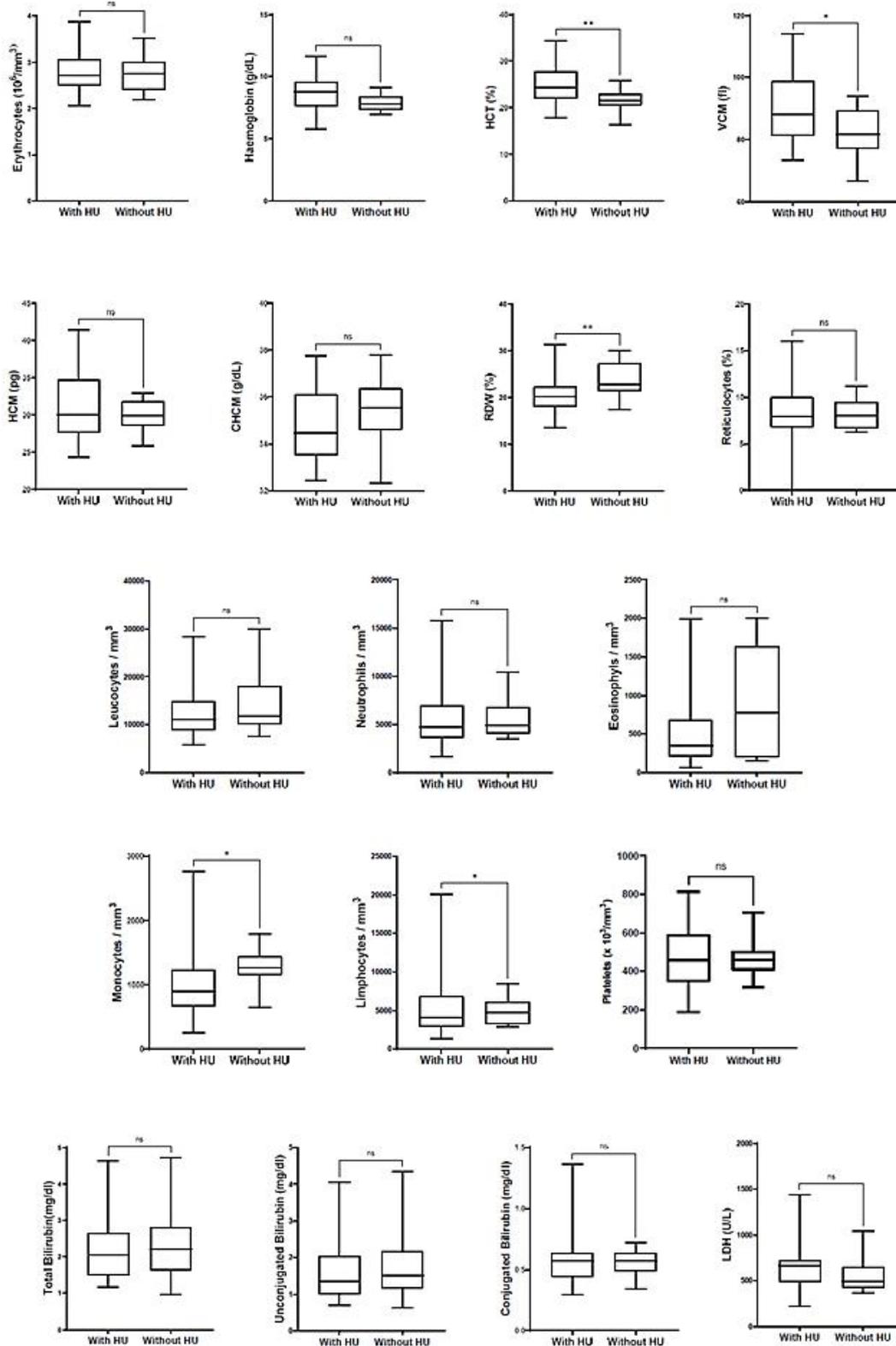
3 SD: standard deviation; min: minimum; max: maximum; MCV: mean corpuscular volume;
 4 MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration;
 5 RDW: red blood cell distribution range; LDH: lactate dehydrogenase. The paired t-test
 6 (parametric data) and Wilcoxon test (non-parametric data) were used. Differences were
 7 considered significant when $p < 0.05$.

8
 9

1 **FIGURES**
2

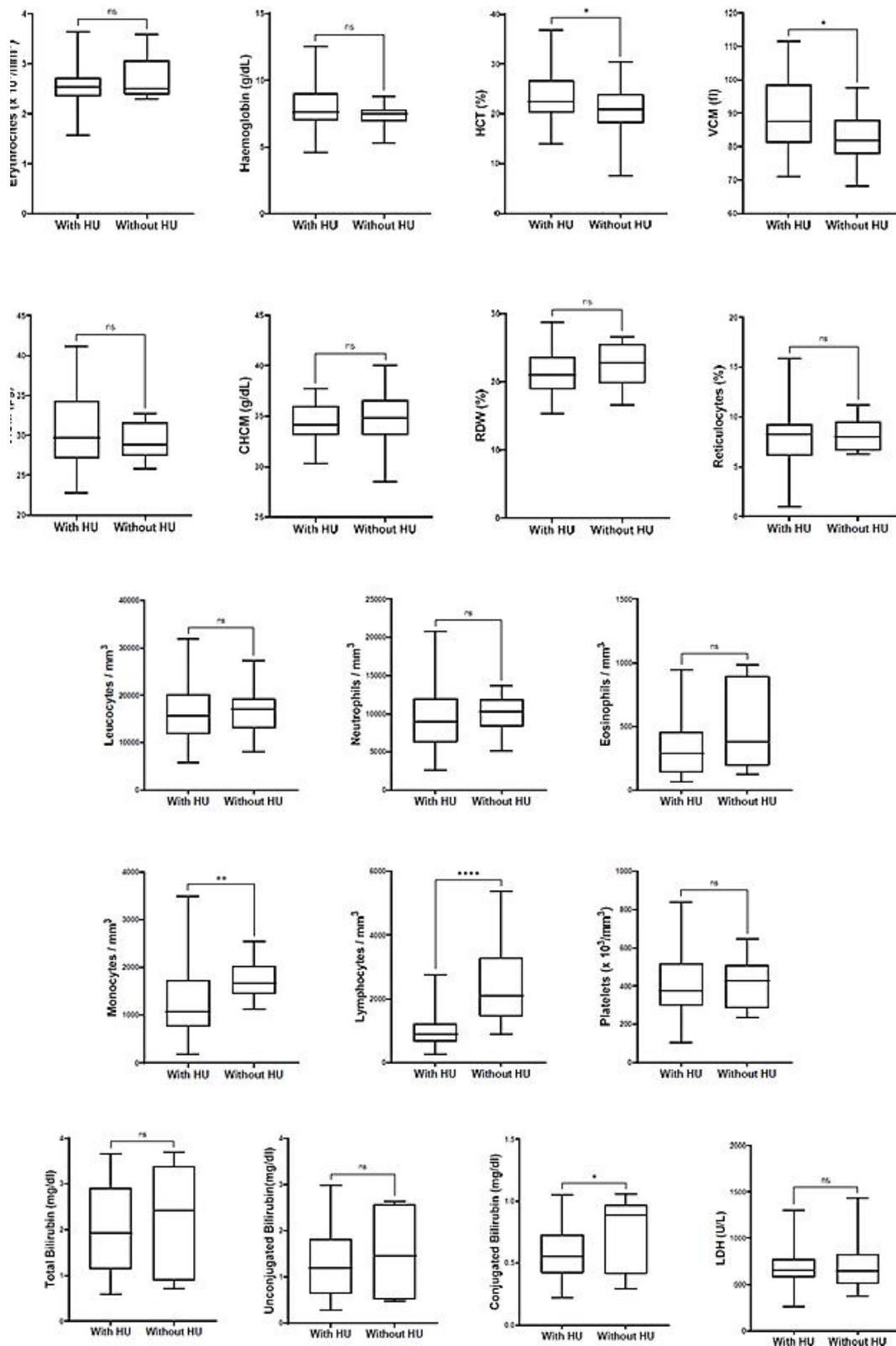


3
4 Figure 01. Comparison of indices related to blood count, bilirubin, and lactate dehydrogenase
5 (LDH) levels in children with sickle cell anemia during the vaso-occlusive crisis and the
6 follow-up consultation before the event. MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH:
7 mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume; RDW: red blood cell distribution amplitude. The
8 paired t-test (parametric data) and Wilcoxon test (non-parametric data) were used; ns: not significant. Differences
9 were considered significant when $p < 0.05$.



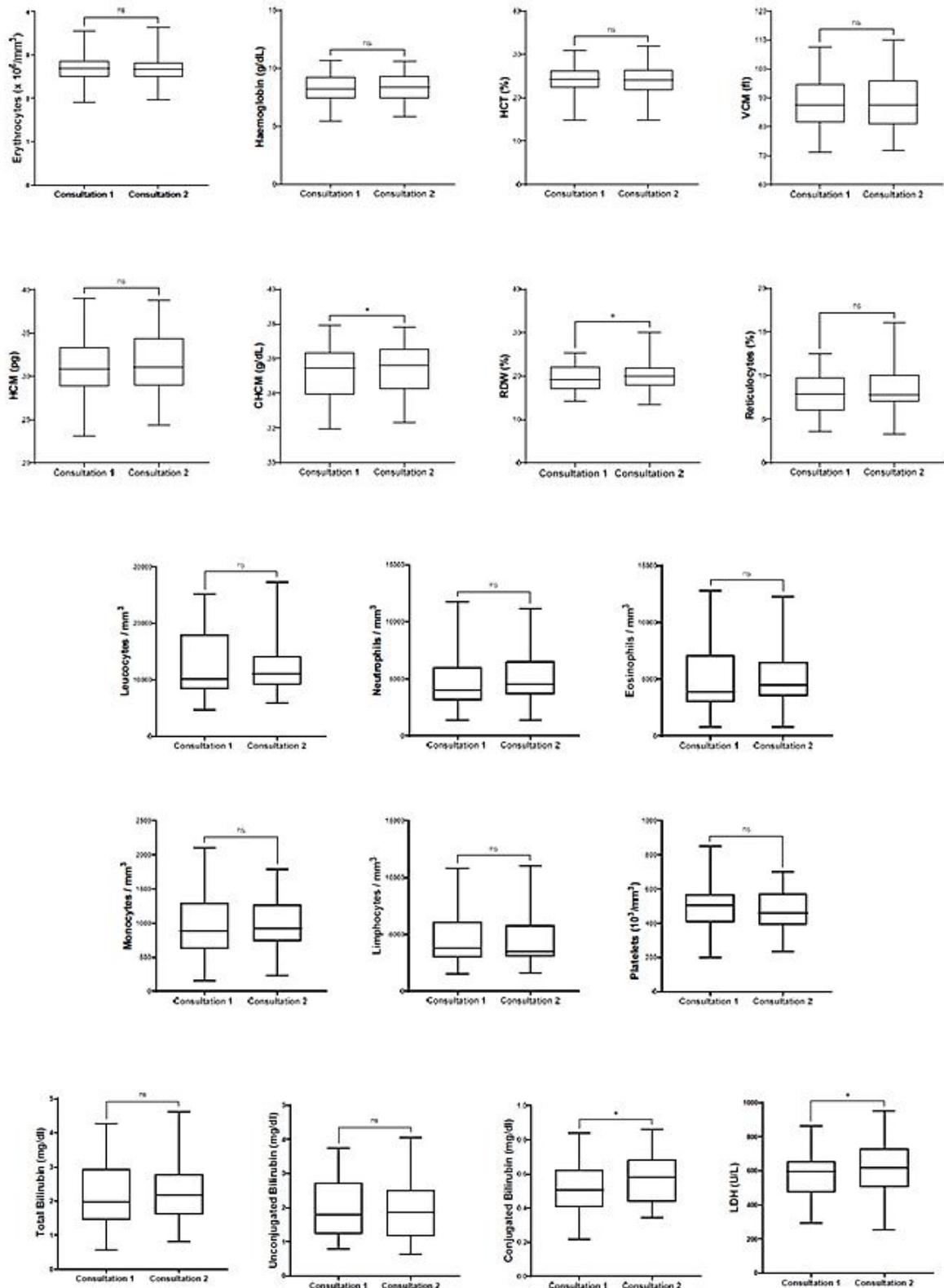
1
2
3
4
5
6
7
8
9

Figure 02. Comparison of the indices related to blood count, bilirubin, and lactate dehydrogenase (LDH) levels at the follow-up consultation before the vaso-occlusion event in children with sickle cell anemia who were or were not using hydroxyurea. MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume; RDW: red blood cell distribution amplitude. Student's t-test (parametric data) and Mann-Whitney test (non-parametric data) were used; ns: not significant. Differences were considered significant when $p < 0.05$.



1
2
3
4
5
6
7
8
9

Figure 03. Comparison of the indices related to blood count, bilirubin, and lactate dehydrogenase (LDH) levels at the vaso-occlusion event in children with sickle cell anemia who were or were not using hydroxyurea. MCHC: mean corpuscular hemoglobin concentration; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume; RDW: red blood cell distribution amplitude. Student's t-test (parametric data) and Mann-Whitney test (non-parametric data) were used; ns: not significant. Differences were considered significant when $p < 0.05$.



1
2 Figure 04. Comparison of the indices related to blood count, bilirubin, and lactate
3 dehydrogenase (LDH) counts taken at the last two appointments preceding the vaso-
4 occlusion (VOC) event in children with sickle cell anemia who were or were not taking
5 hydroxyurea. Consultation 02: closest to the VOC. MCHC: mean corpuscular hemoglobin
6 concentration; MCH: mean corpuscular hemoglobin; MCV: mean corpuscular volume; RDW: red blood cell
7 distribution range. The paired t-test (parametric data) and Wilcoxon test (non-parametric data) were used; ns: not
8 significant. Differences were considered significant when $p < 0.05$.