

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**  
**CAMPUS GOVERNADOR VALADARES**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E BIOLOGIA**  
**MOLECULAR**

**Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz**

**Indicadores Nutricionais e Biomarcadores Bioquímicos e Moleculares em Indivíduos  
com Doença Falciforme**

Governador Valadares

2020

**Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz**

**Indicadores Nutricionais e Biomarcadores Bioquímicos e Moleculares em Indivíduos  
com Doença Falciforme**

Tese de doutorado apresentada ao programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus* Governador Valadares, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Bioquímica e Biologia Molecular.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cibele Velloso-Rodrigues

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Jacqueline Isaura Alvarez-Leite

Governador Valadares

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Cruz, Nilcemar Rodrigues Carvalho.

Indicadores nutricionais e biomarcadores bioquímicos e moleculares em indivíduos com doença falciforme / Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz. -- 2020.

146 f. : il.

Orientadora: Cibele Velloso-Rodrigues

Coorientadora: Jacqueline Isaura Alvarez-Leite

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Avançado de Governador Valadares, Instituto de Ciências da Vida - ICV. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Biologia Molecular, 2020.

1. Doença falciforme. 2. CETP. 3. Estado nutricional. 4. Dislipidemia. 5. Ângulo de fase. I. Velloso-Rodrigues, Cibele, orient. II. Alvarez-Leite, Jacqueline Isaura, coorient. III. Título.

Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz


**Indicadores Nutricionais e Biomarcadores Bioquímicos e Moleculares em Indivíduos  
com Doença Falciforme**

Tese de doutorado apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutora em Bioquímica e Biologia Molecular pelo Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Juiz de Fora - *campus* Governador Valadares.

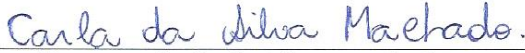
Aprovada em 14 de fevereiro de 2020.


BANCA EXAMINADORA

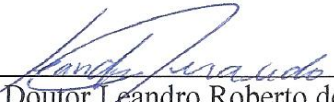
  
\_\_\_\_\_  
Doutora Cibele Velloso Rodrigues (Orientadora)  
Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus* Governador Valadares (UFJF-GV)

  
\_\_\_\_\_  
Doutora Jacqueline Isaura Alvarez Leite (Coorientadora)  
Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG

  
\_\_\_\_\_  
Doutor André Rolim Belisário  
Fundação Hemominas - Belo Horizonte - MG

  
\_\_\_\_\_  
Doutora Carla da Silva Machado  
Faculdade Pitágoras - Governador Valadares - MG

  
\_\_\_\_\_  
Doutora Raquel Tognon Ribeiro  
Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus* Governador Valadares (UFJF-GV)

  
\_\_\_\_\_  
Doutor Leandro Roberto de Macedo  
Universidade Federal de Juiz de Fora - *Campus* Governador Valadares (UFJF-GV)

## AGRADECIMENTOS

Minha gratidão àqueles que, de alguma forma, contribuíram nesta trajetória.

A Jesus, meu melhor Amigo - fonte verdadeira da luz e da ciência, que sempre me ouviu, conduziu, orientou, de forma especial quando caminhei por terrenos mais áridos. Minha inspiração para alcançar o amor incondicional.

Aos meus pais Eustáquio e Olga - exemplos de humildade, honestidade e amor. Ao meu esposo Maurício - meu amor, meu companheiro, meu amigo. Às minhas filhas Ana Luísa e Marina - tesouros de valor inestimável. Aos irmãos Nilton, Alexsandro e André pelo carinho e solidariedade. À estimada Sid, uma presença celestial na minha caminhada desde sempre. À toda minha linda família pelo apoio e compreensão das minhas ausências.

Aos amigos, pelos sorrisos que alcançam a alma e pelas presenças que preenchem as ausências.

Aos membros do Departamento de Nutrição pelo apoio - orgulho de fazer parte desta família.

Às crianças e adolescentes participantes do projeto e às famílias - minha gratidão e admiração pela luta e perseverança.

Aos servidores do Hemocentro de Governador Valadares pela acolhida e apoio técnico - meu reconhecimento pelo que fazem e como fazem. À Célia Maria da Silva e André Rolim Belisário do Hemocentro de Belo Horizonte pela parceria.

À orientadora Cibele Velloso Rodrigues pela dedicação e empenho no programa e pela oportunidade de desenvolvimento acadêmico-profissional.

À co-orientadora Jacqueline Isaura Alvarez-Leite pelas valiosas contribuições.

A todos os professores do programa - gratidão pelas excelentes oportunidades de aprendizagem. À Fernanda Oliveira Ferreira e Leandro Roberto de Macedo por toda orientação e apoio nas análises estatísticas.

Aos colegas do grupo de pesquisa Naorigen e do programa pelo apoio científico e motivação. À Thaisa Netto Souza Valente Frossard pela presença fundamental e fraterna.

Às bolsistas iniciantes na pesquisa científica, Patrícia Menezes, Bianca Bastos Lima, Laís Sousa Costa, Cleonice Aparecida de Souza, Brisa Machado Pereira, Raquel Teixeira Vigiani, Bruna Gomes Botelho e especialmente à Andreza da Silva Brito, Natalia Smider de Oliveira e Dayenne Paula Nascimento - pérolas essenciais no processo.

Aos membros da banca de qualificação, André Rolim Belisário, Daniela Corrêa Ferreira e Martha Elisa Ferreira de Almeida pelos direcionamentos e contribuições no projeto.

Ao Laboratório Laborval, pela parceria e assessoria técnica.

À UFJF, FINEP, FAPEMIG e CNPq pelo apoio, financiamento e/ou bolsas de estudo.

## RESUMO

Estudos ainda são controversos a respeito de diferenças entre os indivíduos com anemia falciforme (AF) e da doença SC (HbSC), principalmente em relação a associação do estado nutricional com marcadores de gravidade. O ângulo de fase (AngF), uma medida de integridade de membrana celular, correlacionou-se com o prognóstico em diferentes situações clínicas, entretanto ainda são limitadas suas informações na doença falciforme (DF). A dislipidemia na DF é variável e existem poucos estudos indicando sua relação com a gravidade e com variantes genéticas envolvidas na homeostase lipídica. O objetivo do estudo foi avaliar biomarcadores clínicos, nutricionais, laboratoriais e moleculares em indivíduos com DF (AF e HbSC), o potencial do AngF como preditor de gravidade da AF, a influência das variantes e haplótipos do gene *CETP*, bem como associações entre as variáveis e as diferenças entre os dois genótipos da DF. O estudo ocorreu com crianças e adolescentes com DF (AF e HbSC) acompanhados no Hemocentro de Governador Valadares da Fundação Hemominas. Coletaram-se os dados demográficos, socioeconômicos, clínicos, antropométricos, bioimpedância elétrica e laboratoriais (vitaminas A e D, marcadores do perfil lipídico e de gravidade) de 138 participantes, sendo 75 com AF (54,35%) e 63 com HbSC (45,65%) com idade média de 11,63 anos. Nas análises envolvendo o AngF, participaram 64 pacientes com AF e o mesmo número em um grupo sem doença falciforme (SDF) com idade média de 12,27 e 11,47 anos respectivamente. Foram genotipados a  $\alpha$ -talassemia ( $\alpha$ -tal) e polimorfismos no gene *CETP* (rs247616, rs183130 e rs3764261). Os valores do AngF foram determinados e comparados entre os grupos SDF e AF, sendo investigada a sua relação com marcadores de gravidade na AF. O grupo AF apresentou maior déficit nutricional, hipocolesterolemia e anemia mais acentuadas, como também maior gravidade indicada pelos marcadores hemolíticos e inflamatórios em comparação ao grupo HbSC. Na AF, índice de massa corporal (IMC), vitamina A, lipoproteína de alta densidade (HDL-C) e apolipoproteína A1 (apoA1) foram inversamente correlacionados com leucócitos totais (LT), lactato desidrogenase (LDH) e/ou bilirrubina total (BT). A hemoglobina (Hb) foi associada de forma positiva com a vitamina A e de forma negativa com os triglicerídios (TG). Na DF, indivíduos com  $\alpha$ -tal apresentaram menores valores de volume corpuscular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). O valor do AngF foi menor nos indivíduos AF e nesses houve associação com marcadores de gravidade da doença. Indivíduos com AF em uso de Hidroxiureia apresentaram maiores valores de HDL-C, entretanto, não houve associação entre essas variáveis. A ausência do haplótipo TTA dos SNPs (rs247616, rs183130 e rs3764261) do gene *CETP* aumentou em 3

vezes risco de ter baixos níveis de HDL-C nos pacientes com DF. Adicionalmente, os baixos níveis de Hb também conferiram risco para menores valores desta lipoproteína para estes pacientes e ao analisar somente o grupo AF. O estudo concluiu que o grupo AF apresentou maior gravidade em comparação ao grupo HbSC ao considerar perfil nutricional e gravidade da doença. O estado nutricional foi associado com os marcadores de gravidade, principalmente na AF. O AngF mostrou-se uma variável promissora na predição da gravidade da AF. Variantes do gene *CETP* somados aos fatores intrínsecos da própria anemia hemolítica poderiam explicar parte da variação observada na dislipidemia em pacientes com DF.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Doença SC. Vitamina A. 25-hidroxivitamina D. Dislipidemia. Ângulo de fase. *CETP*. Alfa-talassemia.

## ABSTRACT

Studies are still controversial regarding differences between individuals with sickle cell anemia (SCA) and SC disease (HbSC), mainly in relation to the association of nutritional status with severity markers. Phase angle (PhA), a measure of cell membrane integrity, correlates with prognosis in different clinical situations; however, there is still limited information about its correlation with prognostics in sickle cell disease (SCD). Dyslipidemia in SCD is variable and there are few studies indicating a relationship with the severity and genetic variants involved in lipid homeostasis. The aims of this study was to evaluate clinical, nutritional, laboratory and molecular biomarkers in individuals with SCD (SCA and HbSC), the potential of PhA as a predictor of SC severity, the influence of *CETP* gene variants and haplotypes, as well as associations between the variables and the differences between the two genotypes of SCD. The study has been conducted with children and adolescents with SCD (SCA and HbSC) followed in the blood center of Governador Valadares of the Hemominas Foundation. Demographic, socioeconomic, clinical, anthropometric, laboratory (vitamins A and D, lipid profile and severity markers) and electrical bioimpedance data were collected. Of the 138 participants, 75 had SCA (54.3%) and 63 HbSC (45.7%), with a mean age of 11.63 years. Sixty-four patients with SCA participated in the analyzes involving PhA and the same number in the group without sickle cell disease (WSCD), with an average age of 12.27 and 11.47 years, respectively. The  $\alpha$ -thalassemia ( $\alpha$ -thal) and the polymorphisms in the *CETP* gene (rs247616, rs183130 and rs3764261) were genotyped. PhA values were defined and compared between WSCD and SCA groups and the relationship of this measure with severity markers in SCA was investigated. Group SCA exhibited higher nutritional deficit, more severe hypocholesterolemia and anemia, as well as greater severity indicated by hemolytic and inflammatory markers compared to group HbSC. In SCA, body mass index, vitamin A, high-density lipoprotein (HDL-C) and apolipoprotein A1 (apoA1) showed an inverse correlation with total leukocytes, lactate dehydrogenase (LDH) and/or total bilirubin (TB). Hemoglobin (Hb) was positively associated with vitamin A and negatively associated with triglycerides (TG). In SCD, individuals with  $\alpha$ -thal exhibited lower values for the mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH). The PhA value was lower in the SCA individuals and showed association with markers of disease severity. Subjects with SCA using Hydroxyurea had higher levels of HDL-C, however, there was no association between these variables. The absence of the SNP TTA haplotype (rs247616, rs183130 and rs3764261) of the *CETP* gene tripled the risk of having low HDL-C levels in patients with SCD. In addition, the low levels of Hb also led to



risk of low values of this lipoprotein in these patients when analyzing only the SCA group. The study concluded that the SCA group had worse condition compared to the HbSC group when considering nutritional profile and disease severity. Nutritional status was associated with severity markers, especially in SCA. The PhA proved to be a promising variable in predicting the severity of SCA. Variants of the *CETP* gene together with the intrinsic factors of the hemolytic anemia itself could explain part of the variation observed in dyslipidemia in patients with SCD.

Keywords: Sickle cell anemia. SC disease. Vitamin A. 25-hydroxy vitamin D. Dyslipidemia. Phase angle. *CETP*. Alpha-thalassemia.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - ORGANIZAÇÃO CROMOSSOMAL DO AGRUPAMENTO DO GENE DA A E B GLOBINA..	21
FIGURA 2 - ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO GENE <i>HBB</i> E A FORMAÇÃO DE POLÍMEROS DE HEMOGLOBINA .....	22
FIGURA 3 - FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA FALCIFORME .....	23
FIGURA 4 - HEMÓLISE INTRAVASCULAR E BIOATIVIDADE DO ÓXIDO NÍTRICO.....	24
FIGURA 5 - MECANISMO CITOPROTETOR DA HEME OXIGENASE 1.....	27
FIGURA 6 - LINHA DO TEMPO DOS MARCOS NO RECONHECIMENTO DA DOENÇA FALCIFORME COMO UMA CRISE GLOBAL E TRATAMENTO DA DOENÇA .....	28
FIGURA 7 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA AÇÃO TERAPÊUTICA MULTIMODAL DA HIDROXIUREIA NA DOENÇA FALCIFORME .....	29
FIGURA 8 - MECANISMO DE CRESCIMENTO DEFICIENTE NA ANEMIA FALCIFORME .....	32
FIGURA 9 - SOBREPOSIÇÃO ENTRE LOCOS ASSOCIADOS A DIFERENTES TRAÇOS LIPÍDICOS.....	37
FIGURA 10 - FLUXOGRAMA DA POPULAÇÃO DO ESTUDO .....	54
FIGURA 11 - COMPARAÇÃO DO PERFIL NUTRICIONAL ANTROPOMÉTRICO ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	58
FIGURA 12 - COMPARAÇÃO DO ESTADO DE VITAMINA A ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	60
FIGURA 13 - COMPARAÇÃO DO ESTADO DE VITAMINA D ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	60
FIGURA 14 - COMPARAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DE ACORDO COM OS NÍVEIS DE APOA1 E HDL-C ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC.....	62
FIGURA 15 - COMPARAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DE ACORDO COM OS NÍVEIS DE TRIGLICERÍDIOS E DA RAZÃO TRIGLICERÍDIOS/HDL-C ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	63
FIGURA 16 - CORRELAÇÃO ENTRE ÂNGULO DE FASE E MARCADORES HEMATOLÓGICOS E LACTATO DESIDROGENASE EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME.....	72

FIGURA 17 - CURVA ROC DO ÂNGULO DE FASE E LACTATO DESIDROGENASE EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME .....	74
FIGURA 18 - CURVA ROC DO ÂNGULO DE FASE E HEMOGLOBINA NA ANEMIA FALCIFORME .....	74
FIGURA 19 - CURVA ROC DO ÂNGULO DE FASE E HEMOGLOBINA FETAL NA ANEMIA FALCIFORME .....	75
FIGURA 20 - ALTO DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO E $R^2$ DOS HAPLÓTIPOS DOS SNPs DO GENE <i>CETP</i> .....	77

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - VARIÁVEIS INVESTIGADAS NO ESTUDO COM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME E SEM A DOENÇA.....	41
TABELA 2 - INFORMAÇÕES SOBRE EXAMES LABORATORIAIS INVESTIGADOS NA PESQUISA .....	46
TABELA 3 - DADOS DOS OLIGONUCLEOTÍDEOS UTILIZADOS NA REAÇÃO DE GENOTIPAGENS DA ALFA-TALASSEMIA .....	48
TABELA 4 - DESEQUILÍBRIO DE LIGAÇÃO DOS SNPs INVESTIGADOS NO GENE <i>CETP</i> .....	49
TABELA 5 - INFORMAÇÕES SOBRE OS ENSAIOS TAQMAN DE POLIMORFISMOS DO GENE <i>CETP</i>	49
TABELA 6 - COMPARAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E USO DE HIDROXIUREIA ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	55
TABELA 7 - COMPARAÇÃO DOS MARCADORES DO ESTADO ANTROPOMÉTRICO ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC ENVOLVENDO TODOS OS INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME E SOMENTE OS QUE NÃO USAVAM HIDROXIUREIA.....	57
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DOS NÍVEIS DE VITAMINAS A E D ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC ENVOLVENDO TODOS OS INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME E OS QUE NÃO USAVAM HIDROXIUREIA.....	59
TABELA 9 - COMPARAÇÃO DE MÉDIAS OU MEDIANAS DE MARCADORES BIOQUÍMICOS DO PERFIL LIPÍDICO ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC ENVOLVENDO TODOS OS INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME E OS QUE NÃO USAVAM HIDROXIUREIA .....	61
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	64
TABELA 11 - COMPARAÇÃO DE VARIÁVEIS CLÍNICAS E LABORATORIAIS ENTRE OS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC SEM USO DE HIDROXIUREIA .....	65
TABELA 12 - NÍVEIS DE MARCADORES DO PERFIL LIPÍDICO DOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME DE ACORDO COM OS VALORES DICOTOMIZADOS DE 25OHD.....	66
TABELA 13 - ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTADO NUTRICIONAL E MARCADORES DE GRAVIDADE NA ANEMIA FALCIFORME EM ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA .....	68

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DOS GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E SEM DOENÇA FALCIFORME DE ACORDO COM PARÂMETROS ANTROPOMÉTRICOS E DA BIOIMPEDÂNCIA ELÉTRICA	70
TABELA 15 - VALORES MÉDIOS OU MEDIANOS DO ÂNGULO DE FASE DE ACORDO COM AS VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E ANTROPOMÉTRICAS NOS INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME E SEM DOENÇA FALCIFORME	71
TABELA 16 - ASSOCIAÇÃO ENTRE ESTADO ÂNGULO DE FASE E MARCADORES DE GRAVIDADE NA ANEMIA FALCIFORME EM ANÁLISE DE REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA	73
TABELA 17 - COMPARAÇÃO ENTRE AS FREQUÊNCIAS ALÉLICAS DA POPULAÇÃO DE ESTUDO COM DOENÇA FALCIFORME E FREQUÊNCIAS MUNDIAIS DOS ALELOS DE MENOR FREQUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS ANALISADOS DO GENE <i>CETP</i>	76
TABELA 18 - DISTRIBUIÇÃO GENOTÍPICA E DOS HAPLÓTIPOS DE POLIMORFISMOS DO GENE <i>CETP</i> DOS PARTICIPANTES COM DOENÇA FALCIFORME	76
TABELA 19 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE DOMINÂNCIA DO ALELO DE MENOR FREQUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS3764261 DO GENE <i>CETP</i> EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME	77
TABELA 20 - AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DE DOMINÂNCIA DO ALELO DE MENOR FREQUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS RS183130 E RS247616 DO GENE <i>CETP</i> EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME	78
TABELA 21 - ASSOCIAÇÃO ALÉLICA DOS POLIMORFISMOS NO GENE <i>CETP</i> EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE HDL-C EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME	79
TABELA 22 - HAPLÓTIPOS DAS VARIANTES DO GENE <i>CETP</i> E ASSOCIAÇÕES COM PARÂMETROS LIPÍDICOS EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME	79
TABELA 23 - ASSOCIAÇÃO DE SUBGRUPOS CASO E CONTROLE EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE HDL-C COM HEMOGLOBINA E POLIMORFISMOS NO GENE <i>CETP</i> EM MODELO DE DOMINÂNCIA NA DOENÇA FALCIFORME	81
TABELA 24 - ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DE SUBGRUPOS CASO E CONTROLE EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE HDL-C COM HEMOGLOBINA E GENÓTIPOS DO GENE <i>CETP</i> EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME	82

TABELA 25 - ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DE SUBGRUPOS CASO E CONTROLE EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE HDL-C COM HEMOGLOBINA E GENÓTIPOS DO GENE <i>CETP</i> EM INDIVÍDUOS COM ANEMIA FALCIFORME .....	82
TABELA 26 - ANÁLISE ASSOCIAÇÃO DE SUBGRUPOS CASO E CONTROLE EM RELAÇÃO AOS NÍVEIS DE HDL-C E GENÓTIPOS DO GENE <i>CETP</i> EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA SC .....	83

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Anemia Falciforme
AIP	Índice aterogênico do plasma
AMB	Área muscular do braço
AngF	Ângulo de fase
ApoB	Apolipoproteína B
ApoA1	Apolipoproteína A1
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CB	Circunferência braquial
CETP	<i>Cholesteryl ester transfer protein</i>
CT	Colesterol total
DF	Doença falciforme
Dp	Desvio padrão
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EZ-AI	Escore z altura por idade
EZ-IMCI	Escore z do índice de massa corporal por idade
GC	Gordura corporal
gDNA	Ácido desoxirribonucleico genômico
GWAS	<i>Genome wide association study</i>
Hb	Hemoglobina
HbF	Hemoglobina fetal
HbS	Hemoglobina S
HbSC	Doença da hemoglobina SC ou doença SC
HbSS	Homozigose para hemoglobina S - Anemia falciforme
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HDL-C	<i>High Density Lipoprotein</i>
IMC	Índice de massa corporal
LDH	Lactato desidrogenase
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade
LPL	Lipase lipoproteica
LT	Leucócitos totais
mg/dL	Miligramas/decilitro
mM	Milimolar
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
Não-HDL-C	Lipoproteína não lipoproteína de alta densidade
ng/mL	Nanograma/mililitro
NO	Óxido nítrico
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pg	Picograma
PTH	Paratormônio
qPCR	Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i>

SDF	Sem doença falciforme
TG	Triglicerídios
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
UFJF-GV	Universidade Federal de Juiz de Fora, <i>Campus</i> Governador Valadares
Val	Valina
VACM	Velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias
VCM	Volume corpuscular médio
VdACI	Velocidade média máxima nas artérias carótidas internas
$\alpha$ -tal ou $\alpha$ -talassemia	Alfa talassemia
$\Sigma$ DC	Somatório das dobras cutâneas
$\mu\text{g/dL}$	Micrograma/decilitro
$\mu\text{L}$	Microlitros
$\mu\text{M}$	Micrômetro
25OHD	25-hidroxivitamina D



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
2.1	ASPECTOS MOLECULARES DA DOENÇA FALCIFORME .....	20
2.2	MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DAS COMPLICAÇÕES DA DOENÇA FALCIFORME .....	21
2.3	ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA FALCIFORME .....	25
2.4	PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO NA DOENÇA FALCIFORME.....	25
2.5	TERAPIAS PARA A DOENÇA FALCIFORME.....	27
2.6	MODULADORES DA DOENÇA FALCIFORME.....	30
2.7	PERFIL ANTROPOMÉTRICO NA DOENÇA FALCIFORME .....	31
2.8	DEFICIÊNCIA DE MICRONUTRIENTES NA DOENÇA FALCIFORME.....	33
2.9	APLICABILIDADE DO ÂNGULO DE FASE .....	34
2.10	DISLIPIDEMIA NA DOENÇA FALCIFORME E MARCADORES GENÉTICOS ...	35
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>39</b>
3.1	OBJETIVO GERAL .....	39
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	39
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>40</b>
4.1	POPULAÇÃO ESTUDADA .....	40
4.2	CRITÉRIO DE EXCLUSÃO .....	40
4.3	ASPECTOS ÉTICOS .....	41
4.4	AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA.....	42
4.5	AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	42
4.6	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA .....	42
4.7	ANÁLISE POR IMPEDÂNCIA BIOELÉTRICA (BIA).....	44
4.8	AVALIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO .....	44
4.9	ANÁLISES BIOQUÍMICAS .....	45
4.10	ANÁLISES MOLECULARES.....	46
<b>4.10.1</b>	<b>Genotipagem de <math>\alpha</math>-talassemia .....</b>	<b>47</b>
<b>4.10.2</b>	<b>Genotipagens dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) do gene <i>CETP</i>.....</b>	<b>49</b>
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	50

4.12	FINANCIAMENTO .....	53
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>54</b>
5.1	POPULAÇÃO ESTUDADA E CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS....	55
5.2	PERFIL NUTRICIONAL, CLÍNICO, HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO NA DOENÇA FALCIFORME E DIFERENÇAS ENTRE ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	56
5.3	RELAÇÃO ENTRE PERFIL NUTRICIONAL, MARCADORES LIPÍDICOS E PARATORMÔNIO EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME .....	65
5.4	INVESTIGAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E PARATORMÔNIO COM MARCADORES DE GRAVIDADE NA DOENÇA FALCIFORME .....	67
5.5	INFLUÊNCIA DO PERFIL SOCIOECONÔMICO, DO SEXO, DA CO-HERANÇA DE A-TALASSEMIA E DO USO DE HIDROXIUREIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME.....	68
5.6	ÂNGULO DE FASE: COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC E ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES DE GRAVIDADE NA ANEMIA FALCIFORME .....	69
5.7	POLIMORFISMOS NO GENE CETP .....	75
5.8	POLIMORFISMO NO GENE CETP E INFLUÊNCIA NO PERFIL LIPÍDICO DE INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME .....	77
5.9	VARIÁVEIS EXPLICATIVAS DOS NÍVEIS DE HDL-C EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME.....	80
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>84</b>
6.1	DIFERENÇAS ENTRE ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC .....	84
6.2	ASSOCIAÇÃO DO PERFIL ANTROPOMÉTRICO E ESTADO DE VITAMINAS A E D COM OS MARCADORES DE GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME ...	86
6.3	ÂNGULO DE FASE NA DOENÇA FALCIFORME: ESTUDOS PRELIMINARES DE ASSOCIAÇÃO COM A GRAVIDADE DA DOENÇA.....	88
6.4	INFLUÊNCIA DO PERFIL SOCIOECONÔMICO, DO SEXO NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME.....	89
6.5	CO-HERANÇA DE A-TALASSEMIA: INFLUÊNCIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME.....	90

6.6	INFLUÊNCIA DA HIDROXIUREIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME .....	91
6.7	HOMEOSTASE LIPÍDICA NA DOENÇA FALCIFORME: ENVOLVIMENTO DA GRAVIDADE DA DOENÇA E DE POLIMORFISMOS NO GENE CETP .....	92
6.8	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	96
7	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>97</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>99</b>
	<b>APENDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Hemominas ....</b>	<b>117</b>
	<b>APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Escolar.....</b>	<b>121</b>
	<b>APENDICE C - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - Hemominas.....</b>	<b>124</b>
	<b>APÊNDICE D - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - Escolar.....</b>	<b>128</b>
	<b>APENDICE E - Questionário para coleta de dados clínicos.....</b>	<b>132</b>
	<b>APÊNDICE F - Tabela suplementar 1.....</b>	<b>133</b>
	<b>APÊNDICE G - Tabela suplementar 2.....</b>	<b>135</b>
	<b>APÊNDICE H - Tabela suplementar 3.....</b>	<b>136</b>
	<b>APÊNDICE I - Tabela suplementar 4 .....</b>	<b>137</b>
	<b>APÊNDICE J - Tabela suplementar 5.....</b>	<b>138</b>
	<b>APÊNDICE L - Tabela suplementar 6 .....</b>	<b>140</b>
	<b>APÊNDICE M - Tabela suplementar 7 .....</b>	<b>141</b>
	<b>ANEXO A - Parecer Consubstanciado do CEP da Ufjf .....</b>	<b>142</b>
	<b>ANEXO B - Parecer Consubstanciado do Cep da Fundação Hemominas .....</b>	<b>143</b>
	<b>ANEXO C - Formulário de Classificação Econômica Brasil.....</b>	<b>145</b>

## 1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A DF é originária de regiões endêmicas da malária. A migração através do tráfico de escravos, por razões econômicas e relacionadas ao trabalho, contribuiu para difundir a doença, que se tornou um problema de saúde pública (CHAKRAVORTY, 2015). Mundialmente, mais de 270.000 crianças nascem anualmente com DF (MODELL; DARLISON, 2008). No Brasil sua incidência varia entre os estados e enquanto a Bahia ocupa o primeiro lugar (1:650 nascidos vivos), Minas Gerais está na terceira posição (1:1400 nascidos vivos) (BRASIL, 2014).

Apesar do diagnóstico precoce pelo Programa de Triagem Neonatal e do uso de medidas preventivas e terapêuticas (penicilina, imunização e Hidroxiureia), a mortalidade mundial por DF ainda é preocupante. As infecções são as causas mais comuns de morte em pacientes com DF. Há uma diversidade de manifestações clínicas que reduzem sua qualidade de vida (ARDUINI; RODRIGUES; MARQUI, 2017), com uma heterogeneidade clínica entre os indivíduos com o mesmo genótipo da doença (CHATURVEDI *et al.*, 2017; GEARD *et al.*, 2016; STEINBERG, 2009).

As manifestações estão relacionadas aos subfenótipos viscosidade-vaso-oclusão e disfunção hemólise-endotelial (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007). No primeiro subfenótipo os maiores níveis de Hb aumentam a frequência das crises de dor vaso-oclusiva, síndrome torácica aguda e osteonecrose; enquanto no segundo tipo a elevação de lactato desidrogenase (LDH), reticulócitos, Hb e arginase livres predispõem ao maior risco de acidente vascular cerebral, hipertensão pulmonar, priapismo e úlceras nos membros inferiores (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007; PIEL; STEINBERG; REES, 2017).

Observam-se também na DF, especialmente na AF, hipocolesterolemia e hipertrigliceridemia que se relacionam com a gravidade da anemia, caracterizando um terceiro subfenótipo, o dislipidêmico (AKINLADE *et al.*, 2014; ALELUIA *et al.*, 2017b; TEIXEIRA, *et al.*, 2017). Por outro lado, estudos com populações sem doença falciforme (SDF) têm demonstrado que fatores genéticos oferecem uma importante contribuição na determinação do perfil lipídico dos indivíduos (GUO *et al.*, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2013). Os efeitos observados de polimorfismos do gene *CETP* no metabolismo lipídico o tornam um gene candidato para investigação de dislipidemias em populações pediátricas (AGIRBASLI *et al.*, 2013) e que apresentam alterações no perfil lipídico como em indivíduos com DF, entretanto, nenhum estudo envolvendo indivíduos com DF e o gene *CETP* foi encontrado.

O deficit nutricional é comum em crianças e em adolescentes com DF, prejudicando sua condição clínica e desenvolvimento (MATARATZIS; ACCIOLY; PADILHA, 2010). As causas dos deficits observados e sua influência na gravidade da DF ainda são pouco exploradas (CATANZARO; KOUMBOURLIS, 2014). Uma abordagem nutricional poderia melhorar o resultado clínico e a qualidade de vida dos afetados (HYACINTH; ADEKEYE; YILGWAN, 2013; MEEUWES *et al.*, 2013) e a validação de ferramentas de avaliação nutricional contribuiria para identificar precocemente os riscos envolvidos e seu prognóstico. O Ângulo de Fase (AngF) é uma medida de integridade da membrana celular (ASKLÖF *et al.*, 2018) e tem sido utilizada na avaliação do estado nutricional (ZHANG *et al.*, 2014) e do prognóstico em diferentes situações clínicas (BANSAL *et al.*, 2018; COLÍN-RAMÍREZ *et al.*, 2012; SHIN *et al.*, 2017). Os estudos envolvendo a população com DF são escassos e os existentes se restringem a comparações de valores do AngF entre grupos controle e com a doença (VANDERJAGT *et al.*, 2008; VANDERJAGT *et al.*, 2003), não sendo investigada a associação desta medida com os marcadores de gravidade.

Desta forma, o presente estudo objetivou (i) avaliar biomarcadores clínicos, nutricionais, laboratoriais e moleculares em indivíduos com DF (AF e HbSC), (ii) o potencial do AngF como preditor de gravidade da AF (iii), bem como a associação entre as variáveis (iiii) e as diferenças entre os dois genótipos da DF.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A Doença Falciforme (DF) se refere a um conjunto de hemoglobinopatias hereditárias com hemoglobinas anormais, sendo pelo menos uma delas a hemoglobina (Hb) denominada HbS, a qual decorre do alelo patogênico  $\beta^S$  no gene *HBB*. Quando há homozigose desse alelo  $\beta^S$ , a doença é conhecida como anemia falciforme (AF, genótipo HbSS, MIM#603903). Entretanto, este alelo pode ocorrer em heterozigose com outro patogênico, como é o caso da doença da hemoglobina SC ou doença SC (HbSC, genótipo HbSC). A AF e HbSC são os tipos mais comuns de DF, cuja forma mais grave é a AF (REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010).

### 2.1 ASPECTOS MOLECULARES DA DOENÇA FALCIFORME

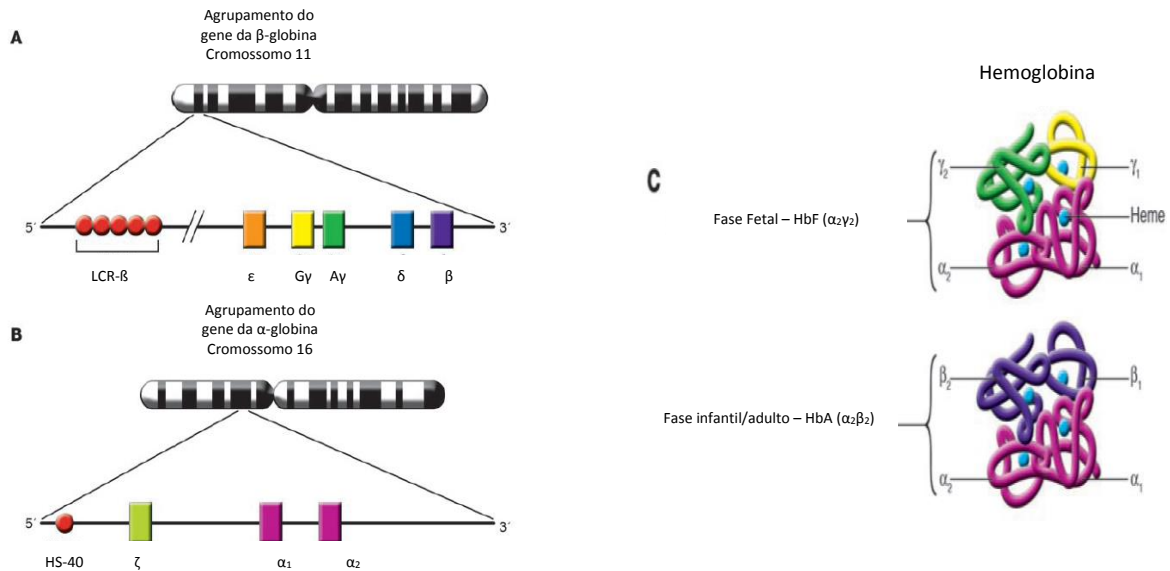
As moléculas de hemoglobinas humana são constituídas por quatro cadeias peptídicas, associadas a um grupo heme. Essas cadeias são alteradas de acordo com a fase intra e extrauterina, e recebem a denominação  $\alpha$  (alfa),  $\beta$  (beta),  $\gamma$  (gama),  $\delta$  (delta),  $\epsilon$  (épsilon) e  $\zeta$  (zeta). Na fase embrionária existem pelo menos três tipos de hemoglobinas: a *Portland* ( $\zeta_2\gamma_2$ ), a *Gower 1* ( $\zeta_2\epsilon_2$ ) e a *Gower 2* ( $\alpha_2\epsilon_2$ ). As cadeias zeta e épsilon são substituídas pelas cadeias alfa e não-alfa no período pós-embrionário. A partir da oitava semana gestacional até o termo, a Hb fetal (HbF,  $\alpha_2\gamma_2$ ) é a principal, e aproximadamente 7% é de HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ). No primeiro ano de vida, a HbF é substituída gradativamente pela HbA e HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) (Figura 1) (WHO WORKING GROUP, 1982), e a partir do sexto mês após o nascimento permanece entre 0 e 1% em pessoas saudáveis (BRASIL, 2016).

No cromossomo 11p15.4, há um agrupamento  $\beta$ -globina com os demais genes codificadores da globina na seguinte ordem *HEB-HBG1-HBG2-HBD-HBB* (*HBB*, ID: 3043; NC\_000011.10 (5225464..5227071) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3043>), enquanto no cromossomo 16p13.3 encontram-se dois genes  $\alpha$  denominados HBA1 (ID: 3039; NC\_000016.10 (176651..177522)) e HBA2 (ID: 3040; NC\_000016.10 (172847..173710)), e um gene HBZ (ID: 3050; NC\_000016.10 (142422..154511)) (Figura 1) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/106144573>; WEATHERALL e CLEGG, 2001).

A HbS é o resultado de uma mutação patogênica do tipo transversão no gene *HBB* (MIM#141900, loco 11p15.4). Há alteração de um único nucleotídeo (*HBB*:c.20A>T; rs334) no sexto códon do éxon do gene, que resulta na troca do aminoácido ácido glutâmico pela valina na sexta posição (p.glu6val). Esta modificação produz uma região hidrofóbica na HbS desoxigenada que resulta na ligação entre as cadeias  $\beta_1$  e  $\beta_2$  de duas moléculas de Hb (REES;

WILLIAMS; GLADWIN, 2010; STEINBERG, 2008; STUART; NAGEL; JEFFERSON, 2004).

Figura 1 - Organização cromossomal do agrupamento do gene da  $\alpha$  e  $\beta$  globina



Fonte: adaptado de Frenette & Atweh (2007).

Nota: (A) Os genes do agrupamento do gene da  $\beta$ -globina ( $\epsilon$ ,  $G\gamma$ ,  $A\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\beta$ ) estão no cromossomo 11. A região de controle do loco- $\beta$  (LCR- $\beta$ ) é o principal elemento regulador para a alta expressão destes genes. (B) Os genes do agrupamento  $\alpha$ -globina ( $\zeta$ ,  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ) estão no cromossomo 16. HS40 é o principal elemento regulador para a alta expressão destes genes. (C) Durante a vida fetal a HbF predomina, sendo a  $\gamma$ -globina substituída pela  $\beta$ -globina na fase adulta, quando predomina a HbA.

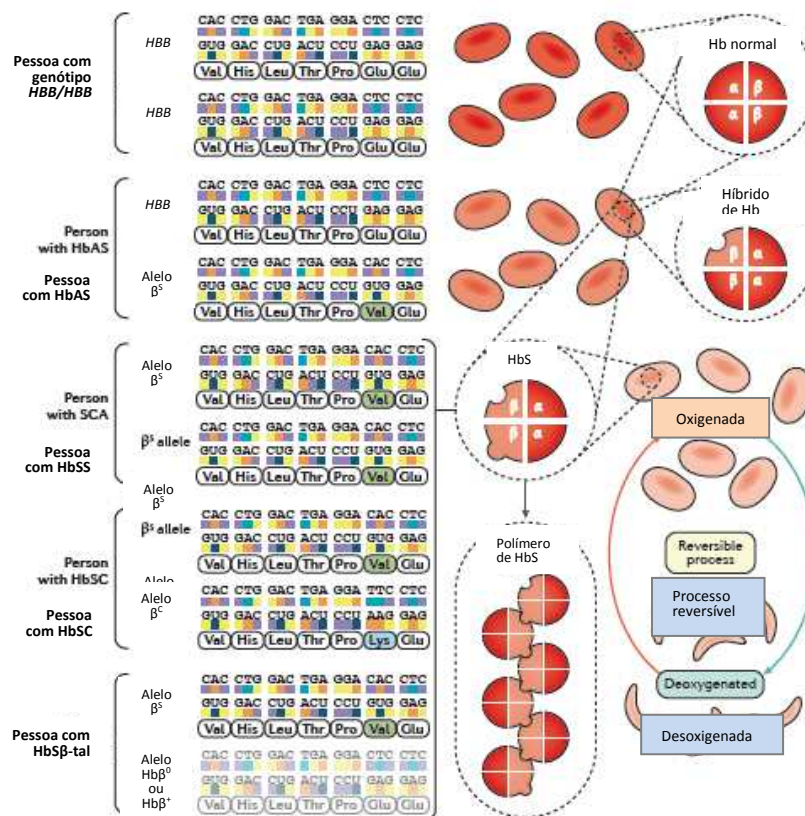
A doença SC (HbSC) é resultado da presença do alelo S em heterozigose com a variante mutante C (rs33930165), a qual resulta de uma mutação de transição no códon 6 do gene *HBB*, que troca o aminoácido ácido glutâmico pela lisina (c.19G>A; p.Glu6Lis) (AGARWAL *et al.*, 2000).

## 2.2 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DAS COMPLICAÇÕES DA DOENÇA FALCIFORME

A HbS apresenta a capacidade de se polimerizar rapidamente quando desoxigenada, levando à formação de células falciformes (Figura 2) (ALASTAIR, 1999; REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010). Esse processo ocorre devido a desoxigenação favorecer a ligação hidrofóbica entre o aminoácido valina de um tetrâmero com a fenilalanina e a leucina do tetrâmero adjacente (BALLAS; MOHANDAS, 1996), culminando em alteração

conformacional da HbS (FRENETTE; ATWEH, 2007). Já a hemoglobina C (HbC) apresenta a capacidade de cristalizar quando oxigenada e essa tendência é aumentada em indivíduos com HbSC, o que leva a desidratação da hemácia, facilita a polimerização da HbS e contribui para menor deformabilidade das hemácias (GARNIER *et al.*, 2017; NAGEL; FABRY; STEINBERG, 2003).

Figura 2 - Alterações genéticas no gene *HBB* e a formação de polímeros de hemoglobina



Fonte: adaptado de Kato *et al.*, (2018).

Nota: Hb, hemoglobina; HbS, hemoglobina S; HbAS, traço falciforme; HbSS, anemia falciforme; HbSC, doença SC; HbS $\beta$ -tal, co-herança de hemoglobina S e beta talassemia.

Cada polímero apresenta uma estrutura helicoidal com 14 moléculas de HbS (desoxihemoglobina), as quais se alinham em fibras de forma paralela. A velocidade de formação de polímeros é dependente da concentração da HbS, da pressão de oxigênio, da temperatura, do pH, da concentração de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), e da presença de diferentes moléculas de Hb (KATO *et al.*, 2018).

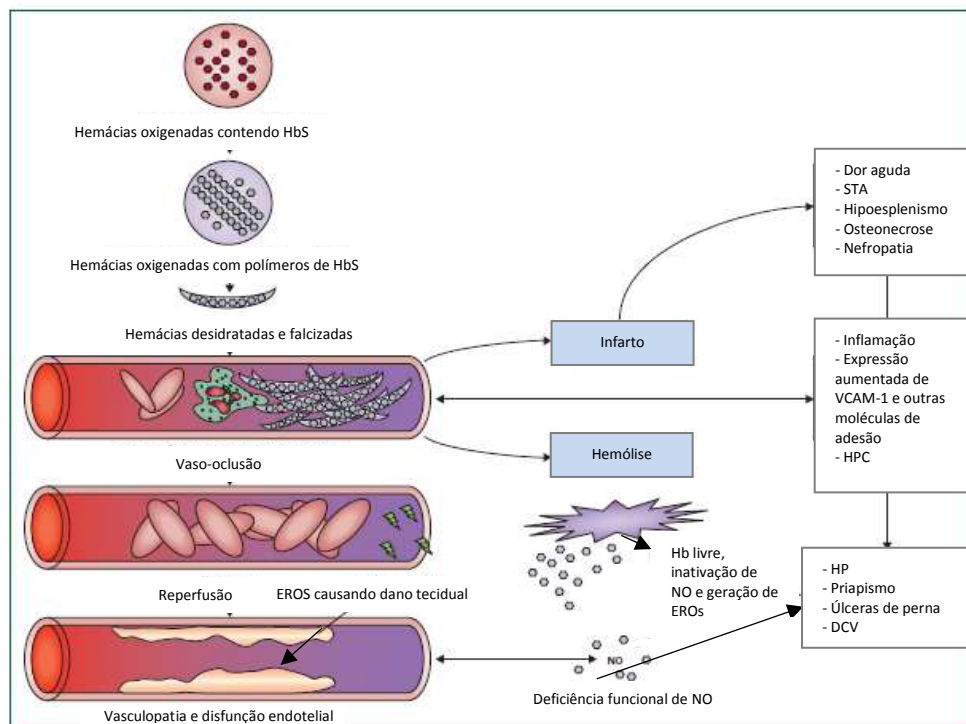
A polimerização leva a alteração do citoesqueleto e a formação de protuberâncias que geram a hemácia falciforme (FRENETTE; ATWEH, 2007). Ao causar disfunção da membrana das hemácias estimula o processo hemolítico. O estresse oxidativo nestas hemácias aumentam



a auto-oxidação da HbS e acentuam a disfunção da membrana celular e o envelhecimento prematuro das hemácias (KATO *et al.*, 2009).

A interrupção da ligação da membrana plasmática ao citoesqueleto de proteínas expõe epítomos de proteínas transmembrana e promove trocas lipídicas, principalmente de fosfatidilserina, entre o interior e o exterior da célula, e contribui para o estado pró-inflamatório e pró-trombótico (FRENETTE; ATWEH, 2007). A hemácia falcizada induz a expressão de mediadores inflamatórios e de coagulação que ativam o endotélio vascular. Tais estímulos nas células endoteliais recrutam leucócitos que aderem nas vênulas por expressão de quimiocinas e moléculas de adesão celular tais como as selectinas (P e E). Os neutrófilos ativados na parede endotelial fagocitam as hemácias falcizadas e normais, e promovem a vaso-oclusão (Figura 3) (FRENETTE; ATWEH, 2007; REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010).

Figura 3 - Fisiopatologia da doença falciforme



Fonte: adaptado de Rees; Williams; Gladwin, 2010.

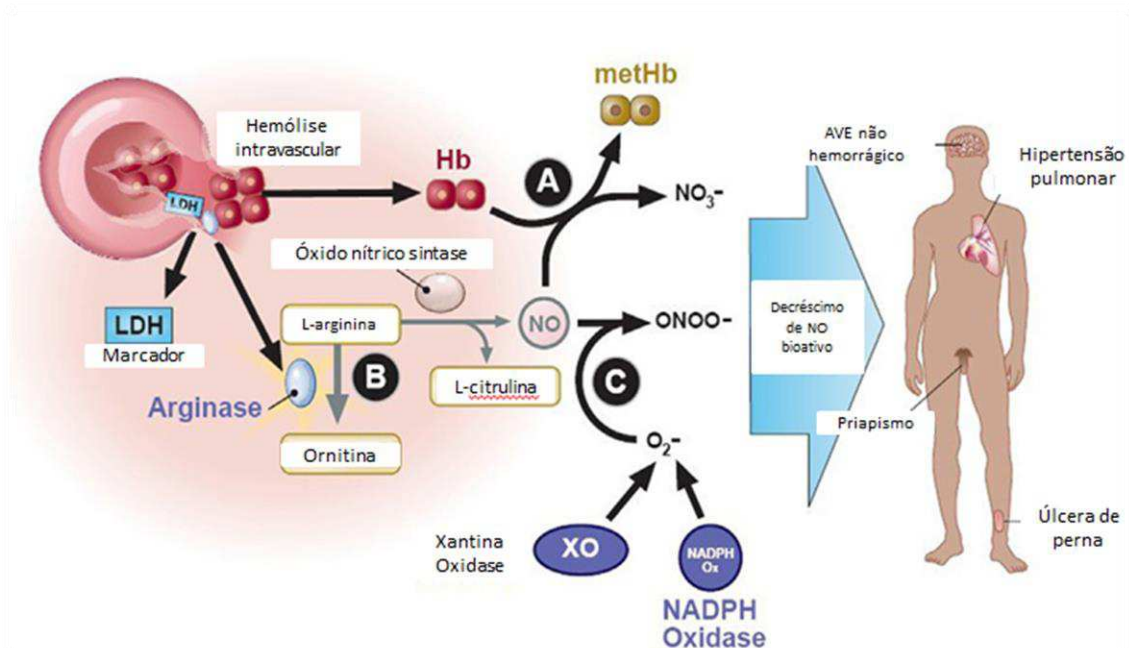
Nota: Hb, hemoglobina; HbS, hemoglobina S; NO, óxido nítrico; STA, síndrome torácica aguda; VCAM, molécula de adesão vascular; HPC, hipercoagulabilidade; HP, hipertensão pulmonar; DCV, doença cérebro vascular, EROs, espécies reativas de oxigênio.

A hemólise intravascular libera Hb, arginase e LDH das hemácias (ALAYASH, 2018; SAKIPOV *et al.*, 2017; KATO 2007). A Hb livre se liga fortemente ao óxido nítrico (NO) e causa sua deficiência (REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010; ROTHER *et al.*, 2005). A

arginase livre converte L-arginina plasmática em ornitina, indisponibilizando-a para a produção de NO via óxido nítrico sintase. Além desses processos, as espécies reativas de oxigênio (EROs) produzidas pelos altos níveis de atividade da xantina oxidase e atividade da NADPH oxidase observadas na DF, também contribuem para reduzir os níveis de NO.

A bioatividade de NO reduzida está associada a hipertensão pulmonar, priapismo, ulceração de perna e, possivelmente, acidente vascular cerebral não hemorrágico (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007) (Figura 4).

Figura 4 - Hemólise intravascular e bioatividade do óxido nítrico



Fonte: adaptado de Kato; Gladwin; Steinberg (2007).

Nota: (A) Hemoglobina (Hb) plasmática livre gera meta-hemoglobina (metHb) e nitrito inerte (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>). (B) Arginase plasmática consome L-arginina plasmática, converte-a para ornitina tornando-a indisponível para produção de óxido nítrico (NO). (C) NO consumido por reações envolvendo espécies reativas de oxigênio (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) produzindo radicais de oxigênio como peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>). Na doença falciforme aumenta a atividade da xantina oxidase (XO) e da NADPH oxidase que resulta na maior quantidade de (O<sub>2</sub><sup>-</sup>). AVE, acidente vascular encefálico.

A polimerização de HbS altera a forma e as propriedades físicas das hemácias e a hemólise crônica e a baixa disponibilidade de NO contribuem para o estado pró-coagulante, crises vaso-oclusivas e episódios recorrentes de isquemia-reperfusão com manifestações multissistêmicas (CONRAN; FRANCO-PENTEADO; COSTA, 2009; KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007; SPARKENBAUGH; PAWLINSKI, 2013).

### 2.3 ASPECTOS CLÍNICOS DA DOENÇA FALCIFORME

A DF possui um espectro clínico variável e uma classificação baseada em dois subfenótipos clínicos para indivíduos adultos: o de viscosidade-vaso-oclusão e de disfunção hemólise-endotelial (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007). No subfenótipo viscosidade-vaso-oclusão, há níveis relativamente altos de Hb e frequentes crises de dor vaso-oclusiva, síndrome torácica aguda e osteonecrose. Na disfunção hemólise-endotelial há alta contagem de reticulócitos e elevação dos níveis de LDH, Hb e arginase plasmáticas com o risco aumentado para o acidente vascular cerebral, hipertensão pulmonar, priapismo e úlceras de pernas (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007; PIEL; STEINBERG; REES, 2017).

A oclusão vascular decorre do aumento da adesão das hemácias falciformes ao endotélio, ativação endotelial, interações entre hemácias falciformes e neutrófilos, formação de agregados de células composto de hemácias falciformes, leucócitos aderentes e possivelmente plaquetas. Tal processo predispõe ainda mais as hemácias falciformes à polimerização da Hb induzida pela desoxigenação, levando a um ciclo de realimentação (AMLIE-LEFOND *et al.*, 2018).

Enquanto a dor aguda é causada por vaso-oclusão recorrente, a dor crônica está relacionada com a sensibilização do sistema nervoso. Os episódios de dor aguda surgem de forma abrupta e imprevisível, e acometem as costas, tórax, extremidades e o abdômen, e podem contribuir para o aparecimento da síndrome da dor crônica. Considera-se uma dor crônica quando há relatos de sua continuidade na maioria dos dias, nos últimos seis meses em um ou vários locais do corpo. Alguns fatores são desencadeadores como as infecções agudas, desidratação, asma, temperaturas frias e o início da menstruação. Entretanto, as crises vaso-oclusivas podem aparecer sem causa aparente (BRANDOW; DEBAUN, 2018).

De forma geral, os eventos clínicos da DF incluem também: icterícia, osteomielite (AL-GHAZALY *et al.*, 2013), pneumonia, esplenomegalia e colelitíase (ALELUIA *et al.*, 2017a), cálculos biliares, sequestro esplênico (ADEKILE *et al.*, 2019) e síndrome torácica aguda (BISPO *et al.*, 2017).

### 2.4 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO NA DOENÇA FALCIFORME

Na doença falciforme desenvolve-se um quadro clínico de anemia de grau moderado a grave (AWODA *et al.*, 2017; JADHAV *et al.*, 2016; KEIKHAEI *et al.*, 2013; TEIXEIRA *et al.*, 2017), associado a elevação de HbF (JADHAV *et al.*, 2016), reticulócitos (ASLAN *et al.*,

2015), leucócitos (ASBEUTAH *et al.*, 2014; ASLAN *et al.*, 2015; KEIKHAEI *et al.*, 2013), plaquetas (TEIXEIRA *et al.*, 2017) LDH, bilirrubina total (BT) e bilirrubina indireta (BI) (ASBEUTAH *et al.*, 2014; CHANG *et al.*, 2018; TEIXEIRA *et al.*, 2017). O principal fator determinante da gravidade da DF é a HbS (STEINBERG, 2009) e na crise vaso-oclusiva ocorre um quadro hematológico mais grave, com o aumento de citocinas pró-inflamatórias (KEIKHAEI *et al.*, 2013).

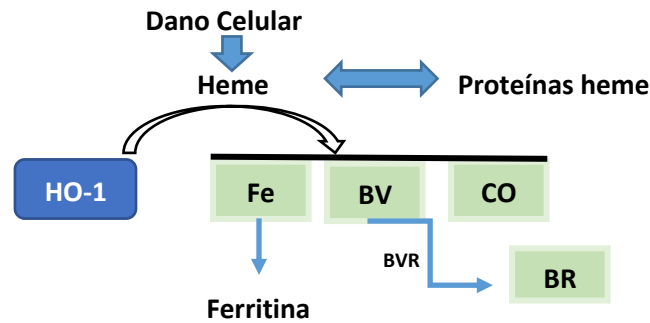
A reticulocitose apresenta valor preditivo de complicações da AF (MEIER; FASANO; LEVETT, 2017). No estudo de coorte realizado com crianças brasileiras, o aumento da contagem de reticulócitos foi o preditor mais importante para o acidente vascular cerebral e de doppler transcraniano cerebral anormal, com o aumento de 1,3 e 1,5 o risco, respectivamente, para cada unidade percentual de elevação na contagem de reticulócitos (BELISÁRIO *et al.*, 2016).

São considerados marcadores na avaliação da intensidade da hemólise a LDH, a BI, a contagem de reticulócitos, as micropartículas de hemácias, os níveis de Hb, Hb livre, alanina aminotransferase (AST) (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017), aspartato aminotransferase (ALT), e a diminuição sérica da haptoglobina (STOJANOVIC; LIONNET, 2016). Enquanto a Hb plasmática livre e as micropartículas de hemácia são marcadores diretos de hemólise (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017), a LDH é o tipo indireto mais importante, considerado também um marcador diagnóstico e prognóstico de complicações agudas e crônicas (STOJANOVIC; LIONNET, 2016) e utilizado para identificação do subfenótipo disfunção hemólise-endotelial em crianças (LAND *et al.*, 2013).

A hemólise é o principal fator de risco para a hiperbilirrubinemia (KAPLAN; BROMIKER; HAMMERMAN, 2014), mesmo na ausência de crises (AKUYAM *et al.*, 2017). Entretanto, além da hemólise outros fatores podem estar envolvidos na hiperbilirrubinemia em indivíduos com anemia hemolítica como no fenótipo de *Gilbert* que envolve a UDP glucuronil-transferase. A via de formação da bilirrubina envolve a degradação do heme pela proteína heme oxigenase-1 (HO-1) com a formação de biliverdina (Figura 5), liberação do ferro e monóxido de carbono (CO) (WAZA *et al.*, 2018).

A biliverdina, após redução enzimática pela biliverdina redutase (BVR), gera a bilirrubina, um pigmento hidrofóbico que é transportado ligado a albumina. Tal molécula é metabolizada no fígado pela UDP glucuronil-transferase, e resulta na BD ou conjugada, um composto mais polar e hidrossolúvel (MARTELLI, 2012; RYTER; ALAM; CHOI, 2006). A bilirrubina é o produto final da degradação do grupo heme, o qual origina-se da Hb liberada durante os processos hemolíticos (RODRIGUES *et al.*, 2012; ROTHER *et al.*, 2005).

Figura 5 - Mecanismo citoprotetor da heme oxigenase 1



Fonte: adaptado de Waza *et al.* (2018).

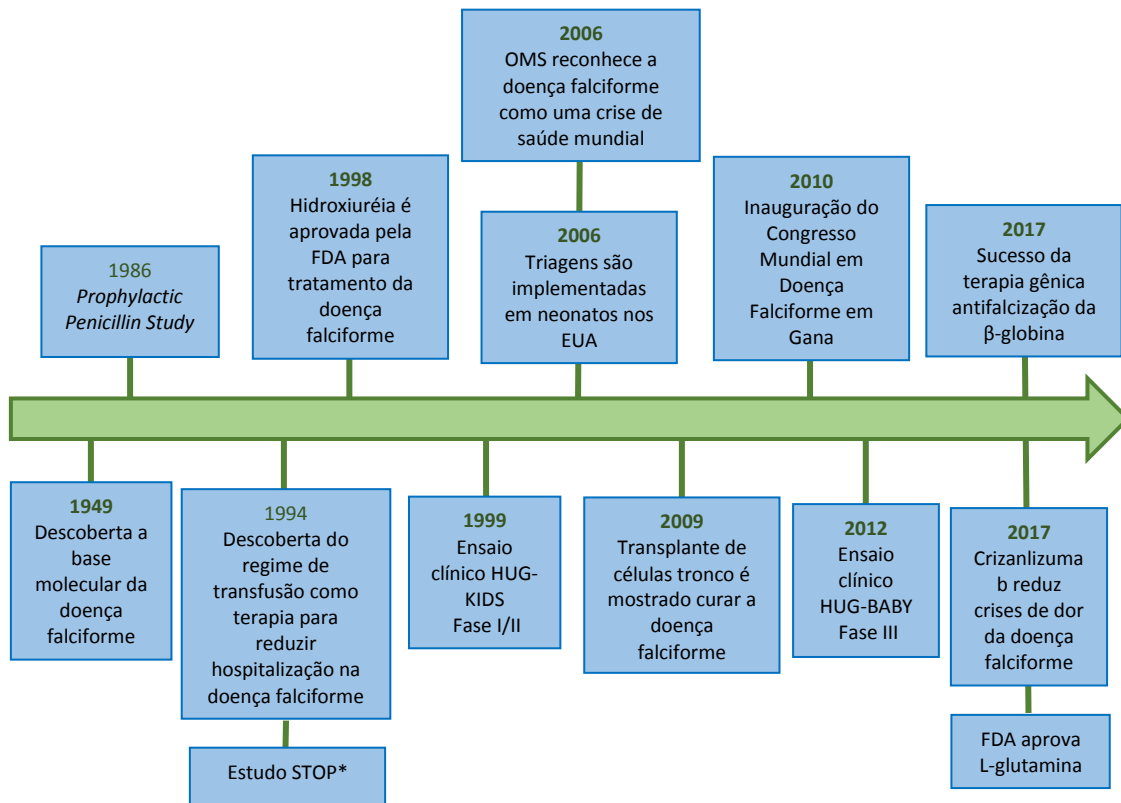
Nota: HO-1, heme oxigenase 1; Fe, ferro; BV, biliverdina; BVR, biliverdina redutase; BR, bilirrubina; CO, monóxido de carbono.

## 2.5 TERAPIAS PARA A DOENÇA FALCIFORME

Devido as complicações agudas e crônicas decorrentes da DF e sua complexa fisiopatologia, há necessidade de intervenções terapêuticas para reduzir os riscos e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. A Figura 6 apresenta os marcos históricos da DF, incluindo o surgimento das terapias.

A transfusão de sangue é uma importante intervenção terapêutica para pacientes com DF, pois aumenta a capacidade de transporte de oxigênio das hemácias, reduz a viscosidade do sangue e suprime a falcização das hemácias (MAROUF, 2011). Esta terapia pode ser por transfusão única para o tratamento de uma complicação aguda ou a longo prazo para a prevenção ou tratamento de complicações oriundas de doenças crônicas (HOWARD, 2016).

Figura 6 - Linha do tempo dos marcos no reconhecimento da doença falciforme como uma crise global e tratamento da doença



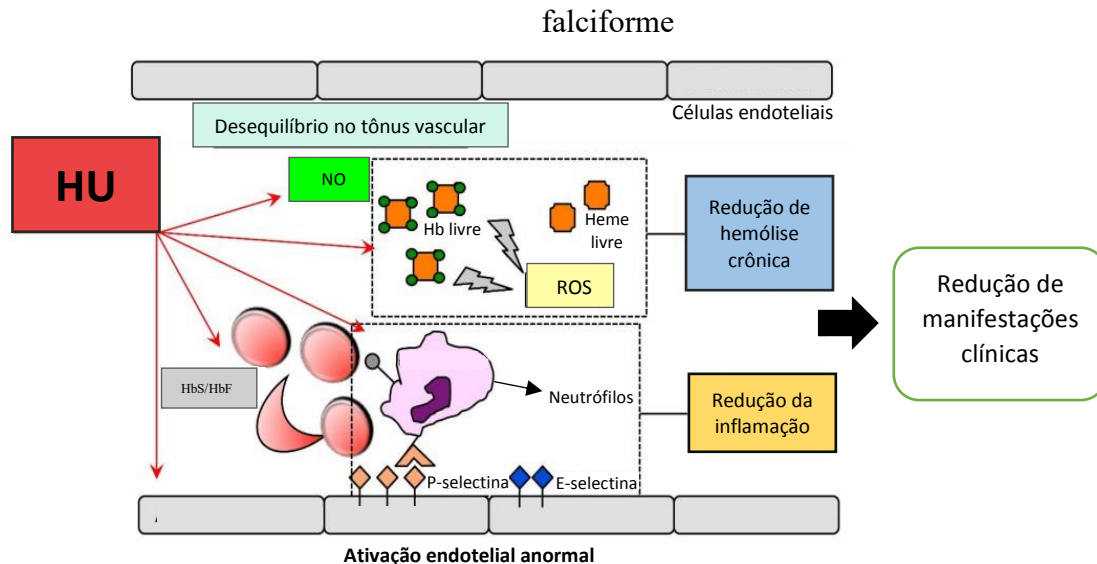
Fonte: Modificado de Ansari *et al.* (2018).

Nota: \*Prevenção em crianças com anemia falciforme de acidente vascular encefálico com transfusão crônica.

O uso de Hidroxiureia ou hidroxycarbamida reduz a necessidade de transfusão (BISPO *et al.*, 2017) promovendo uma melhora dos parâmetros hematológicos em todas as idades (BISPO *et al.*, 2017; KEIKHAEI; YOUSEFI; BAHADORAM, 2015; PHILLIPS *et al.*, 2018). A Hidroxiureia foi aprovada em 1998 pela *Food and Drug Administration* (FDA) para uso em pacientes com AF (RILEY *et al.*, 2018). Seu mecanismo de ação envolve a inibição da ribonucleotídeo redutase com bloqueio da síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), mantendo as células na fase S do ciclo (CANÇADO *et al.*, 2009; CHARAGE *et al.*, 1995; HOLICK; TIAN; ALLEN, 1995; WANG *et al.*, 2002). Como efeitos metabólicos identifica-se o aumento de HbF, Hb, hemácias e hemoglobina corpuscular média (HCM) (BISPO *et al.*, 2017; KEIKHAEI *et al.*, 2013), disponibilidade de NO (MATTE *et al.*, 2019) e redução da polimerização, dos processos hemolíticos, de LDH, bilirrubina, reticulócitos (PHILLIPS *et al.*, 2018), heme e Hb livres, da contagem de neutrófilos, da ativação endotelial e da inflamação crônica (MATTE *et al.*, 2019). Dentre suas repercussões clínicas, há redução das crises

dolorosas, da frequência de infecções, da síndrome torácica aguda (BISPO *et al.*, 2017) e de mortalidade (MCGANN; WARE, 2015; TSHILOLO *et al.*, 2019) (Figura 7).

Figura 7 - Diagrama esquemático da ação terapêutica multimodal da Hidroxiureia na doença falciforme



Fonte: Adaptado de Matte *et al.* (2019).

Nota: HU, Hidroxiureia; EROs: espécies reativas de oxigênio; Hb: hemoglobina; NO: óxido nítrico; HbS: hemoglobina falciforme; HbF: hemoglobina fetal.

No Brasil, a aprovação para o uso da Hidroxiureia em pacientes com DF ocorreu pela Portaria nº 872/2002 do Ministério da Saúde. Em 2013, a Portaria Ministerial nº 27 publicou a decisão de incorporar a terapia de Hidroxiureia em crianças com DF no Sistema Único de Saúde (SUS). Em fevereiro de 2018, esse órgão aprovou o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da DF atualizando os critérios para o uso de Hidroxiureia tais como a idade mínima de dois anos (ou a partir de nove meses em algumas condições), e ter apresentado pelo menos uma das seguintes complicações nos últimos 12 meses: três ou mais episódios de crises vaso-oclusivas com necessidade de atendimento médico; dois episódios de síndrome torácica aguda; um episódio de priapismo grave ou priapismo recorrente; necrose isquêmica óssea; insuficiência renal; proteinúria de 24 h  $\geq$  1 g; anemia grave e persistente (Hb < 6 g/dL em três dosagens no período de três meses); LDH elevada duas vezes acima do limite superior nas crianças ou adolescentes e acima de três vezes do limite superior no adulto; alterações doppler transcraniano acima de 160 e até 200 cm/s; retinopatia proliferativa; ou quaisquer outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgão(s). Adicionalmente, foi proposta a dose inicial de 15 mg/kg/dia e máxima de 35 mg/kg/dia (BRASIL, 2018).

Embora estudos indiquem que a Hidroxiureia seja segura e viável na DF (HANKINS *et al.*, 2014; TSHILOLO *et al.*, 2019; ZHOU *et al.*, 2018), existem indício de que este medicamento possa aumentar o risco de danos ao DNA associados à exposição por longos períodos de tempo, necessitando de um monitoramento dos pacientes, uma vez que não há consenso quanto os seus riscos citotóxicos e genotóxicos (PEDROSA *et al.*, 2014).

De forma geral, as terapias disponíveis são limitadas a transfusões, administração de Hidroxiureia (WARE *et al.*, 2017), além do uso de penicilina e tratamentos adjuvantes com ácido fólico, analgésicos, anti-inflamatórios e quelantes de ferro (BRASIL, 2018). Apesar destes procedimentos terem promovido uma melhoria na expectativa e na qualidade de vida dos pacientes com DF nas últimas décadas, ainda são necessários esforços adicionais com mais opções terapêuticas adaptadas e a implantação da medicina de precisão (ANSARI *et al.*, 2018).

Novas terapias vem sendo estudadas e envolvem antioxidantes que previnem a desidratação, reduzem a falcização da célula falciforme e induzem o aumento da HbF; bem como os agentes direcionados à prevenção da vasculopatia e de eventos de adesão endotelial tais como os bloqueadores de selectinas e suplementação com ácidos graxos ômega-3 (MATTE *et al.*, 2019). Inovações em opções terapêuticas curativas, como transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapia de genes direcionam para intervenções curativas para pacientes com DF, entretanto sua disponibilidade ainda é limitada (HOWARD, 2016; MATTE *et al.*, 2019; WARE *et al.*, 2017) em decorrência do elevado custo e do alto risco de morbimortalidade (ANSARI *et al.*, 2018).

## 2.6 MODULADORES DA DOENÇA FALCIFORME

O amplo espectro de manifestações clínicas e a grande variação da gravidade entre os indivíduos tem sido explicado, em parte, pelos fatores genéticos (CHATURVEDI *et al.*, 2017; GEARD *et al.*, 2016; STEINBERG, 2009), os quais contribuem para a modulação da DF. Os estudos moleculares que rastreiam polimorfismos no genoma (*genome-wide association study* - GWAS) fornecem conhecimentos da diversidade genética relacionada à heterogeneidade fenotípica (STEINBERG, 2009). Os polimorfismos genéticos que afetam a AF e seus subfenótipos clínicos e laboratoriais são úteis como marcadores prognósticos (STEINBERG; SEBASTIANI, 2012). Polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs) em diferentes locos foram associados ao maior risco de doenças renais, hipertensão pulmonar e hipertensão em pacientes com DF (GEARD *et al.*, 2016).



A HbF é um alvo importante para a terapia da doença falciforme (LETTRE; BAUER, 2016) e sua expressão é regulada por interações complexas entre os fatores genéticos e epigenéticos. Tal composto é considerado o modulador genético mais importante da AF, pois suas altas concentrações diluem a quantidade de HbS, interrompem o processo de polimerização e reduzem a gravidade da AF (MEIER; FASANO; LEVETT, 2017; STEINBERG, 2009).

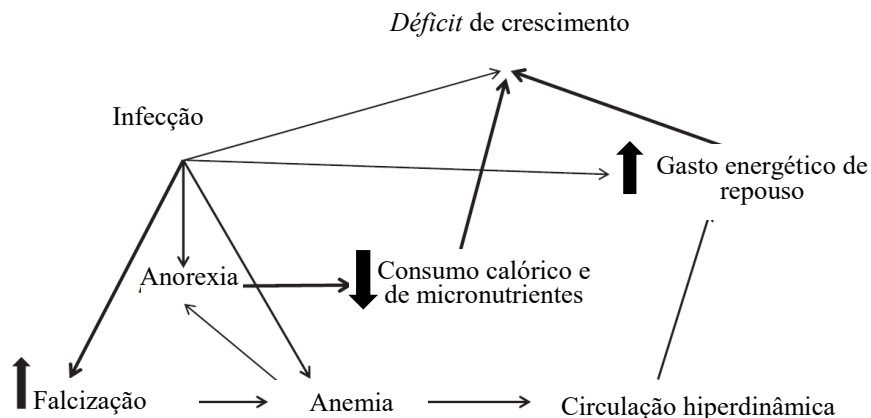
A presença de haplótipos do gene da  $\beta^S$ -globina influencia nos níveis da HbF (ADORNO *et al.*, 2008). Vários haplótipos têm sido relatados entre eles Benin (BEN), República Centro-Africana (CAR), Senegal (SEN), Camarões (CAM), Arábia Saudita e Índia (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003) e Bantu (AKINSHEYE *et al.*, 2011). No Brasil, os haplótipos CAR e BEN são os mais frequentes (ADORNO *et al.*, 2008; BELISÁRIO *et al.*, 2010a). Resultados de estudos verificaram que indivíduos com os haplótipos Árabe-indiano e SEN apresentaram níveis superiores de HbF (AKINSHEYE *et al.*, 2011; RUSANOVA *et al.*, 2011) enquanto os portadores do BEN ficaram em posição intermediária e do Bantu com menores níveis (AKINSHEYE *et al.*, 2011).

A co-herança de deleções dos genes *HBA*, a  $\alpha$ -talassemia ( $\alpha$ -tal), é outro modulador da DF. A deleção de 3,7 Kb no gene *HBA* (deleção  $\alpha^{3,7}$ ) está associada a diminuição da bilirrubina, plaquetas (ALELUIA *et al.*, 2017b) e melhores índices hematológicos com atenuação do grau de anemia nos pacientes com AF (RUMANNEY *et al.*, 2014) e redução das manifestações da disfunção hemolítico-endotelial como úlcera, o priapismo e o acidente vascular cerebral. Entretanto, há mais eventos relacionados a viscosidade-vaso-oclusão, como a síndrome torácica aguda e a osteonecrose (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007). Tem sido sugerida a investigação de outros fatores moduladores da hemoglobinopatia S para a definição de subfenótipos da doença, visto que a presença ou a ausência de  $\alpha$ -tal isoladamente não é suficiente para prever as características clínicas da doença (BELISÁRIO; VIANA, 2011).

## 2.7 PERFIL ANTROPOMÉTRICO NA DOENÇA FALCIFORME

As variáveis antropométricas de crianças com DF apresentam menores valores quando comparadas aos indivíduos sem a doença (NOGUEIRA *et al.*, 2014; ODETUNDE *et al.*, 2016; ONUKWULI *et al.*, 2017; VANDERJAGT *et al.*, 2002a). A necessidade de energia aumenta na ocorrência de episódios vaso-oclusivos, mas acredita-se que o déficit nutricional na DF seja resultado de muitos processos (Figura 8), os quais variam entre os pacientes (CATANZARO; KOUMBOURLIS, 2014).

Figura 8 - Mecanismo de crescimento deficiente na anemia falciforme



Fonte: adaptado de Catanzaro e Koumbourlis (2014).

Os parâmetros antropométricos apresentam associação com a gravidade da DF (MANDESE, VALENTINA *et al.*, 2016; MEEUWES *et al.*, 2013), apesar de existirem resultados contraditórios (ESEZOBOR *et al.*, 2016).

Maior deficit de peso foi observado entre os meninos (ESEZOBOR *et al.*, 2016; ODETUNDE *et al.*, 2016; SCHALL *et al.*, 2004), chegando a alcançar três vezes maior propensão ao baixo peso quando comparado às meninas (ESEZOBOR *et al.*, 2016). Entretanto, Meeuwes *et al.* (2013) não identificaram diferenças significativas entre os gêneros.

Embora a influência da Hidroxiureia nas variáveis antropométricas de crianças tenha sido observada (ADEGOKE *et al.*, 2017a), existe resultado divergente (RANA *et al.*, 2014), o que se deve, em parte, à falta de padronização nas metodologias.

A condição socioeconômica é um fator determinante do estado nutricional das crianças da população geral (SILVEIRA *et al.*, 2015), como também naquelas com DF (AKODU; DIAKU-AKINWUMI; NJOKANMA, 2012; ESEZOBOR *et al.*, 2016; ZIVOT *et al.*, 2017). Dentre as crianças e adolescentes americanos com AF, 22,1% apresentavam excesso de peso e 6,6% baixo peso (CHAWLA *et al.*, 2013), enquanto nas nigerianas a prevalência de excesso de peso foi de 1,7% e o baixo peso 22,7% (ESEZOBOR *et al.*, 2016).

Além das avaliações de medidas de peso e estatura em crianças e adolescentes com DF demonstrarem deficits nutricionais, alterações observadas na composição corporal indicam baixa reserva de energia e proteínas corporais (VANDERJAGT *et al.*, 2002b). As medidas da composição corporal são importantes para avaliar o estado nutricional e monitorar os resultados clínicos em crianças e adolescentes (KYLE *et al.*, 2015), fazendo-se necessário o uso de ferramentas de diagnóstico capazes de identificar mudanças precoces na composição corporal (BANSAL *et al.*, 2018).

## 2.8 DEFICIÊNCIA DE MICRONUTRIENTES NA DOENÇA FALCIFORME

A gravidade da DF está associada com deficiências ou insuficiências nutricionais múltiplas, as quais são comuns entre os pacientes (BEHERA *et al.*, 2012; MARTYRES *et al.*, 2016; MATARATZIS; ACCIOLY; PADILHA, 2010). A deficiência nutricional pode estar relacionada aos diferentes padrões de cultura, situação socioeconômica, nível de educação em saúde (KHAN *et al.*, 2016) e ao consumo alimentar (MANDESE, VALENTINA *et al.*, 2016).

A vitamina D apresenta importância na saúde humana por atuar, além do metabolismo do cálcio, na imunidade, nos processos inflamatórios (CHIU *et al.*, 2018), sinalização do cálcio, função mitocondrial, estresse oxidativo, proteção do DNA e alterações epigenéticas (BERRIDGE, 2017). Sua deficiência correlacionou a otite média (AKCAN *et al.*, 2018), pneumonia (LI *et al.*, 2018), alteração da pressão arterial (MIRHOSSEINI; VATANPARAST; KIMBALL, 2017) e infarto (NIE *et al.*, 2017) na população com DF.

Indivíduos com DF apresentam alta prevalência de deficiência de vitamina D (ARLET *et al.*, 2013; BOETTGER *et al.*, 2017; NOLAN *et al.*, 2015; SAMSON *et al.*, 2018), e o risco entre os indivíduos com AF é de 5.3 vezes maior quando comparado com os indivíduos do grupo controle saudável (ROVNER *et al.*, 2008). A deficiência de vitamina D agrava o prognóstico da DF. Além de maior fragilidade óssea dos indivíduos com DF na presença de deficiência de vitamina D, há maior frequência de dor crônica e aguda (ARLET *et al.*, 2013; LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015; OSUNKWO *et al.*, 2011). A cada dez unidades de aumento nos níveis séricos dessa vitamina há uma redução de 46% na probabilidade de dor aguda (LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015). Entretanto, um estudo realizado com crianças e adultos com DF, mostrou que a deficiência de vitamina D correlacionou apenas com a contagem de reticulócitos (WINTERS; KETHMAN; KANTER, 2014).

Indivíduos com DF apresentam um estado pró-inflamatório relacionado a obstrução microvascular e uma disfunção endotelial induzida por hemólise intravascular e vasculopatia, além da susceptibilidade aumentada à infecção. Esses mecanismos patológicos desempenham papéis na dor aguda e na síndrome torácica aguda, particularmente em crianças. Considerando que a vitamina D apresenta ações imunorreguladora e antimicrobianas, níveis normais desta vitamina podem ajudar no controle desses processos (LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015). Entretanto, para esclarecer se a deficiência de 25OHD seria causa ou consequência de sintomas vaso-oclusivos, são necessários estudos adicionais.

A etnia exerce influência na concentração de vitamina D. Um maior número de indivíduos do sul da Ásia apresentou deficiência mais grave de vitamina D quando comparados

aos africanos do Caribe (PATEL *et al.*, 2013), bem como entre as crianças nigerianas quando comparada as brasileiras (ADEGOKE *et al.*, 2017a).

Outro modulador a ser investigado para o estado de vitamina D é genótipo da DF. Apesar de serem observadas diferenças entre os grupos com genótipos diferentes de DF (BOETTGER *et al.*, 2017), alguns estudos não confirmaram este resultado (ARLET *et al.*, 2013; LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015; MARTYRES *et al.*, 2016; OSUNKWO *et al.*, 2011).

A deficiência de vitamina A é outro problema comum em indivíduos com DF (SCHALL *et al.*, 2004) e está relacionada a maior gravidade (DOUGHERTY *et al.*, 2012; SCHALL *et al.*, 2004). Entretanto, a suplementação de indivíduos com AF de 9 a 19 anos de idade com 3000 ou 6000 UI/dia de palmitato de retinil durante oito semanas não foram suficientes para elevar os níveis de vitamina A (BROWNELL *et al.*, 2019).

As células estreladas hepáticas são as principais reponsáveis pelo armazenamento de vitamina A, e em caso de lesão hepática há ativação destas células com perda rápida do estoque de vitamina A (BLANER *et al.*, 2009). Os indivíduos com DF estão expostos a injúria hepática crônica que se manifesta através de anormalidades leves nos testes da função hepática em pacientes assintomáticos como também por crises clínicas graves com hiperbilirrubinemia e insuficiência hepática. A isquemia, hepatite viral relacionada à transfusão, sobrecarga de ferro e cálculos biliares são algumas das causas envolvidas (BANERJEE; OWEN; CHOPRA, 2001).

Adicionalmente, o aumento de bilirrubina nos indivíduos com AF, com comprometimento da liberação de bile pela vesícula biliar, pode ter reflexo na absorção de lipídios e de vitaminas lipossolúveis (BOETTGER *et al.*, 2017), podendo ser um dos fatores envolvidos com a deficiência de vitaminas A e D neste grupo.

## 2.9 APLICABILIDADE DO ÂNGULO DE FASE

O AngF é uma medida utilizada para estimar a integridade de membrana celular (ASKLÖF *et al.*, 2018). A medida do AngF vem sendo considerada útil para avaliar o estado nutricional (ZHANG *et al.*, 2014) e o prognóstico de pacientes em diversas condições clínicas (BANSAL *et al.*, 2018; COLÍN-RAMÍREZ *et al.*, 2012; SHIN *et al.*, 2017). Essa medida tem potencial na avaliação do prognóstico e/ou associação com a mortalidade na doença renal (BANSAL *et al.*, 2018; RIMSEVICIUS *et al.*, 2016; SHIN *et al.*, 2017), em processos cirúrgicos (ASKLÖF *et al.*, 2018), sepse (BERBIGIER *et al.*, 2013), câncer (UCCELLA *et al.*, 2018), doença cardíaca infantil (MARINO *et al.*, 2017), transplante de células-tronco (FARIAS

*et al.*, 2013), e na doença intestinal inflamatória (WIECH *et al.*, 2018). Nos indivíduos com doença renal crônica em hemodiálise e estágio terminal, o AngF associou-se aos marcadores nutricionais, com um valor preditivo para infecções e todas as causas de morte, superior ao demonstrado pela albumina sérica (SHIN *et al.*, 2017).

Valores de referência foram sugeridos para o AngF (BOSY-WESTPHAL *et al.*, 2006; KUCHNIA *et al.*, 2017), entretanto para crianças e adolescentes saudáveis não existe um valor único de referência, mas diferentes pontos de corte propostos de acordo com a idade, o gênero e o índice de massa corporal (IMC) (BOSY-WESTPHAL *et al.*, 2006). Tais valores são pouco aplicados na área clínica, sendo recomendado neste caso a validação de valores de referência baseada em parâmetros de relevância fisiológica (KUCHNIA *et al.*, 2017). De forma geral, análises do AngF na área clínica têm sido realizadas a partir do valor da mediana ou do quartil inferior da população do estudo, por comparações com grupo controle saudável (Więch 2018), ou ainda de valor determinado a partir da associação com a gravidade da doença (SILVA *et al.*, 2015; STAPEL *et al.*, 2018; ZAMBERLAN *et al.*, 2019).

Embora venha sendo bastante investigado na área clínica, estudos que avaliaram o AngF em indivíduos com DF são escassos, sendo encontrados somente os trabalhos de VanderJagt e colaboradores, os quais observaram valores significativamente menores no grupo com DF em comparação ao grupo controle (VANDERJAGT *et al.*, 2008; VANDERJAGT *et al.*, 2003; VANDERJAGT *et al.*, 2002c). Entretanto, não foi investigada a relação do AngF com a gravidade da doença falciforme.

## 2.10 DISLIPIDEMIA NA DOENÇA FALCIFORME E MARCADORES GENÉTICOS

Em diferentes populações com DF são verificadas reduções dos níveis séricos de lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e de lipoproteína de alta densidade (HDL-C) (TEIXEIRA *et al.*, 2017), aumento de triglicerídios (TG) (ADEGOKE, OLADOTUN e AKINTUDE, 2016; TEIXEIRA *et al.*, 2017) caracterizando o terceiro subfenótipo denominado dislipidêmico.

A relação do perfil lipídico com a gravidade da AF foi observada em pacientes estáveis, sem transfusão e sem uso de Hidroxiureia, no qual o maior nível de HDL-C associou-se aos maiores valores de hemácias, Hb, HbF, hematócrito e LDL-C, e menores de NO (ALELUIA *et al.* 2017). Na AF e HbSC, além de níveis superiores de Hb nos indivíduos com maior HDL-C, observaram-se menor contagem de leucócitos, reticulócitos e de BI. O aumento do TG na AF foi observado tanto no estado estável (MOKONDJIMOBÉ *et al.*, 2012; VALENTE-

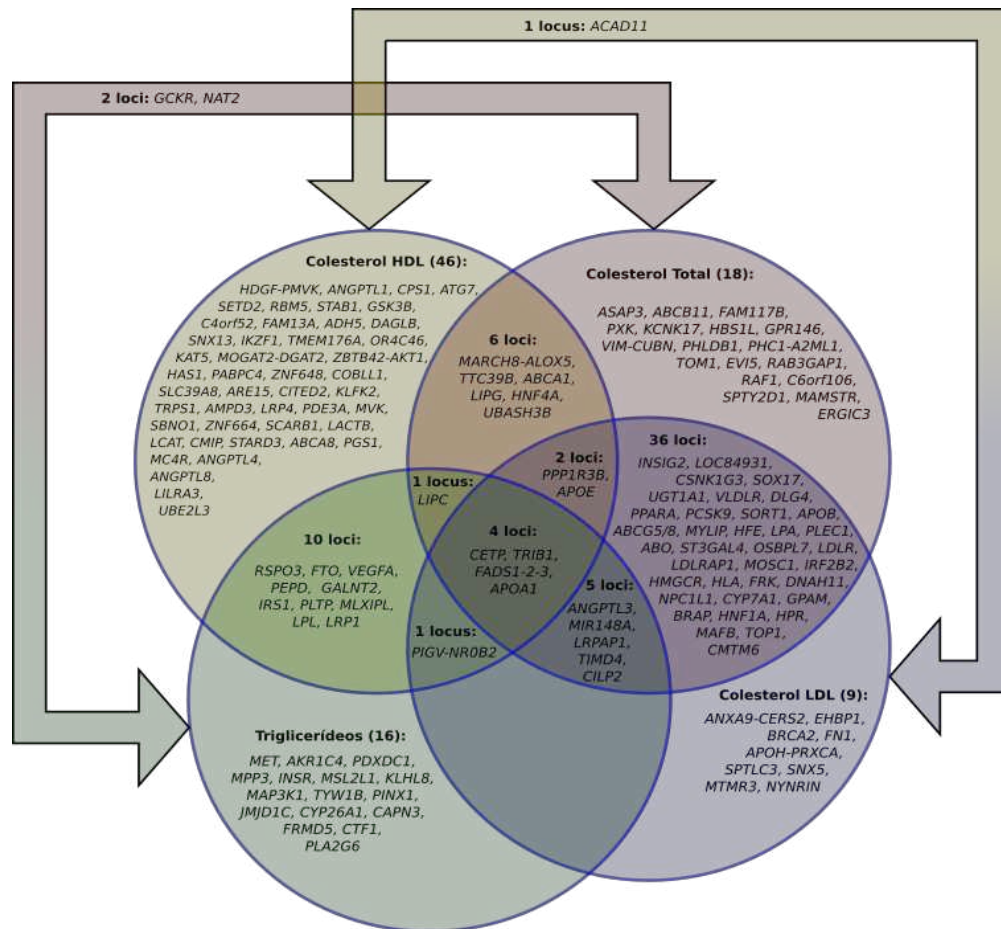
FROSSARD *et al.*, 2020), quanto nas crises vaso-oclusivas (AKINLADE *et al.*, 2014), havendo uma relação negativa com Hb e positiva com LDH, leucócitos e bilirrubinas (VALENTE-FROSSARD *et al.*, 2020). Embora os estudos mostrem forte ligação entre a gravidade da anemia e a dislipidemia, outros fatores que poderiam contribuir com esse subfenótipo foram pouco explorados.

Os fatores genéticos influenciam a variação dos níveis lipídicos (GUO *et al.*, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2013), e alguns estudos têm investigado polimorfismos genéticos e seu impacto no perfil lipídico em diferentes grupos (BLAUW *et al.*, 2018; CUI *et al.*, 2017; GUO *et al.*, 2015; NAKAMURA *et al.*, 2013; WALIA *et al.*, 2014), inclusive em crianças e adolescentes (AGIRBASLI *et al.*, 2013). Alguns estudos relatam que a dislipidemia é mais prevalente nos indivíduos com DF, mas são poucos que analisaram os polimorfismos em genes associados com a variação lipídica ou de lipoproteínas nesta doença (RAHIMI; VAISI-RAYGANI; POURMOTABBED, 2011; ZHANG *et al.*, 2015; VALENTE-FROSSARD *et al.*, 2020). Enquanto os genótipos de *APOE*  $\epsilon 2\epsilon 3 + \epsilon 3\epsilon 3$  relacionaram com redução de LDL-C e colesterol total (CT) (RAHIMI; VAISI-RAYGANI; POURMOTABBED, 2011), o alelo C do SNP rs59014890 no gene *APOA5* apresentou associação com a expressão diminuída da lipoproteína B (apoB) em pacientes com DF (ZHANG *et al.*, 2015). Nos indivíduos com DF, a variante G do gene *ZNF259* rs964184 (C>G) foi significativamente associada ao aumento dos níveis de TG e à razão aterogênica TG/HDL-C (VALENTE-FROSSARD *et al.*, 2020).

Estudos GWAS identificaram vários locos robustamente associados ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) a pelo menos uma das quatro frações lipídicas (HDL-C, LDL-C, CT e TG), e alguns demonstraram uma forte associação com o HDL-C, incluindo polimorfismos no gene *CETP* (Figura 9) (WILLER *et al.*, 2013).

O gene *CETP*, localizado no cromossomo 16q13 (MIM 118470), codifica a proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) (BLAUW *et al.*, 2018), que é sintetizada no fígado, tecido adiposo, mamas, tireoide e, principalmente, no baço (SUHY *et al.*, 2015). Após sua produção, ocorre secreção na corrente sanguínea (HEWING; FISHER, 2012), onde esta proteína CETP irá propiciar a troca de éster de colesterol e TG entre as lipoproteínas circulantes que contém apoB tais como LDL-C, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL-C) e HDL-C (ECKARDSTEIN, 2010; NIESOR *et al.*, 2010), contribuindo para um perfil de lipoproteínas aterogênicas com o aumento da relação colesterol LDL-C/HDL-C (BLAUW *et al.*, 2018). Por outro lado, a inibição de sua atividade aumenta os teores de HDL-C (HEWING; FISHER, 2012).

Figura 9 - Sobreposição entre locos associados a diferentes traços lipídicos



Fonte: adaptado de Global Lipids Genetics Consortium, 2013.

Nota: Diagrama de Venn ilustrando o número de locos que mostram associação com múltiplos traços lipídicos. O número de locos principalmente associados a apenas um traço é listado entre parênteses após o nome do traço e o nome do loco é listado abaixo em itálico. Locos que mostram associação com duas ou mais características são mostrados na seção apropriada.

Vários SNPs no gene *CETP* associados aos níveis de HDL-C foram relatados. Alguns polimorfismos no gene *CETP* alteram os níveis e a atividade da *CETP*, com repercussões nos níveis de HDL-C como também de apolipoproteína A1 (apoA1), com menores ou insignificantes associações com TG, LDL-C e apoB (THOMPSON *et al.*, 2008). Os alelos de menor frequência dos SNPs rs247616 e rs3764261, localizados na região promotora foram fortemente associados com a expressão reduzida do *CETP* e o aumento de HDL-C (BLAUW *et al.*, 2018; PAPP *et al.*, 2012). Os SNPs rs183130 (-4,502C> T) e TaqIB (rs708272) foram considerados determinantes fortes dos níveis de HDL-C. O mecanismo do SNP rs183130 está relacionado a alteração de dois sítios de ligação ao fator de transcrição (CORELLA *et al.*, 2010).

Deste modo, como na DF a hipocolesterolemia geralmente está ligada à redução dos níveis de HDL-C, sugere-se a hipótese de que as variantes do gene *CETP* poderiam explicar parte da variação nesta fração lipídica.



### 3 OBJETIVOS

A seguir são apresentados os objetivos geral e específicos do presente trabalho.

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar biomarcadores clínicos, nutricionais, laboratoriais e moleculares em indivíduos com DF (AF e HbSC), o potencial do AngF como preditor de gravidade da AF, a influência das variantes e haplótipos do gene CETP bem como associações entre as variáveis e as diferenças entre os dois genótipos da DF.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar o perfil socioeconômico, antropométrico, os parâmetros clínicos de frequência de hospitalização e de dor nos participantes com DF e resultados do doppler transcraniano nos participantes com AF.
- Investigar os parâmetros laboratoriais, marcadores de gravidade e do estado nutricional, incluindo níveis de vitamina A e D e perfil lipídico nos indivíduos com DF.
- Avaliar os níveis de paratormônio (PTH) e sua correlação com vitamina D e TG nos indivíduos com DF.
- Identificar diferenças dos parâmetros investigados entre os pacientes com AF e HbSC.
- Investigar associação do perfil antropométrico e de vitaminas com os marcadores lipídicos.
- Verificar associação entre perfil nutricional com marcadores de gravidade clínicos e laboratoriais.
- Analisar a influência do perfil socioeconômico, do sexo, do uso de Hidroxiureia e da co-herança de  $\alpha$ -tal nos parâmetros nutricionais, laboratoriais e clínicos
- Estimar e comparar os valores médios de AngF das crianças dos grupos AF e controle (SDF).
- Verificar a associação do AngF com marcadores de gravidade no grupo com AF.
- Genotipar polimorfismos no gene *CETP* na população com DF e identificar associação das variantes e haplótipos com frações lipídicas e marcadores de gravidade.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Tratou-se de uma pesquisa clínica do tipo transversal e observacional com coleta e análise de dados demográficos, socioeconômicos, clínicos, antropométricos, da bioimpedância elétrica, laboratoriais, genéticos, com inclusão de dados retrospectivos clínicos (frequência de hospitalizações e de dor, uso de medicamentos e resultados do doppler transcraniano).

### 4.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Todos os indivíduos com AF e HbSC, nascidos entre 01 de janeiro de 2001 e 31 de dezembro de 2010, cadastrados no Hemocentro Regional de Governador Valadares da Fundação Hemominas, foram convidados a participar do estudo. O Hemocentro de Governador Valadares atende aos municípios localizados nas regiões dos Vales do Aço, Rio Doce, Mucuri, Jequitinhonha e parte da Zona da Mata.

A escolha do intervalo da data de nascimento permitiu incluir crianças em fase escolar e adolescentes, grupos de interesse para a pesquisa visto serem mais favoráveis para identificar déficits antropométricos e coletar amostras de sangue para as análises.

Para acesso aos pacientes, o Hemocentro forneceu uma relação dos cadastrados com AF e HbSC e nos dias da consulta médica de rotina foram feitos a abordagem e o convite. Os procedimentos iniciaram em setembro de 2015 e finalizaram em julho de 2019.

Para estudo do AngF foi incluído um grupo controle de crianças SDF declarada, com mesma faixa etária da população de participantes com AF, sendo o convite realizado em duas instituições públicas de ensino do mesmo município. Na Tabela 1, encontram-se as avaliações realizadas nos indivíduos com DF e SDF.

### 4.2 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram a falta de anuência do responsável com a não assinatura do TCLE, a recusa da criança/adolescente em participar do estudo, presença deficiência física com comprometimento da avaliação antropométrica proposta, déficit mental grave, gestação, uso de suplementos de vitaminas A e D e de medicamentos hipolipemiantes.

Para o grupo SDF os critérios de exclusão foram algum tipo de DF declarada, obesidade identificada pela avaliação nutricional e os mesmos definidos para o grupo com DF, exceto uso de suplementos e medicamentos hipolipemiantes.

Tabela 1 - Variáveis investigadas no estudo com indivíduos com doença falciforme e sem a doença

Avaliação	Variáveis analisadas
	Grupos anemia falciforme e doença SC
Demográficos e socioeconômicos	Idade, sexo, etnia/cor da pele e classe socioeconômica.
Antropométrica	EZ-IMCI e EZ-AI, CB, $\Sigma$ DC tricipital e subescapular, AMB e *GC.
Clínica	Frequência de hospitalização e de dor, uso de medicações/suplementos, VACM, VdACI (os dois últimos somente no grupo AF).
Laboratorial	Dados hematológicos coletados no prontuário médico: Hb, HCM, VCM, reticulócitos, LT, plaquetas e HbF.  Dados bioquímicos: apoA1, apoB, CT, LDL-C, HDL-C, não-HDL-C, TG, BT e frações, LDH, PTH, vitaminas A e D. Razões aterogênicas calculados: TG/HDL-C e AIP.
Genética	Genotipagem de SNPs no gene <i>CETP</i> (rs3764261; rs247616; rs183130) e genotipagem de $\alpha$ -tal (alelos $\alpha$ -tal -3,7Kb e -4.2Kb).
	Grupo sem e com doença falciforme para estudo do AngF
Demográficos e socioeconômicos	Idade, sexo
Antropométrica	EZ-IMCI e EZ-AI
Bioimpedância elétrica	AngF, GC, resistência, reatância, massa celular corporal e massa extracelular.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: EZ-IMCI, escore z do índice de massa corporal por idade; EZ-AI, escore z do índice altura por idade; CB, circunferência braquial;  $\Sigma$ DC, soma das dobras cutâneas tricipital e subescapular; AMB, área muscular do braço; GC, percentual de gordura corporal; AngF, ângulo de fase; VACM, velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias; VdACI, velocidade média máxima nas artérias carótidas internas; Hb, hemoglobina; HCM, hemoglobina corpuscular média; VCM, volume corpuscular médio; LT, leucócitos totais; apoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não-lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; BT, bilirrubina total; LDH, lactato desidrogenase; PTH, paratormônio; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma. \*GC foi calculado somente para crianças a partir de oito anos.

### 4.3 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (CAAE 36767114.1.0000.5147; Parecer nº 2.146.315) (Anexo 1) e no Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas (CAAE 82449917.7.3001.5118; Parecer nº 3556.803) (Anexo 2).

Foi aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1 e 2) para os responsáveis pelo menor e do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) (Apêndice 3 e 4), para os adolescentes a partir de 12 anos de idade.

#### 4.4 AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA

Para caracterizar o perfil socioeconômico da população com DF foi aplicado o formulário da Classificação Econômica Brasil proposto pela Associação Brasileira de Empresas de Pesquisa (2016), que classifica os indivíduos segundo o seu poder de compra, condições de moradia e escolaridade do chefe da família, determinando por escores as classes socioeconômicas A, B1, B2, C1, C2 e D-E (Anexo 3).

#### 4.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Os responsáveis pelos participantes do estudo foram questionados sobre a ocorrência de hospitalizações no período que antecederam os seis meses da avaliação e os eventos de dor no período anterior aos três meses da avaliação através de questionário semi-estruturado (Apêndice 5). A ocorrência de eventos de dor foi investigada em período menor devido limitação de memória apresentada pelos responsáveis.

Consultaram-se os prontuários médicos para a obtenção de informações complementares sobre uso de medicamentos, tempo de uso de Hidroxiureia e os resultados do doppler transcraniano das crianças com AF referentes a velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias (VACM) e velocidade média máxima nas artérias carótidas internas (VdACI).

#### 4.6 AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

Foram aferidos o peso, a altura, a circunferência braquial (CB) e as dobras cutâneas tricipital e subescapular e estimado o percentual da gordura corporal (GC). Aferiu-se o peso em balança digital eletrônica (Líder®), com capacidade máxima de 150 kg e sensibilidade de 50 g, e a estatura através estadiômetro vertical portátil (Altirexata®), com extensão de dois metros e treze centímetros, dividido em centímetros e subdividido em milímetros, seguindo as técnicas propostas por Jelliffe (1968).

Calculou-se o IMC pela fórmula  $[\text{IMC} = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (cm)}]$ . Os índices IMC por

idade (IMCI) e a altura por idade (AI) de cada criança foram classificados em escore-z pelas Curvas de Crescimento da Organização Mundial da Saúde (ONIS *et al.*, 2007) utilizando o *software WHO Anthro Plus* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009): IMCI com escore-z ( $Z$ )  $< -2$ ,  $-2 \leq Z < -1$ ,  $-1 \leq Z < 1$ ,  $1 \leq Z < 2$  e  $Z \geq 2$ , foi classificado como baixo peso, risco para baixo peso, peso adequado, sobrepeso e obesidade, respectivamente; A/I apresentando  $Z < -2$ ,  $-2 \leq Z < -1$  e  $Z \geq -1$  foi classificado com baixa estatura, risco para baixa estatura e estatura adequada, respectivamente.

A CB foi avaliada no ponto médio entre o acrômio da escápula e o olécrano da ulna utilizando trena antropométrica não elástica, com leitura a 0,1 cm mais próxima. As dobras cutâneas tricipital e subescapular foram verificadas pelo adipômetro científico (Sanny®), com a leitura realizada a 0,1 mm mais próxima, sendo que cada medição realizada três vezes não consecutivas. Os resultados foram obtidos pela média de dois valores mais próximos e o somatório das dobras cutâneas ( $\sum DC$ ) foi utilizado nas análises. A CB e as dobras cutâneas foram avaliadas no lado direito do corpo usando procedimentos recomendados por Lohman *et al.* (1989).

Utilizaram-se os valores da dobra cutânea tricipital e CB para estimar a circunferência muscular do braço (CMB) e a partir desta medida obteve-se a área muscular do braço (AMB), através das fórmulas abaixo (FRISANCHO, 1981):

$$CMB \text{ (cm)} = CB \text{ (cm)} - [\pi \times DCT \text{ (cm)}]$$

$$AMB \text{ (cm}^2\text{)} = CMB^2/4\pi \text{ onde,}$$

CMB = circunferência muscular do braço

CB = circunferência do braço

DCT = dobra cutânea tricipital

AMB = área muscular do braço

A GC foi estimada segundo equações propostas por Slaughter *et al.* (1988) para crianças e adolescentes de 8 a 18 anos de idade conforme apresentadas abaixo:

*Homens de raça branca*

Pré-púberes:  $1,21 (\text{tricipital} + \text{subescapular}) - 0,008 (\text{tricipital} + \text{subescapular})^2 - 1,7$

Púberes:  $1,21 (\text{tricipital} + \text{subescapular}) - 0,008 (\text{tricipital} + \text{subescapular})^2 - 3,4$

*Homens de raça negra*

Pré-púberes:  $1,21 (\text{triciptal} + \text{subescapular}) - 0,008 (\text{triciptal} + \text{subescapular})^2 - 3,2$

Púberes:  $1,21 (\text{triciptal} + \text{subescapular}) - 0,008 (\text{triciptal} + \text{subescapular})^2 - 5,2$

*Todas as mulheres*

$1,33 (\text{triciptal} + \text{subescapular}) - 0,013 (\text{triciptal} + \text{subescapular})^2 - 2,5$

#### 4.7 ANÁLISE POR IMPEDÂNCIA BIOELÉTRICA (BIA)

Utilizou-se o equipamento de bioimpedância elétrica tetrapolar, modelo 450 (Biodynamics ®), cujo sistema tetrapolar aplica uma corrente de 800 microamperes ( $\mu\text{A}$ ) na frequência única de 50 kilohertz (kHz).

Após a higienização da pele com etanol 70%, aderiram-se os elétrodos emissores distalmente na superfície dorsal da mão e do pé direitos, no plano da cabeça do terceiro metacarpo e do terceiro metatarso, respectivamente. Outros dois elétrodos receptores proximais foram aderidos na mão e no pé, o primeiro acima da articulação do punho, e o segundo acima da articulação do tornozelo, entre os maléolos medial e lateral. A avaliação foi realizada com o indivíduo na posição de decúbito dorsal com os braços afastados do tronco e sem contato entre as pernas. Realizou-se o teste pela manhã com o indivíduo em jejum e após o esvaziamento da bexiga.

Os dados da BIA foram utilizados somente para comparação dos grupos AF e SDF no estudo envolvendo o AngF. Foram estimados o percentual de gordura corporal (GC) e determinados valores de resistência, reatância, massa celular corporal, massa extracelular e o AngF. O AngF foi fornecido pelo equipamento a partir da fórmula:

$$\text{AngF} = \text{arco tangente} (X/R) \times 180^\circ/\pi \text{ (BAUMGARTNER; CHUMLEA; ROCHE, 1988) onde:}$$

X = reatância

R = resistência

#### 4.8 AVALIAÇÃO DO PERFIL HEMATOLÓGICO

Os dados dos exames hematológicos foram coletados do prontuário médico considerando a data da avaliação nutricional. Analisaram-se os exames hematológicos e

índices hematimétricos de reticulócitos, Hb, HbF, HCM, volume corpuscular médio (VCM), LT e plaquetas.

No laboratório do Hemocentro, os reticulócitos foram determinados com a técnica por coloração com azul de cresil brilhante a 1% e uso do microscópio óptico (Olympus®); a determinação da HbF foi por cromatografia líquida de alta eficiência (Biorad®); Hb, HbF, VCM, HCM, LT e plaquetas foram determinados por tecnologia de impedância e fotometria pelo equipamento ABX Micros 60 (Horiba®).

#### 4.9 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

A coleta de sangue para os exames bioquímicos foi realizada em pacientes que atendiam aos seguintes critérios: jejum de 8 a 12 horas, sem transfusão sanguínea nos últimos 90 dias e clinicamente estáveis. Considerando estes critérios, além da disponibilidade do paciente no hemocentro e a limitação orçamentária, as análises bioquímica e nutricional de alguns pacientes não puderam ser realizadas na mesma data.

Amostras de 4,5 mL de sangue venoso foram acondicionadas em tubos com gel separador, com ativador de coagulação para separação do soro por centrifugação. Encaminharam-se as amostras ao laboratório de análises clínicas conveniado e acreditado, com base nos requisitos estabelecidos na norma ABNT NBR NM ISO 15189.

Foram determinados os níveis séricos de BT e frações bilirrubina direta (BD) e indireta (BI), LDH, perfil lipídico, PTH, vitaminas A e D e perfil lipídico.

BT e BD foram determinados pelo método de *Sims/ Horn* e BI calculada ( $BI = BT - BD$ ). A LDH foi dosada por método enzimático colorimétrico e PTH por ensaio de eletroquimioluminescência. Para todas essas análises utilizou-se o analisador bioquímico Cobas Mira Plus®. A vitamina D foi dosada através da 25-hidroxivitamina D (25OHD), sendo avaliada por HPLC, assim como a vitamina A. O perfil lipídico foi avaliado considerando os níveis de apoA1, apoB, CT, LDL-C, HDL-C, lipoproteína não-HDL (não-HDL-C) e TG. Foram calculados a razão TG/HDL-C e o índice aterogênico do plasma [ $AIP = \log(TG/HDL-C)$  com TG e HDL-C expressos em concentrações molares]. Para a determinação do AIP utilizou-se o aplicativo disponível em <http://www.biomed.cas.cz/fgu/aip/calculator.php>. A Tabela 2 apresenta as metodologias adotadas, os valores de referência, os kits/equipamentos referentes ao perfil lipídico e vitaminas analisadas.

Tabela 2 - Informações sobre exames laboratoriais investigados na pesquisa

Exame	Metodologia	Valor de Referência
Vitamina A	HPLC, kit da Chromsystems	Deficiente: < 0,20 mg/L Subótimo: <0,30 mg/L <sup>a</sup>
25OHD	Quimioluminescência, Architect HPLC	Deficiência: < 20ng/ml: Insuficiência: 21 a 29 ng/ml <sup>b</sup> Aceitável: >120 mg/dL
ApoA1	Imunoturbidimetria <sup>c</sup>	Limítrofe: 115-120 mg/dL Baixo: <115 mg/dL <sup>d</sup> Aceitável: < 90 mg/dL
ApoB	Imunoturbidimetria <sup>c</sup>	Limítrofe: 90-109 mg/dL Alto: ≥ 110 mg/dL <sup>d</sup> Aceitável: < 170 mg/dL
CT	Dosado pelo método enzimático colesterol oxidase/peroxidase em espectrofotômetro <sup>c</sup>	Limítrofe: 170-199 mg/dL Alto: ≥ 200 mg/dL <sup>d</sup> Aceitável: < 110 mg/dL
LDL-C	Calculado: LDL= CT - HDL – TG/5	Limítrofe: 110-129 mg/dL Alto: ≥ 130 mg/dL <sup>d</sup> Aceitável: < 120 mg/dL
Não-HDL-C	Calculado pela equação: Não-HDL = CT - HDL	Limítrofe: 120-144 mg/dL Alto: ≥ 145 mg/dL <sup>d</sup> Aceitável: > 45 mg/dL
HDL-C	Dosado pelo método reativo precipitante <sup>3</sup>	Limítrofe: 40-45 mg/dL Baixo: < 40 mg/dL <sup>d</sup> 0-9 anos: Aceitável: < 75 mg/dL Limítrofe: 75-99 mg/dL Alto: ≥ 100 mg/dL
TG	Dosado por método enzimático <sup>c</sup>	10-19 anos: Aceitável: < 90 mg/dL Limítrofe: 90-129 mg/dL Alto: ≥ 130 mg/dL <sup>d</sup>
TG/HDL-C		Alto: > 2,0 <sup>e</sup> Baixo risco: < 0,11
AIP	Calculado pela equação: [log (TG/HDL-C)]	Risco intermediário: 0,11-0,21 Risco alto: > 0,21 <sup>f</sup>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: HPLC, Cromatografia Líquida de Alta Eficiência; 25OHD, 25-Hidroxitamina D; ApoA1, apolipoproteína A1; ApoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL, não lipoproteína de alta densidade; HDL, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C: razão triglicerídios e lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico do plasma. <sup>a</sup> Ballew *et al.* (2001); <sup>b</sup> Holick *et al.* (2011); <sup>c</sup> Uso do analisador bioquímico Cobas Mira Plus; <sup>d</sup>National Heart Lung and Blood Institute (2012); <sup>e</sup>Barbalho *et al.* (2017); <sup>f</sup>Sapunar *et al.* (2018).

#### 4.10 ANÁLISES MOLECULARES

Para as análises moleculares 3mL de sangue venoso foram coletados em tubo contendo 1,0 mg/mL do anticoagulante ácido etilenodiamino tetracético (EDTA). No laboratório de



Biologia Celular e Genética Molecular da UFJF, campus Governador Valadares realizou-se a centrifugação dos tubos a 3000 rotações por minuto (rpm) por cinco minutos para separação da camada de leucócitos, retirada com o auxílio de micropipeta e microponteira com filtro, livres de DNase e RNase. Os leucócitos foram armazenados em microtubos de 1,5 mL, livres de DNase e RNase, identificados com um código definido pelas iniciais de cada participante, seguidas do número de prontuário e armazenados a -20°C. A extração do DNA genômico (gDNA) foi realizada com alíquota de 250 µL da camada de leucócitos utilizando o kit comercial (QIAamp® DNA Blood Mini Kit, QIAGEN®), de acordo com instruções do fabricante.

Quantificou-se gDNA extraído e avaliou seu grau de pureza no espectrofotômetro Nano Vue plus (GE®). Incubou-se a amostra à 56°C durante cinco minutos em banho seco e homogeneizou-se posteriormente para proporcionar a solubilidade do gDNA. Dois µL da amostra de DNA foram depositados no espectrofotômetro previamente calibrado com tampão AE (Tris-Acetato-EDTA). Determinou-se o grau de pureza a partir das razões dos valores de absorvância nos comprimentos de onda A260/A280 e A260/A230. A razão A260/A280 representa a contaminação por proteínas, e o valor adequado está entre 1,7 e 1,9. A razão de A260/A230 adequada está entre 1,5 e 2,5 (SAMBROOK et al., 1989). Valores fora desses intervalos indicam contaminação por compostos orgânicos e, neste caso, o gDNA era descartado. Armazenou-se o gDNA a -20°C devidamente identificado no biorrepositório da pesquisa. No momento de uso, o gDNA era diluído para a concentração requerida nas reações.

#### 4.10.1 Genotipagem de $\alpha$ -talassemia

Realizou-se a genotipagem de  $\alpha$ -tal para detecção de duas mutações deletionais dos genes *HBA1* e *HBA2*: a variante deletional de 3.700 pares de bases (pb) ( $-\alpha^{3.7}$ Kb), considerando sua frequência em Minas Gerais (BELISÁRIO et al., 2015), como também a de 4.200 pb ( $-\alpha^{4.2}$ Kb). Os ensaios de genotipagem foram realizados por gap-PCR múltipla com reagentes do Kit comercial de PCR Multiplex Qiagen® e oligonucleotídeos sintéticos específicos para cada uma das deleções analisadas (TAN et al., 2001).

O controle positivo da amplificação do gDNA foi um segmento de 2.350 pb, referente à região 3' não transcrita do gene *LISI* do fator plaquetário. A especificidade da técnica de PCR múltipla para o diagnóstico das deleções causadoras de  $\alpha$ -tal foi confirmada utilizando-se controles positivos para as duas deleções testadas, cedidos pelo Dr. Samuel S. Chong da Universidade de Cingapura.

Nos ensaios de gap PCR múltipla utilizaram-se 12,5 µL de Master Mix Qiagen® na concentração 2X, 2,5 µL de *Q solution*, mistura de oligonucleotídeos, nas concentrações descritas na Tabela 3.

Tabela 3 - Dados dos oligonucleotídeos utilizados na reação de genotipagens da  $\alpha$ -talassemia

Nome	Oligonucleotídeo 5'-3'	Concentração (µM)	Tamanho esperado do fragmento (pb)
LIS1-F	ATACCATGGTTACCCATTGAGC	0,5	2350
LIS1-R	AGGGCTCATTACATGTGGACCC	0,5	
$\alpha$ 2/ $\alpha$ -3,7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC	0,2	2022/2029
$\alpha$ -3,7/ R	AAAGCACTCTAGGGTCCAGCG	0,2	
$\alpha$ 2-R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG	0,2	1800
$\alpha$ -4.2- F	GTTTACCCATGTGGTGCCTCC	0,5	1628
$\alpha$ -4.2 R	CCCGTTGGATCTTCTCATTCCC	0,5	

Fonte: Chong *et al.* (2000).

Em cada microtubo teste adicionaram-se 4 µL de gDNA com concentração mínima de 50 ng/µL. O volume final da reação foi de 25 µL. Os microtubos foram acondicionados no bloco térmico do termociclador modelo Veriti (*Applied Biosystems*®), programado para os ciclos de temperatura: inicial de 96°C por 15 minutos; seguido de 30 ciclos de 30 segundos a 98°C para desnaturação do gDNA, 62°C por 90 segundos para anelamento dos oligonucleotídeos e 72°C durante 135 segundos para extensão do DNA e extensão final a 72 °C por 5 minutos. Para a resolução dos fragmentos amplificados e definição do genótipo, 10 µL do material amplificado contendo 1 µL do corante fluorescente Gel Red® e 2µL de tampão de amostra 6x com corantes marcadores de corrida eletroforética (azul de bromofenol e xileno-cianol) foram aplicados na canaleta do gel de agarose 1%. Em seguida, o gel foi acondicionado em uma cuba contendo tampão TE 1X e a corrida de eletroforese desenvolvida a 90 volts durante duas horas. Após o final da corrida, a visualização das bandas de fragmentos amplificados ocorreu sob luz ultravioleta e a imagem do gel captada no sistema de fotodocumentação Gel Doc™ XR+ (Bio Rad®). A determinação do genótipo foi realizada de acordo com o tamanho dos fragmentos amplificados em comparação com o padrão de massa molecular 1Kb, faixa de massa molecular de 250 pares de base (bp) a 10000pb (Kasvi®).

#### 4.10.2 Genotipagens dos polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) do gene *CETP*

Foram escolhidos três polimorfismos no gene *CETP*, sendo eles o rs247616, rs183130 e rs3764261 que estão em alto desequilíbrio de ligação em todas as populações (Tabela 4) segundo análise da ferramenta interativa DLINK versão 3.6 disponível em <http://analysistools.nci.nih.gov/LDlink/> (MACHIELA; CHANOCK, 2015).

Tabela 4 - Desequilíbrio de ligação dos SNPs investigados no gene *CETP*

SNPs	rs247616	rs183130	rs3764261
	D'; r <sup>2</sup>		
rs247616	-1,0; 1,0	1,0; 1,0	1,0; 0,689
rs183130	1,0; 1,0	-1,0; 1,0	-1,0; 0,689
rs3764261	1,0; 0,689	1,0; 0,689	-1,0; 1,0

Fonte: <https://ldlink.nci.nih.gov/?tab=ldmatrix>. <Acesso em: junho de 2018>.

Nota: D': desequilíbrio de ligação; r<sup>2</sup>: coeficiente de correlação.

Os efeitos dos polimorfismos no metabolismo lipídico (BLAUW *et al.*, 2018; PAPP *et al.*, 2012; SUHY *et al.*, 2015), o alto valor de desequilíbrio de ligação (D') entre eles e a frequência do alelo de menor frequência na população geral (MAF) foram os critérios definidos para a escolha dos SNPs analisados. Informações sobre os SNPs estão descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Informações sobre os ensaios TaqMan dos polimorfismos do gene *CETP*

Polimorfismo	SNP- rs Localização	Alelo do SNP e fluoroforo	Código Thermo Fisher	MAF
C/T	rs247616 16:56955678	VIC C /FAM T	C__2381416_10	0,2676
C/T	rs183130 16:56957451	VIC C /FAM T	C__2381420_10	0,2684
C/A	rs3764261 16:56959412	VIC A /FAM C	C__27513218_10	0,2895

Fonte: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>.

Nota: MAF: frequência global do alelo de menor frequência para população global.

Os ensaios de genotipagem foram realizados por discriminação alélica pela metodologia de Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR, *quantitative Polymerase Chain Reaction*), baseada em fluorescência usando sondas TaqMan MGB e um par de iniciadores de PCR (ThermoFisher®). Estes ensaios foram desenvolvidos na plataforma do sistema da 7500 Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems®). As sondas que distinguem os dois alelos do SNP,

marcadas com fluoróforos VIC/MGB-NFQ (alelo um) ou FAM/MGB-NFQ (alelo dois), na concentração de 40X foram diluídas duas vezes em tampão TE (20 µL de Tris 100 mM e dois µL de EDTA 100 mM).

Em um microtubo foram adicionados, segundo as especificações do fabricante, solução Master Mix TaqMan® GTXpress™ Master Mix (2X), sonda (20x), água ultrapura livre de DNase e RNase. Seis µL desta mistura foram aliqüotados em microplaca e adicionados, em cada poço correspondente e 4µL de solução com gDNA a 5ng/µL. No equipamento Termociclador 7500 Fast (Applied Biosystems®) foi definido o programa de amplificação nos seguintes ciclos de temperatura: Pré qPCR: 60°C por 1 minuto, 95°C por 20 segundos, 40 ciclos a 95°C por 3 segundos, 60°C por 30 segundos e uma etapa final de 60°C por 1 minuto. Os resultados da amplificação e a determinação dos genótipos foram obtidos com auxílio da plataforma Thermo Fisher Cloud (disponível em: <<https://apps.thermofisher.com/apps/dashboard/#/>>).

## 4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

### 4.11.1. Cálculo amostral do grupo controle sem doença falciforme

O grupo controle SDF, foi definido por amostragem não probabilística, por julgamento, visto que se buscou aproximar algumas características entre os grupos como estado nutricional, idade, sexo e nível socioeconômico.

O cálculo do tamanho amostral do grupo SDF foi realizado considerando o desvio padrão do AngF entre os indivíduos saudáveis de 0,7 estimado por Vanderjagt *et al.* (2002c), sendo admitido uma diferença a ser detectada entre os grupos caso e controle de 0,25 (unidade) para AngF e um grau de confiança de 95%. Após o cálculo, verificou-se um tamanho mínimo amostral de 61 indivíduos. Foi acrescido 10% ao cálculo, para compensar eventuais perdas, resultando em um total de 67 indivíduos por grupo. Para o cálculo do tamanho amostral utilizou-se a fórmula abaixo (JEKEL; ELMORE; KATZ, 2004):

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 \cdot 2 \cdot \sigma^2}{d^2}$$

Onde:

n= número de indivíduos na amostra

$Z_{\frac{\alpha}{2}}$ : valor crítico que corresponde ao grau de confiança desejado, sendo adotado o valor de

1,96 (corresponde ao grau de confiança de 95%)

$\sigma$ : desvio padrão da medida na população a ser investigada, elevado ao quadrado, obtendo o valor da variância, o qual foi multiplicado por 2 por se tratar de dois grupos diferentes (caso e controle)

d: diferença a ser detectada entre os grupos caso e controle

#### 4.11.2. Análise dos dados

Os dados foram registrados e analisados pelo *software Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 22.0.

As variáveis categóricas foram analisadas pelo Teste Qui-quadrado de Pearson ou Teste de Fisher e apresentados em frequências absolutas e relativas.

Para verificar se os dados seguiam uma distribuição normal utilizou-se o teste *Shapiro Wilk* e teste *Kolmogorov-Smirnov*. O teste T de Student foi utilizado para comparação de dois grupos com dados de distribuição normal e Teste U de *Mann Whitney* para os dados com distribuição não-normal.

Investigaram-se separadamente nos grupos AF e HbSC se os valores dos marcadores do perfil lipídico estavam alterados de acordo com o perfil antropométrico e o estado das vitaminas A e D. Para esta análise as classificações do EZ-IMCI, vitaminas A e D foram dicotomizadas sendo considerado grupo “baixo ou limítrofe” para EZ-IMCI menor que -1 escore z e para os níveis das vitaminas A e D abaixo do valor considerado limítrofe (menor que 30  $\mu\text{g/dL}$  para vitamina A e de 30  $\text{ng/mL}$  para 25OHD) *versus* grupo “adequado”. Essa distribuição foi realizada por apresentar grupos com número mais homogêneos de indivíduos. Posteriormente, análise adicional foi realizada no grupo AF, com os níveis de 25OHD dicotomizados em "adequado ou limítrofe" ( $\geq 0,20 \text{ mg/L}$ ) *versus* "baixo" ( $< 0,20 \text{ mg/L}$ ).

Foi aplicado teste de Correlações Parcial controlando efeito da Hidroxiureia e de teste de Correlação de *Spearman*, considerando que pelo menos uma variável envolvida apresentava distribuição não normal.

Foi realizada análise de regressão linear múltipla para avaliar possíveis influências das variáveis independentes (marcadores do estado nutricional e PTH) com valor de  $p < 0,10$  em análise de correlação com as variáveis dependentes (marcadores de gravidade) em cada grupo de DF. Para as variáveis dependentes que não apresentaram distribuição normal, foi utilizada a

transformação logarítmica. Considerando a multicolinearidade, o EZ-IMCI foi utilizado preferencialmente entre as variáveis antropométricas e HDL-C em relação a apoA1. A verificação de distribuição normal dos resíduos foi realizada após cada teste. As variáveis uso ou não uso de Hidroxiureia, o gênero e a idade foram incluídos em todas as análises. Para a análise envolvendo o AngF como variável dependente, as variáveis EZ-IMCI e EZ-AI também foram incluídas nas análises. Os valores  $R^2$  e  $p$  foram apresentados para os modelos finais como também as estimativas dos parâmetros ( $\hat{\beta}$ ) e os valores  $p$  para variáveis individuais.

Análises da área sob a curva ROC foram realizadas para verificar a acurácia da variável AngF na predição de alteração dos níveis de LDH acima de 610 U/L, considerado valor de intensa hemólise (TAYLOR et al., 2008), de reticulócitos acima do percentil 80 (3,74%) e Hb e HbF abaixo do percentil 20 (7,10 g/dL e 7,30% respectivamente) dos valores da população deste estudo. Análises adicionais foram realizadas utilizando os valores correspondentes ao percentil 50.

O Equilíbrio de *Hard Weinberg* foi determinado pelo aplicativo disponível em <https://wpcalc.com/en/equilibrium-hardy-weinberg/>.

O programa *Haploview* (BARRETT et al., 2005) foi utilizado para identificação dos haploblocos, dos valores  $D'$  e  $R^2$  em nossa população, como também da associação das variante de cada SNP e dos blocos de haplótipos com os marcadores do perfil lipídico. Para esta análise consideraram-se os grupos caso (valores alterados) e controle (valores adequados e limítrofes) dos marcadores do perfil lipídico de acordo com os valores de referência proposto pela *National Heart Lung and Blood Institute* (2012).

Os efeitos de dominância do alelo de menor frequência de cada SNP foram investigados na DF agrupando-se os genótipos de rs3764261 (CC versus CA+AA) e dos rs183130 e rs247616 (CC versus CT+TT) para comparação de médias ou medianas entre os grupos. Os genótipos também foram agrupados para análise do efeito de recessividade (rs3764261: CC+CA versus AA; rs183130 e rs247616: CC+CT versus TT).

Pela regressão logística analisou-se a associação dos níveis de HDL-C dicotomizados em caso (HDL-C < 40 mg/dL) e controle (HDL-C  $\geq$  40 mg/dL) com os polimorfismos do gene *CETP* genotipados, considerando o modelo de dominância. Adicionalmente, análises com os genótipos de haplótipos agrupados por presença ou ausência do haplótipo TTA foram realizadas incluindo os marcadores de gravidade e as variáveis Hidroxiureia (uso ou não uso), sendo investigadas influência das variáveis sexo, idade, EZ-IMCI para verificar necessidade de ajustamento do modelo. Foi escolhido o método *Forwise conditional*, com o objetivo de identificar qual o melhor modelo explicativo para as variáveis dependentes, exceto a variável

categórica Hidroxiureia (uso e não uso) que entrou no modelo 2 pelo método *enter* para ajuste na análise de associação do haplótipo e da Hb nos níveis de HDL-C.

O nível de significância estatística para o erro alfa foi  $p \leq 0,05$  e adotou-se o intervalo de confiança de 95%.

#### 4.12 FINANCIAMENTO

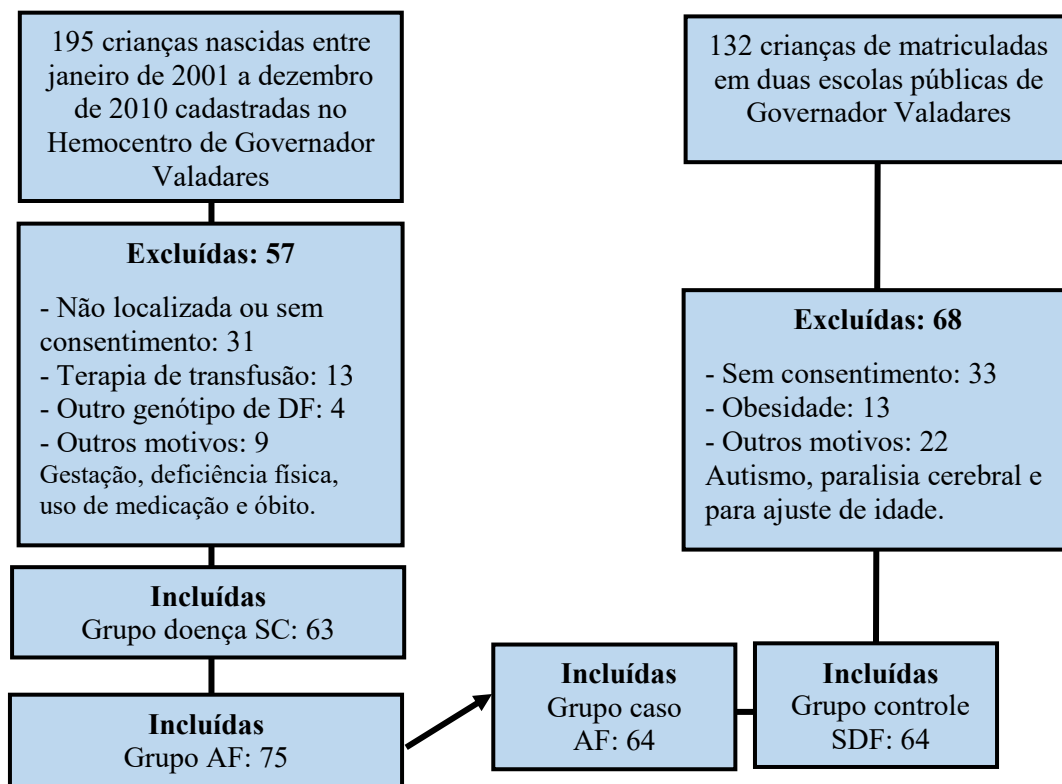
Os materiais de consumo e a contratação de serviços de terceiros de pessoa jurídica do laboratório clínico para a realização de alguns exames bioquímicos contou com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG- Processo CDS - APQ-03522-13). Os equipamentos utilizados na pesquisa foram adquiridos com recursos do projeto destinado ao Edital CT-INFRA/2013 da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da FAPEMIG (EDITAL 14/2013 - Programa de pesquisa para o SUS - PPSUS - Processo CDS - APQ-03522-13) e recursos da UFJF. As bolsas para os estudantes envolvidos no estudo foram financiadas pela FAPEMIG ou pela UFJF (através de Editais da Pró-reitora de Pós-graduação e Pesquisa nos anos de 2015, 2016, 2017 e 2018).

## 5. RESULTADOS

Participaram do estudo 138 indivíduos, sendo 75 (54,35%) com AF e 63 (45,65%) com HbSC.

Do total de indivíduos com AF, 64 (85,33%) participaram das análises envolvendo o AngF e foram comparados aos indivíduos do grupo controle SDF. Duas escolas foram selecionadas para avaliação das crianças SDF utilizando como critério a localização da instituição em região de moradores de baixa renda. Uma população de 132 indivíduos SDF dentro da faixa etária de interesse estava matriculada, entretanto foram excluídos 68 (51,51%) ao fazer o ajuste da idade com o grupo AF como também para atender aos critérios de inclusão (Figura 10).

Figura 10 - Fluxograma da população do estudo



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: DF, doença falciforme; AF, anemia falciforme; SDF, sem doença falciforme.



## 5.1 POPULAÇÃO ESTUDADA E CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS

Do total de indivíduos com DF, 55,07% (n= 76) eram meninos com idade média de 11,63 anos, 73,18% (n= 101) eram pretos ou pardos e 58,69% (n= 81) pertenciam a famílias das classes D e E. Essas variáveis foram semelhantes entre os grupos AF e HbSC (Tabela 6).

Dos indivíduos com AF, 52% (n = 39) faziam uso de Hidroxiureia, enquanto a frequência foi de 9,50% (n = 6) no grupo HbSC (p <0,001). O tempo de uso de Hidroxiureia na população estudada foi superior a 12 meses exceto um paciente que utilizava o medicamento há oito meses (Tabela 6).

Tabela 6 - Comparação das características sociodemográficas e uso de Hidroxiureia entre os grupos anemia falciforme e doença SC

Variáveis	DF	AF	HbSC	p
<i>Idade em anos, média (Dp)</i>	11,63 (2,87)	11,43 (3,09)	11,86 (2,58)	0,384
<i>Faixa etária, n (%)</i>				
5,5-11,99 anos	75 (54,35)	42 (56,00)	33 (52,38)	0,671
12,0-17,99 anos	63 (45,65)	33 (44,00)	30 (47,62)	
<i>Sexo, n (%)</i>				
Meninos	76 (55,07)	41 (54,67)	35 (55,56)	0,527
<i>Etnia/cor da pele n (%)</i>				
Branco/amarelo	14 (10,15)	8 (10,66)	6 (9,52)	
Pardo	72 (52,17)	38 (50,67)	34 (53,97)	0,946
Preto	29 (21,01)	17 (22,67)	12 (19,05)	
Não declarado	23 (16,67)	12 (16,00)	11 (17,46)	
<i>Classe socioeconomica n (%)</i>				
B1/B2	6 (4,35)	3 (4,00)	3 (4,76)	
C1/C2	45 (32,61)	27 (36,00)	18 (28,57)	0,832
D-E	81 (58,69)	42 (56,00)	39 (61,91)	
Não declarado	6 (4,35)	3 (4,00)	3 (4,76)	
<i>Uso de Hidroxiureia n (%)</i>				
Sim	45 (32,61)	39 (52,00)	6 (9,52)	<b>&lt;0,001</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: DF, doença falciforme; AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. A idade foi analisada por Teste T de Student. As demais análises foram por teste Qui-Quadrado de Pearson. Resultado significativo (p<0,05) destacado em negrito.

## 5.2 PERFIL NUTRICIONAL, CLÍNICO, HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO NA DOENÇA FALCIFORME E DIFERENÇAS ENTRE ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC

Menores médias do EZ-IMCI ( $p = 0,003$ ), EZ-AI ( $p = 0,008$ ), CB ( $p < 0,001$ ),  $\Sigma$ DC ( $p = 0,047$ ) e AMB ( $p = 0,005$ ) foram observadas na AF em relação a HbSC. Ao comparar somente aqueles sem uso de Hidroxiureia, EZ-IMCI ( $p = 0,001$ ) e CB ( $p = 0,005$ ) permaneceram indicando maior déficit nutricional para indivíduos com AF (Tabela 7).

Tabela 7 - Comparação dos marcadores do estado antropométrico entre os grupos anemia falciforme e doença SC envolvendo todos os indivíduos com doença falciforme e somente os que não usavam Hidroxiureia

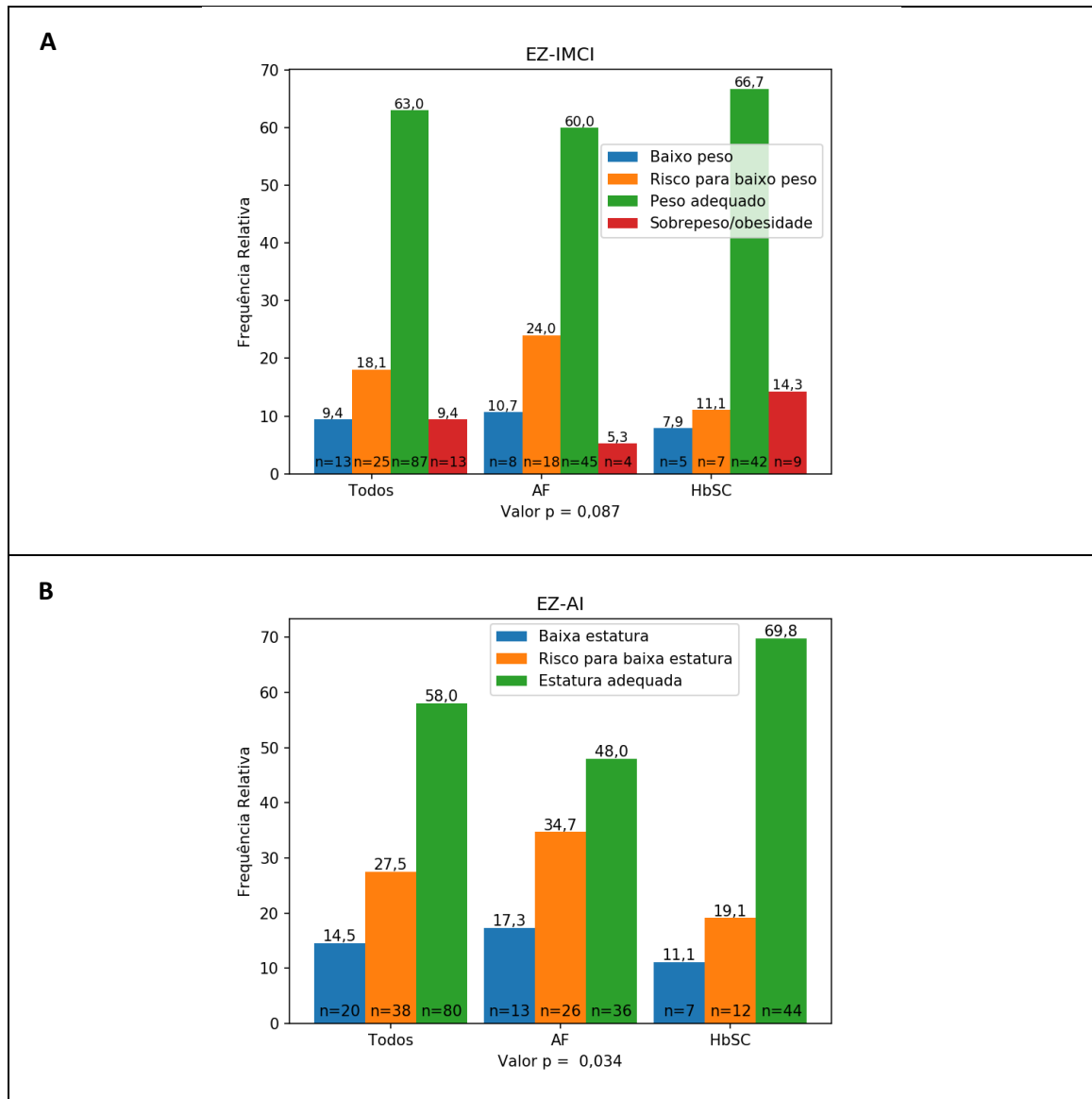
Variáveis	Todos					Sem uso de Hidroxiureia				
	AF		HbSC			AF		HbSC		
	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	p	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	p
EZ-IMCI	75	-0,77 (1,05)	63	-0,17 (1,20)	<b>0,003</b>	36	-0,88 (0,96)	57	-0,13 (1,16)	<b>0,001</b>
EZ-AI	75	-1,01 (1,15)	63	-0,51 (1,03)	<b>0,008</b>	36	0,99 (1,09)	57	-0,55 (1,04)	0,058
CB cm	72	19,0 (17,00-21,37)	63	21,00 (18,90-24,00)	<b>&lt;0,001</b>	33	19,47 (3,62)	57	21,81 (3,92)	<b>0,005</b>
∑DC mm	72	14,61 (11,60-18,60)	63	17,70 (12,53-23,70)	<b>0,047</b>	33	14,36 (12,05-18,38)	57	17,66 (12,58-23,93)	0,097
AMB cm	72	22,21 (17,40-28,26)	63	25,22 (21,86-33,98)	<b>0,005</b>	33	24,32 (17,73-28,71)	57	25,22 (21,87-34,87)	0,077
GC %	62	14,45 (11,16-19,35)	62	16,55 (10,80-22,16)	0,219	31	12,58 (9,76-17,83)	56	15,95 (10,55-22,37)	0,185

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; EZ-IMCI, escore Z do índice de massa corporal por idade; EZ-AI, escore Z do índice altura por idade. CB, circunferência braquial; ∑DC, soma das dobras cutâneas tricipital e subescapular; GC, gordura corporal; AMB, área muscular do braço. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média e (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Não houve diferença na distribuição das classificações do peso corporal pelo EZ-IMCI entre os dois grupos ( $p = 0,087$ ; Figura 11A), entretanto o grupo AF apresentou maior frequência de baixa estatura/risco de baixa estatura ( $p = 0,034$ ; Figura 11B).

Figura 11 - Comparação do perfil nutricional antropométrico entre os grupos anemia falciforme e doença SC



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson comparando grupos anemia falciforme e doença SC. Significância considerada quando  $p < 0,05$ . Anemia falciforme,  $n = 75$ ; doença SC,  $n = 63$ .

O grupo AF apresentou menores níveis de vitaminas A e D ( $p < 0,001$  para ambos), inclusive quando se comparou somente aqueles sem uso de Hidroxiureia (vitamina A,  $p < 0,001$ ; vitamina D,  $p = 0,002$ ) (Tabela 8).

Tabela 8 - Comparação dos níveis de vitaminas A e D entre os grupos anemia falciforme e doença SC envolvendo todos os indivíduos com doença falciforme e os que não usavam hidroxiureia

Variáveis	Anemia falciforme		Doença SC		p
	n	Mediana (Q1-Q3) ou Média (dp)	n	Mediana (Q1-Q3) ou Média (dp)	
Todos					
Vitamina A	68	0,27 (0,22-0,34)	59	0,36 (0,28-0,41)	< <b>0,001</b>
Vitamina D	69	20,60 (17,15-23,15)	60	25,65 (21,05-30,00)	< <b>0,001</b>
Sem Hidroxiureia					
Vitamina A	31	0,24 (0,20-0,30)	53	0,35 (0,27-0,40)	< <b>0,001</b>
Vitamina D	32	20,70 (6,49)	54	25,54 (6,74)	<b>0,002</b>

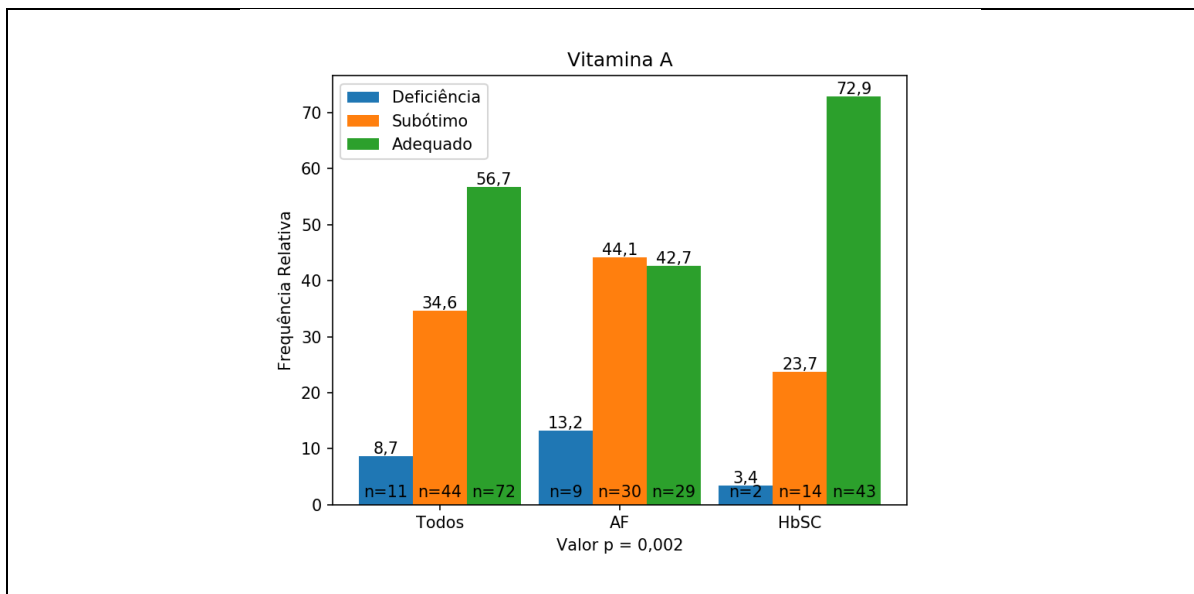
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. Resultados das análises por teste T de Student são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de Mann Whitney são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Significância considerada quando  $p < 0,05$ .

A frequência de deficit de vitaminas foi maior na AF em comparação ao grupo HbSC. Níveis baixos ou indicando estado subótimo de vitamina A foram observados em 57,3% dos indivíduos com AF e em 27,1% no grupo HbSC ( $p = 0,002$ ; Figura 12). Quando foi avaliada a 25OHD, 89,8% da população com AF e 75,0% do grupo HbSC apresentavam deficiência ou insuficiência (Figura 13).

Ambos os grupos da DF apresentaram, em média, baixos níveis de HDL-C e níveis adequados de TG, sem diferença entre AF e HbSC. Entretanto, em relação ao grupo HbSC, os indivíduos com AF tinham valores médios ou medianas significativamente maiores de apoB ( $p = 0,002$ ), CT ( $p = 0,021$ ), LDL-C ( $p = 0,042$ ), não-HDL-C ( $p = 0,006$ ), TG/HDL-C ( $p = 0,002$ ) e AIP ( $p = 0,042$ ), como também de TG ( $p = 0,049$ ) em indivíduos a partir de dez anos. Ao comparar os grupos AF e HbSC sem uso de Hidroxiureia, observaram-se menores níveis de apoA1 ( $p = 0,046$ ) e HDL-C ( $p = 0,009$ ), como também maiores de TG ( $p = 0,038$ ), TG/HDL-C ( $p = 0,011$ ) e AIP ( $p = 0,028$ ) no grupo AF (Tabela 9).

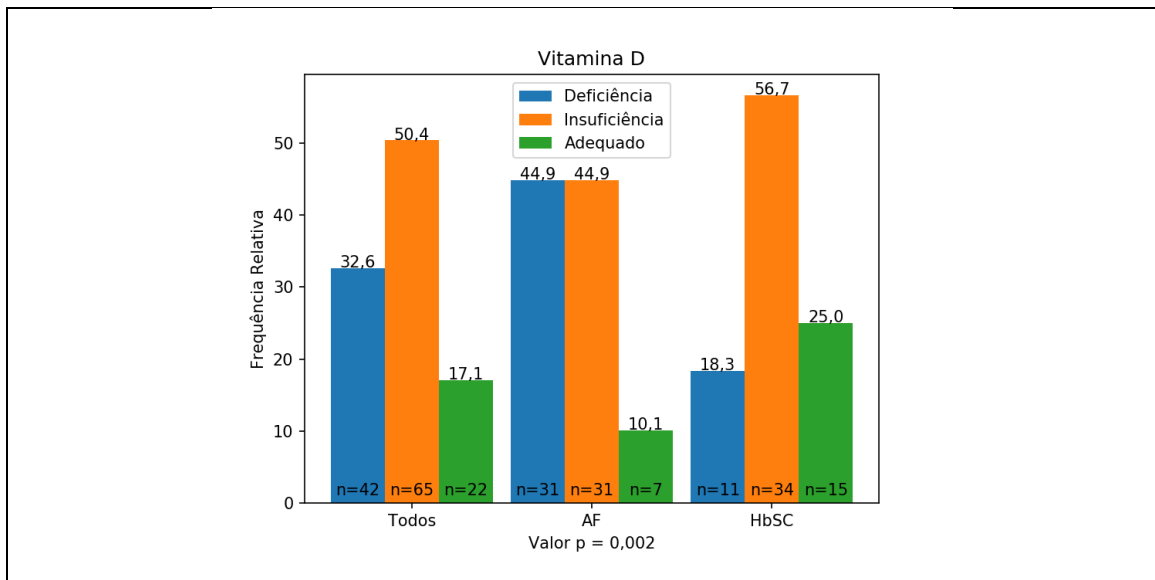
Figura 12 - Comparação do estado de vitamina A entre os grupos anemia falciforme e doença SC



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson comparando grupos anemia falciforme e doença SC. Significância considerada  $p < 0,05$ . Anemia falciforme,  $n = 68$ , doença SC = 59.

Figura 13 - Comparação do estado de vitamina D entre os grupos anemia falciforme e doença SC



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson comparando grupos anemia falciforme e doença SC. Significância considerada  $p < 0,05$ . Anemia falciforme,  $n = 69$ , doença SC = 60.

Tabela 9 - Comparação de médias ou medianas de marcadores bioquímicos do perfil lipídico entre os grupos anemia falciforme e doença SC envolvendo todos os indivíduos com doença falciforme e os que não usavam Hidroxiureia

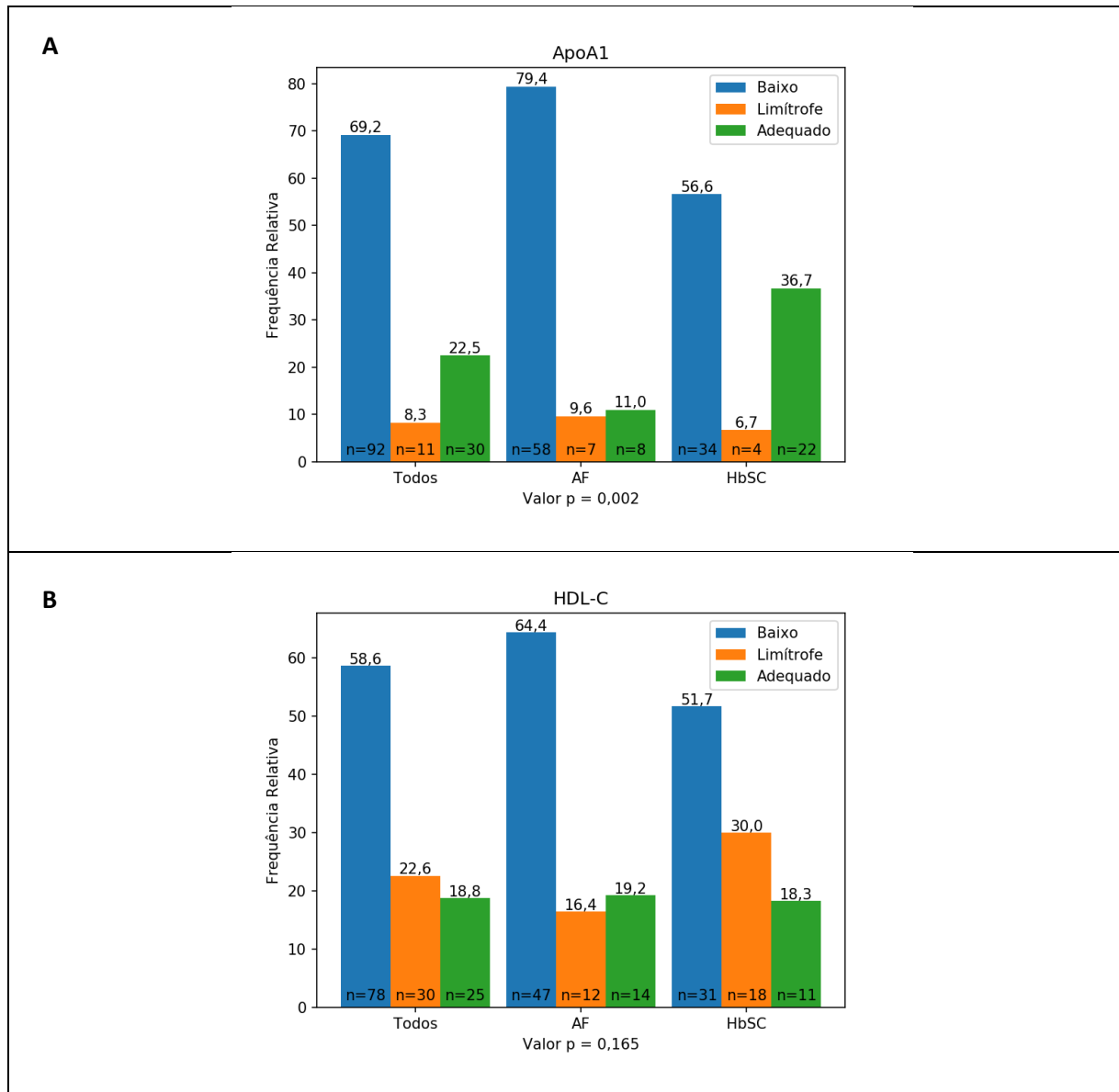
Variáveis	Todos		p	Sem Hidroxiureia		p
	AF (n= 73)	HbSC (n= 60)		AF (n= 34)	HbSC (n= 54)	
	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
ApoA1 mg/dL	104,00 (95,50-112,50)	110,50 (96,00-122,00)	0,054	99,50 (94,00-107,00)	106,50 (95,75-122,00)	<b>0,046</b>
ApoB mg/dL	64,64 (17,61)	56,16 (12,43)	<b>0,002</b>	57,00 (47,75-72,25)	57,00 (46,25-63,25)	0,415
CT mg/dL	117,00 (108,00-143,50)	113,00 (104,00-126,50)	<b>0,021</b>	113,00 (103,75-135,00)	112,00 (104,00-124,25)	0,461
LDL-C mg/dL	63,60 (54,10-82,40)	60,70 (51,50-69,40)	<b>0,042</b>	57,10 (49,40-77,45)	60,30 (49,60-69,60)	0,824
Não-HDL-C mg/dL	80,00 (71,00-101,00)	74,50 (64,25-84,75)	<b>0,006</b>	74,50 (68,00-101,00)	74,00 (64,00-82,50)	0,152
HDL-C mg/dL	36,00 (34,00-42,50)	38,00 (35,00-45,00)	0,109	35,00 (32,00-41,00)	38,00 (35,00-45,00)	<b>0,009</b>
TG mg/dL	79,00 (60,50-105,00)	71,50 (56,00-89,75)	0,082	79,50 (62,25-110,75)	70,50 (55,75 88,25)	<b>0,038</b>
< 10 anos	67,00 (54,50-90,50)	60,00 (52,00-89,75)	0,571	60 (53,00-80,00)	56,00 (51,50-80,25)	0,434
≥ 10 anos	84,00 (66,25-112,25)	74,00 (58,75-90,25)	<b>0,049</b>	96,00 (71,00-130,00)	74,00 (59,00-89,75)	<b>0,016</b>
TG/HDL-C	2,16 (1,85-2,81)	1,89 (1,50-2,29)	<b>0,002</b>	2,30 (0,76)	1,91 (0,53)	<b>0,011</b>
AIP	-0,04 (-0,12- 0,01)	-0,07 (-0,14- -0,03)	<b>0,042</b>	-0,04 (-0,12 - 0,02)	-0,075 (-0,14 - -0,03)	<b>0,028</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; apoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Houve diferença na distribuição das classificações entre AF e HbSC para apoA1 ( $p = 0,002$ ; Figura 14A) com maior frequência de baixos níveis para o grupo AF. Para o HDL-C não houve diferença ( $p = 0,165$ ; Figura 14B).

Figura 14 - Comparação do perfil lipídico de acordo com os níveis de apoA1 e HDL-C entre os grupos anemia falciforme e doença SC



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

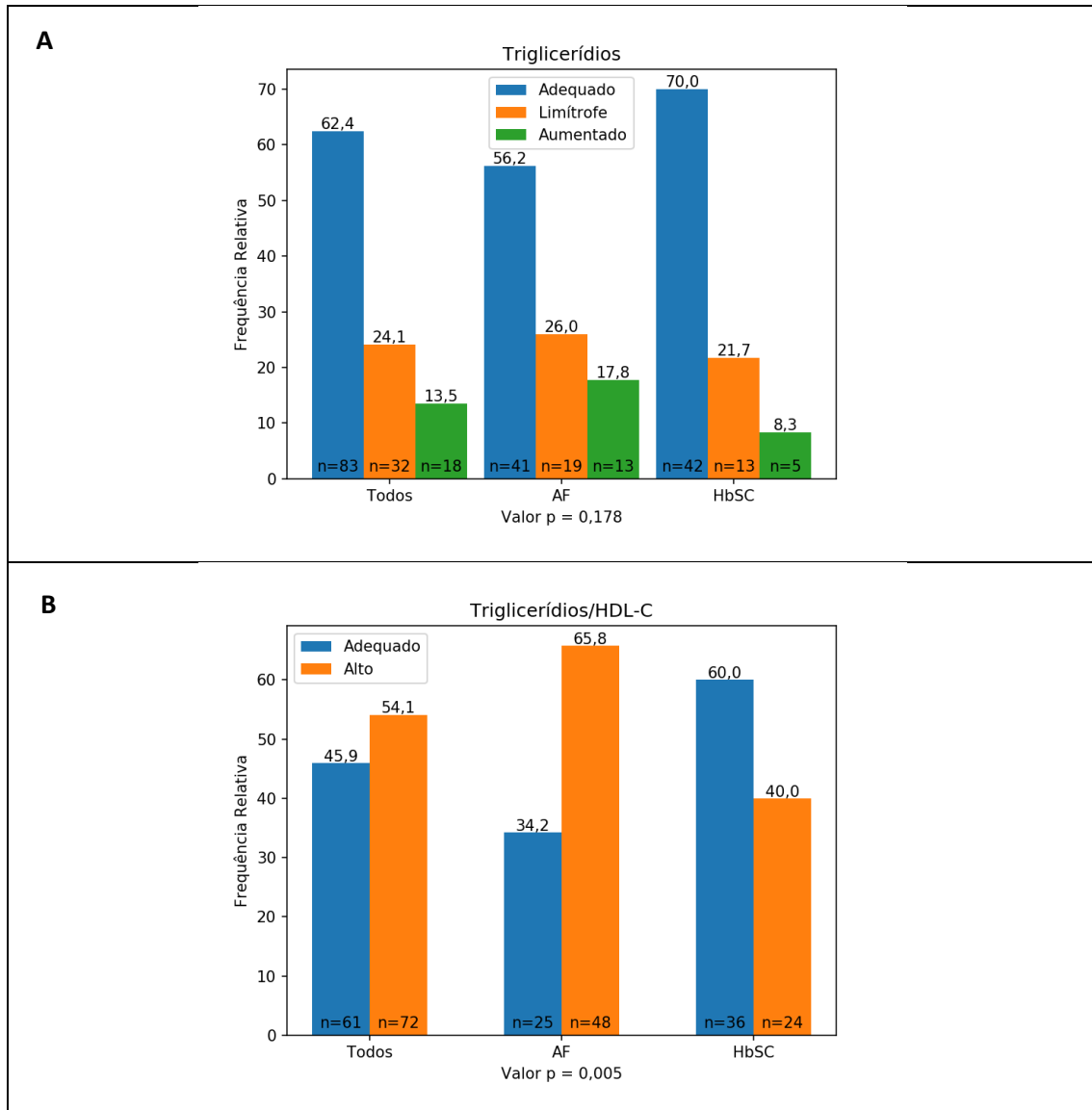
Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; apoA1, apoproteína A1; HDL-C, lipoproteína de alta densidade. Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson comparando grupos anemia falciforme e doença SC. Significância considerada  $p < 0,05$ . Anemia falciforme,  $n = 73$ ; doença SC,  $n = 60$ .

Dos indivíduos com DF, 13,5% ( $n = 18$ ) apresentaram hipertrigliceridemia e 24,1% ( $n = 32$ ) situaram dentro dos valores considerados limítrofes, não havendo diferença entre AF e



HbSC ( $p = 0,178$ ; Figura 15A). Entretanto, na AF observou-se maior frequência de indivíduos com razão TG/HDL-C alto em comparação com o grupo HbSC ( $p = 0,005$ ; Figura 15B).

Figura 15 - Comparação do perfil lipídico de acordo com os níveis de triglicerídios e da razão triglicerídios/HDL-C entre os grupos anemia falciforme e doença SC



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios. Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson comparando grupos anemia falciforme e doença SC. Significância considerada  $p < 0,05$ . Anemia falciforme,  $n = 73$ ; doença SC,  $n = 60$ .

Níveis limítrofes foram observados para CT e LDL-C em dois (1,5%) indivíduos, para apoB em sete (5,3%) e para não-HDL-C em oito (6,0%). Somente um indivíduo (0,8%) apresentou nível aumentado de não-HDL-C e de AIP (dados não mostrados).

Quanto aos demais parâmetros bioquímicos, como também clínicos e hematológicos, a maior gravidade do grupo AF em relação ao grupo com HbSC foi indicada pela maior frequência de hospitalizações ( $p = 0,027$ ), maior alteração dos parâmetros hematológicos em geral, como também pelos maiores níveis de LDH e bilirrubinas ( $p < 0,001$  para todos e  $p = 0,001$  para HbF) (Tabela 10).

As medianas de PTH não diferiram entre os dois genótipos da doença (AF: 31,20 pg/mL *versus* HbSC: 30,20 pg/mL;  $p = 0,743$ ). Na AF, a velocidade média máxima das artérias cerebrais médias (VACM) apresentou mediana de 114 cm/s (Q1:99,70 cm/s; Q3: 129,00 cm/s) e média da velocidade média máxima das artérias carótidas internas (dACI) de 104,35 cm/s (Dp: 18,12 cm/s).

Tabela 10 - Comparação das variáveis clínicas e laboratoriais entre os grupos anemia falciforme e doença SC

Variáveis clínicas	n	AF		HbSC		p
		%	n	%	n	
Hosp.						
0	56	75,68	55	91,67	<b>0,027</b>	
1-2	18	24,32	5	8,33		
Freq. dor						
0	42	56,8	35	58,3	0,994	
1-4	32	43,2	25	41,7		
Variáveis laboratoriais	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	p	
BT mg/dL	70	2,39 (1,36-3,22)	60	1,17 (0,90-1,96)	< <b>0,001</b>	
BD mg/dL	70	0,53 (0,17)	60	0,38 (0,12)	< <b>0,001</b>	
BI mg/dL	70	1,77 (0,85-2,56)	60	0,77 (0,59-1,45)	< <b>0,001</b>	
LDH U/L	70	513,00 (425,00-656,75)	60	275,00 (234,00-324,75)	< <b>0,001</b>	
Ret %	68	2,40 1,52-3,57	55	1,10 0,70-1,70	< <b>0,001</b>	
Hb g/dL	71	8,53 (1,59)	57	11,40 (1,02)	< <b>0,001</b>	
HbF %	44	11,55 (6,05-19,80)	8	4,35 (1,77-5,90)	<b>0,001</b>	
VCM fL	71	94,00 (86,00-102,00)	57	82,00 (77,00-88,50)	< <b>0,001</b>	
HCM pg	71	31,08 (4,24)	57	26,10 (2,30)	< <b>0,001</b>	
LT $10^3/mm^3$	70	9,95 (4,12)	54	6,99 (2,97)	< <b>0,001</b>	
Pla <sub>q</sub> $\times 10^3/mm^3$	70	478,50 (370,70-548,50)	54	200,00 (162,00-322,20)	< <b>0,001</b>	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; n, número de participantes; Hosp., frequência de hospitalizações no período de seis meses; Freq. dor, frequência de dor no período de três meses; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais;. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultado por teste Qui-Quadrado de Pearson é apresentado em frequência absoluta e relativa. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) foram destacados em negrito.

Ao comparar os indivíduos com AF e HbSC que não faziam uso de Hidroxiureia observaram-se diferenças significativas nas variáveis laboratoriais, mas não na frequência de hospitalizações, frequência de dor e nos níveis de HbF (Tabela 11).

Tabela 11 - Comparação de variáveis clínicas e laboratoriais entre os grupos anemia falciforme e doença SC sem uso de Hidroxiureia

Variáveis clínicas	n	AF %	n	HbSC %	p
Hosp.					
0	30	85,71	49	90,74	0,697
1-2	5	14,29	5	9,26	
Freq. dor					
0	23	65,71	33	61,11	0,830
1-4	12	34,29	21	38,89	
Variáveis laboratoriais		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
BT mg/dL	33	2,99 (2,51-4,05)	54	1,20 (0,91-2,03)	<0,001
BD mg/dL	33	0,62 (0,15)	54	0,38 (0,12)	<0,001
BI mg/dL	33	2,30 (1,80-3,35)	54	0,78 (0,62-1,47)	<0,001
LDH U/L	33	630,00 (481,50-745,50)	54	275,50 (229,50-325,50)	<0,001
Ret %	31	2,80 (1,50-4,00)	50	1,10 (0,65-1,62)	<0,001
Hb g/dL	33	7,60 (6,50-8,80)	52	11,40 (10,92-12,10)	<0,001
HbF %	12	5,40 (3,80-8,65)	52	5,00 (2,50-7,25)	0,506
VCM fL	33	89,21 (7,28)	52	81,23 (6,50)	<0,001
HCM pg	33	29,16 (3,00)	52	25,86 (2,26)	<0,001
LT 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	32	12,30 (9,77-14,675)	49	7,10 (5,45-8,30)	<0,001
Plaq x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	32	489,00 (434,50-557,25)	49	193,00 (158,50-314,00)	<0,001

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; n, número de participantes; Hosp., frequência de hospitalizações no período de seis meses; Freq. dor, frequência de dor no período de três meses; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais;. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultado por teste Qui-quadrado de Pearson é apresentado em frequência absoluta e relativa. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) foram destacados em negrito.

### 5.3 RELAÇÃO ENTRE PERFIL NUTRICIONAL, MARCADORES LIPÍDICOS E PARATORMÔNIO EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME

No grupo AF, os indivíduos da categoria EZ-IMCI “baixo ou limítrofe” apresentaram níveis mais baixos de CT (114,00 mg/L *versus* 121,50 mg/L;  $p = 0,033$ ) e LDL-C (59,00 mg/L *versus* 69,30 mg/L;  $p = 0,029$ ) enquanto aqueles da categoria “baixo ou limítrofe” para vitamina A apresentaram menores níveis de LDL-C (59,40 mg/L *versus* 73,00 mg/L;  $p = 0,024$ ). Outros

marcadores do perfil lipídico não foram influenciados pelo EZ-IMCI nem pela vitamina A (dados não mostrados). Os indivíduos incluídos na categoria "baixo ou limítrofe" de 25OHD apresentavam valores mais altos de CT ( $p = 0,026$ ), não-HDL-C ( $p = 0,024$ ), TG ( $p = 0,022$ ) e para as razões TG/HDL-C ( $p = 0,003$ ) e AIP ( $p = 0,019$ ) (Tabela 12).

Tabela 12 - Níveis de marcadores do perfil lipídico dos indivíduos com anemia falciforme de acordo com os valores dicotomizados de 25OHD

Variáveis	25OHD baixo ou limítrofe ( $< 30 \text{ ng / mL}$ ) ( $n = 62$ )	25OHD adequado ( $\geq 30 \text{ ng / mL}$ ) ( $n = 7$ )	p
	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
ApoA1 mg/dL	103,50 (96,00-110,50)	111,00 (95,00-131,00)	0,173
ApoB mg/dl	64,50 (54,75-78,50)	51,00 (46,00-59,00)	0,082
CT mg/dL	124,00 (112,00-144,50)	108,00 (100,00-119,00)	<b>0,026</b>
LDL-C mg/dL	71,70 (20,62)	59,28 (13,17)	0,053
Não-HDL-C mg/dL	85,50 (73,00-103,00)	69,00 (67,00-78,00)	<b>0,024</b>
HDL-C mg/dL	36,50 (34,00-42,25)	41,00 (33,00-46,00)	0,742
TG mg/dL* (todos)	82,00 (65,50-105,75)	60,00 (49,00-67,00)	<b>0,022</b>
< 10 anos	80,00 (55,00-98,00)	57,50 (48,50-63,25)	<b>0,043</b>
TG/HDL-C	2,40 (0,78)	1,76 (0,39)	<b>0,003</b>
AIP	-0,03 (-0,09 – 0,01)	-0,13 (-0,16 – -0,09)	<b>0,019</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: 25OHD, 25-hidroxivitamina D; apoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG/HDL-C, razão de triglicédeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). \*O grupo com idade  $\geq 10$  anos não foi avaliado devido número insuficiente para análise. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Em análise adicional no mesmo grupo (AF), os níveis de 25OHD dicotomizados em "adequado ou limítrofe" ( $\geq 0,20 \text{ mg/L}$ ) versus "baixo" ( $< 0,20 \text{ mg/L}$ ), a razão TG/HDL-C ( $p = 0,017$ ) continuou aumentada para o grupo com menores níveis da vitamina, sendo que a apoB ( $p = 0,054$ ) e AIP ( $p = 0,093$ ) ficaram no limiar de significância (dados não mostrados).

No grupo HbSC observou-se maior mediana de TG ( $p = 0,007$ ) e de AIP ( $p = 0,005$ ) na categoria "baixo" de vitamina D ( $< 0,20 \text{ mg/L}$ ). Para as demais análises e variáveis não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

Análise de Correlação Parcial entre PTH, vitamina D e marcadores do perfil lipídico, controlando o efeito da Hidroxiureia, indicou na AF uma correlação inversa entre PTH e vitamina D ( $r = -0,23$ ;  $p = 0,032$ ). O mesmo ocorreu no grupo HbSC ( $r = -0,36$ ;  $p = 0,002$ ).

#### 5.4 INVESTIGAÇÃO DE ASSOCIAÇÃO DO ESTADO NUTRICIONAL E PARATORMÔNIO COM MARCADORES DE GRAVIDADE NA DOENÇA FALCIFORME

Análises de Correlação Parcial entre marcadores do estado nutricional, incluindo o perfil lipídico, e níveis de PTH, com marcadores de gravidade (hematológicos, bioquímicos, frequência de hospitalização, frequência de dor, VdACI e VdACI), controlando o efeito da Hidroxiureia, foram realizadas envolvendo todos os indivíduos com DF.

Entre as correlações observadas estão as positivas entre Hb e EZ-IMCI, CB, AMB, gordura corporal, vitamina A, vitamina D, apoA1 e HDL-C como também da apoB, não-HDL-C, TG, TG/HDL-C e AIP com reticulócitos. Além disso, TG e as razões TG/HDL-C e AIP foram positivamente correlacionadas com BT, BD, BI, plaquetas, LT e LDH. Leucócitos totais foram negativamente correlacionados com EZ-IMCI, vitamina D, apoA1 e HDL-C. Outras correlações negativas ocorreram entre LDH e EZ-IMCI, CB,  $\Sigma$ DC, AMB, gordura corporal, apoA1, vitaminas A e D (APÊNDICE F). Não houve correlações envolvendo as variáveis CT, LDL-C, PTH, VdACI, frequência de hospitalizações e frequência de dor ( $p > 0,05$ ) (dados não apresentados).

Diante dos resultados observados nas correlações, foram realizadas análises de regressão linear separadamente para os grupos AF e HbSC, selecionando as variáveis de forma a considerar a multicolinearidade. Na AF, associação positiva foi observada entre a vitamina A e Hb e negativa entre vitamina A e LDH, HDL-C e LT e entre apoA1 e bilirrubina. O nível de TG foi associado à Hb e o EZ-IMCI com a LDH, ambos de forma negativa (Tabela 13).

No grupo HbSC, apesar de algumas variáveis do estado nutricional apresentarem associação com reticulócitos, Hb, leucócitos e LDH, os modelos foram fracamente explicativos com baixos valores de  $R^2$  (APÊNDICE G).

Tabela 13 - Associação entre estado nutricional e marcadores de gravidade na anemia falciforme em análise de regressão linear múltipla

Variável	$\hat{\beta}$	IC	P
Hemoglobina g/dL ( $R^2= 0,31$ ; $p = 0,015$ )			
Vitamina A	4,795	1,138; 8,453	<b>0,011</b>
TG	-0,010	-0,019; -0,002	<b>0,015</b>
Hidroxiureia	0,969	0,273; 1,664	<b>0,007</b>
Leucócitos totais $10^3/\text{mm}^3$ ( $R^2= 0,32$ ; $p = 0,036$ )			
HDL-C	-0,150	-0,276; -0,025	<b>0,019</b>
Hidroxiureia	-3,030	-4,847; -1,212	<b>0,001</b>
Gênero	-1,902	-3,681; -0,123	<b>0,036</b>
LDH U/L ( $R^2= 0,30$ ; $p = 0,020$ )			
EZ-IMCI	-41,125	-75,526; -6,724	<b>0,020</b>
Vitamina A	-550,048	-946,174; -153,922	<b>0,007</b>
Hidroxiureia	-114,800	-190,571; -39,029	<b>0,004</b>
Bilirrubina total <sup>1</sup> mg/dL ( $R^2= 0,45$ ; $p = 0,003$ )			
ApoA1	-0,013	-0,021; -0,004	<b>0,003</b>
Hidroxiureia	-0,621	-0,834; -0,409	<b>&lt; 0,001</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota:  $\hat{\beta}$ , coeficiente de regressão;  $R^2$  coeficiente de determinação; IC, intervalo de confiança; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; EZ-IMCI, escore Z do índice de massa corporal; apoA1, apolipoproteína A1; LDH, lactato desidrogenase. Variáveis que entraram em cada análise - reticulócitos: apoB; hemoglobina: EZ-IMCI, vitamina A, HDL-C e triglicerídeos; leucócitos: EZ-IMCI, HDL-C e triglicerídeos; LDH: EZ-IMCI, vitamina A; bilirrubina total: apoA1. Hidroxiureia, idade e sexo foram incluídos em todas as análises. <sup>1</sup>Os níveis de bilirrubina total passaram por transformação logarítmica. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ).

## 5.5 INFLUÊNCIA DO PERFIL SOCIOECONÔMICO, DO SEXO, DA CO-HERANÇA DE $\alpha$ -TALASSEMIA E DO USO DE HIDROXIUREIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME

Análise da influência da classe socioeconômica indicou, nas classes mais baixas “D-E” em relação as classes mais altas “B1/B2, C1/C2”, menor média na variável EZ-AI ( $p = 0,007$ ; média: -1,32 *versus* -0,57) e maior na BI ( $p = 0,035$ ; média: 2,11 *versus* 1,37) para o grupo AF, enquanto no grupo HbSC observou-se menor média de vitamina A ( $p = 0,034$ ; média: 0,33 *versus* 0,38).

No grupo AF, não houve diferença quanto ao uso de HU ( $p = 0,190$ ) entre meninos e meninas. Entretanto, os meninos apresentaram menores valores de vitamina A ( $p = 0,002$ ), de CT ( $p = 0,018$ ), LDL-C ( $p = 0,005$ ), não-HDL-C ( $p = 0,010$ ) e apoB ( $p = 0,001$ ) e maior gravidade da doença caracterizada por níveis mais elevados de LDH ( $p = 0,012$ ) e LT ( $p = 0,009$ ) e menores de Hb ( $p = 0,007$ ) (APÊNDICE H). No grupo HbSC, não houve diferença em

relação ao sexo quanto ao uso de HU ( $p = 0,080$ ) e demais variáveis ( $p > 0,05$ ), exceto quanto aos níveis de HCM que foram menores nos meninos ( $p = 0,020$ ) (Dados não apresentados).

Do total de indivíduos com DF, 23,70% apresentavam co-herança de  $\alpha$ -tal, entre eles um caso  $\alpha\alpha/-\alpha^{4,2}$  e um  $-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7}$ , não havendo diferença na frequência entre os grupos AF e HbSC (APÊNDICE I). No grupo AF, os indivíduos com  $\alpha$ -tal apresentaram menores valores das medianas de VCM ( $p = 0,001$ ) e HCM ( $p < 0,001$ ), mas o genótipo não influenciou o perfil antropométrico, o estado de vitaminas A e D, os parâmetros lipídicos e os marcadores bioquímicos de gravidade (dados não apresentados). Os indivíduos do grupo HbSC com  $\alpha$ -tal também mostraram menores valores de VCM ( $p < 0,001$ ) e HCM ( $p < 0,001$ ), além de GC ( $p = 0,044$ ) e vitamina A ( $p = 0,025$ ).

A análise da influência do uso da Hidroxiureia nos parâmetros avaliados foi realizada somente no grupo AF pois somente 9,5% indivíduos do grupo HbSC faziam uso deste medicamento. Os resultados indicaram que os pacientes com AF que faziam uso de Hidroxiureia apresentavam maiores valores de apoA1 ( $p = 0,041$ ), apoB ( $p = 0,022$ ), CT ( $p = 0,017$ ), LDL-C ( $p = 0,016$ ) e HDL-C ( $p = 0,013$ ), Hb ( $p = 0,001$ ), HbF ( $p = 0,003$ ), VCM ( $p < 0,001$ ), HCM ( $p < 0,001$ ) e menores níveis das bilirrubinas, LDH e LT ( $p < 0,001$  para todos). Porém, o uso de Hidroxiureia não influenciou no perfil antropométrico, nos níveis de vitaminas A e D, e nem nos marcadores de gravidade clínicos: valores da VACM e VdACI, na frequência de hospitalização e de dor ( $p > 0,05$ ) (APÊNDICE J).

## 5.6 ÂNGULO DE FASE: COMPARAÇÃO ENTRE GRUPOS ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC E ASSOCIAÇÃO COM MARCADORES DE GRAVIDADE NA ANEMIA FALCIFORME

O estudo foi conduzido com o objetivo de investigar se o valor médio do AngF difere entre os grupos de indivíduos com AF e controle SDF e se existe associação desta medida com marcadores de gravidade da doença.

No grupo AF, 53,12% ( $n = 34$ ) eram meninos e a mediana de idade foi de 12,50 anos (variando de 7,2 a 17,6), enquanto no grupo SDF 40,62% ( $n = 26$ ) eram meninos e a mediana de idade foi 11,00 anos (variando de 7,4 a 17,9). Não houve diferença significativa na distribuição de meninas e meninos ( $p = 0,215$ ) e na idade ( $p = 0,066$ ) entre os dois grupos. No grupo AF 56,25% ( $n = 36$ ) faziam uso de Hidroxiureia.

Os pacientes do grupo AF apresentaram menores valores do AngF em relação aos controles ( $p < 0,001$ ). Observaram-se também no grupo AF valores inferiores do EZ-IMCI ( $p$

< 0,001), EZ-AI ( $p < 0,001$ ) e superiores de resistência ( $p < 0,001$ ) e do índice massa extracelular/massa celular corporal ( $p = 0,001$ ) (Tabela 14).

Tabela 14 - Comparação dos grupos anemia falciforme e sem doença falciforme de acordo com parâmetros antropométricos e da bioimpedância elétrica

Variável	AF	Controle SDF	p
	(n = 64)	(n = 64)	
	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
AngF °	5,40 (5,20-5,70)	5,90 (5,52-6,30)	<b>&lt;0,001</b>
EZ-IMCI	-0,84 (1,11)	0,003 (1,02)	<b>&lt;0,001</b>
EZ-AI	-1,00 (1,14)	0,22 (0,99)	<b>&lt;0,001</b>
Resistência Ohm	758,43 (104,28)	689,85 (91,25)	<b>&lt;0,001</b>
Reatância Ohm	71,44 (9,67)	71,65 (9,08)	0,900
GC %	20,48 (7,24)	19,98 (5,25)	0,654
MCC Kg	37,85 (3,87)	38,76 (2,80)	0,129
ME Kg	42,65 (39,38-44,15)	41,40 (39,52-42,97)	0,189
ME/MCC	1,11 (1,05-1,16)	1,06 (1,02-1,11)	<b>0,001</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; SDF: grupo sem doença falciforme; EZ-IMCI: escore Z do índice de massa corporal por idade; EZ-AI: escore Z do índice altura por idade; AngF: ângulo de fase; GC, gordura corporal; MCC: massa celular corporal; ME: massa extracelular. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

As diferenças entre as médias do AngF permaneceram mesmo após analisar separadamente por sexo, faixa etária e estado antropométrico (Tabela 15).

Na AF, o valor do AngF não foi influenciado pelo uso de Hidroxiureia (5,38° para ambos;  $p = 0,966$ ) nem pela co-herança de  $\alpha$ -tal (co-herança  $\alpha$ -tal: 5,49 e sem co-herança  $\alpha$ -tal: 5,34;  $p = 0,323$ ).



Tabela 15 - Valores médios ou medianos do ângulo de fase de acordo com as variáveis demográficas e antropométricas nos indivíduos com anemia falciforme e sem doença falciforme

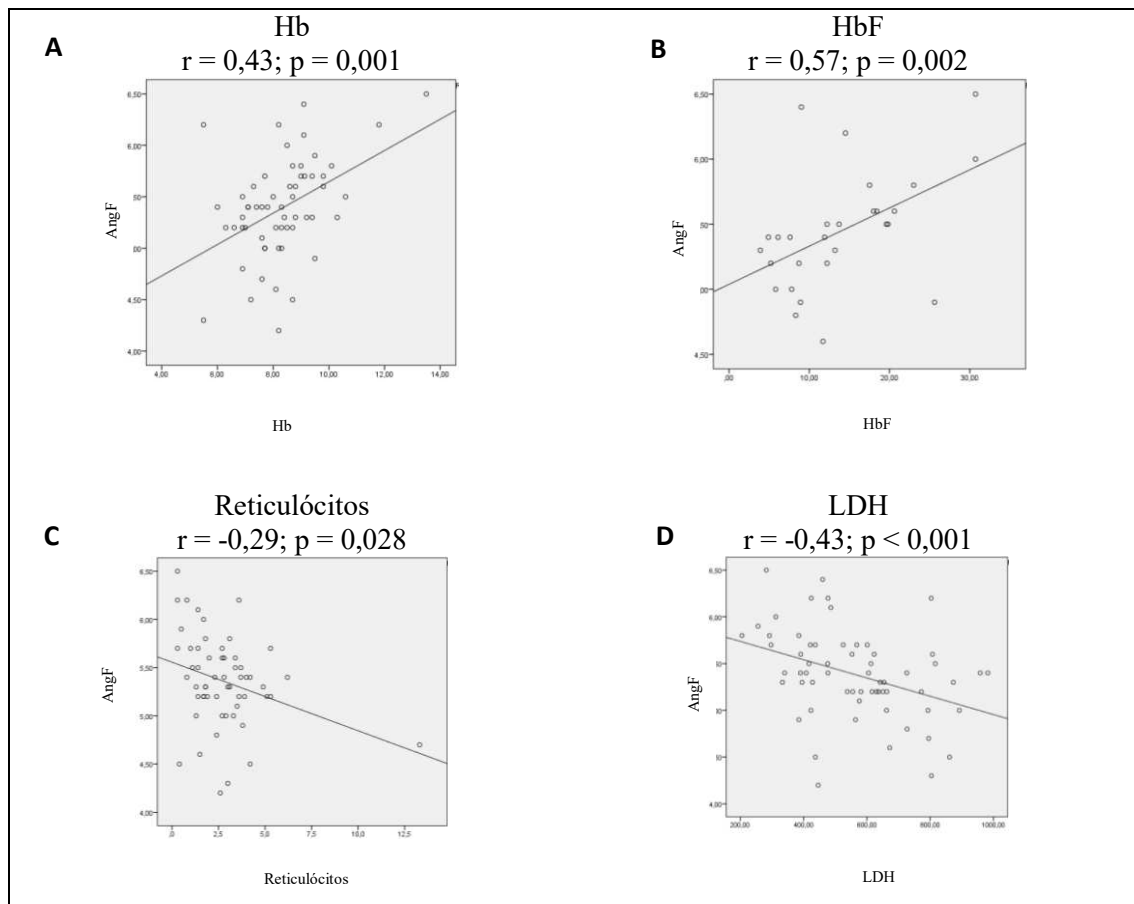
Variáveis	AF		Controle SDF		p
	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	n	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
<i>Demográfica</i>					
Meninos	34	5,31 (0,43)	26	6,07 (0,47)	<b>&lt;0,001</b>
Meninas	30	5,46 (0,51)	28	5,78 (0,45)	<b>&lt;0,001</b>
< 12 anos	27	5,29 (0,45)	45	5,80 (0,49)	<b>&lt;0,001</b>
≥ 12 anos	37	5,44 (0,47)	19	6,13 (0,34)	<b>&lt;0,001</b>
<i>Antropométrica</i>					
EZ-IMCI < -1	25	5,30 (5,10-5,55)	8	5,60 (5,42-5,77)	<b>0,010</b>
EZ-IMCI ≥ -1	39	5,44 (0,49)	56	5,93 (0,48)	<b>&lt;0,001</b>
EZ-AI < -1	34	5,40 (0,47)	7	6,04 (0,50)	<b>0,015</b>
EZ-AI ≥ -1	30	5,35 (0,47)	57	5,88 (0,47)	<b>&lt;0,001</b>

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; SDF, sem doença falciforme; EZ-IMCI, escore Z do índice de massa corporal por idade; EZ-AI, escore Z do índice altura por idade.  $p < 0,05$ . Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Análises de Correlação de Spearman entre AngF e os marcadores de gravidade clínicos (frequência de hospitalização e de dor, VACM e VdACI), hematológicos (reticulócitos, Hb, Hb, HbF, VCM, HCM, LT e plaquetas) e bioquímicos (LDH e bilirrubinas) indicaram correlações positivas do AngF com Hb ( $r = 0,43$ ;  $p = 0,001$ ; Figura 16A) e HbF ( $r = 0,57$ ;  $p = 0,002$ ; Figura 16B) e negativas com reticulócitos ( $r = -0,29$ ;  $p = 0,028$ ; Figura 16C) e LDH ( $r = -0,43$ ;  $p < 0,001$ ; Figura 16D). Para as demais variáveis não foram observadas correlações significativas ( $p > 0,05$ ).

Figura 16 - Correlação entre ângulo de fase e marcadores hematológicos e lactato desidrogenase em indivíduos com anemia falciforme



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; LDH, lactato desidrogenase. Teste de Correlação de Spearman.

Análise de regressão linear múltipla indicou associação positiva do AngF com os níveis de Hb e HbF e negativa com reticulócitos e LDH (Tabela 16).

Análises da área sob a curva ROC foram realizadas para verificar a acurácia da variável AngF na predição de valores mais alterados de marcadores de gravidade, sendo eles: LDH acima de 610 U/L, reticulócitos acima do percentil 80 (3,74%), Hb e HbF abaixo do percentil 20 (7,10 g/dL e 7,30% respectivamente).

Tabela 16 - Associação entre estado ângulo de fase e marcadores de gravidade na anemia falciforme em análise de regressão linear múltipla

Variável	$\hat{\beta}$	IC	p
Hemoglobina g/dL ( $R^2 = 0,31$ ; $p = 0,004$ )			
Constante	0,686	-2,941 a 4,313	0,706
AngF	1,318	0,650 a 1,986	<b>&lt;0,001</b>
Hidroxiureia	0,962	0,330 a 1,593	<b>0,004</b>
Hemoglobina fetal % ( $R^2 = 0,62$ ; $p = 0,011$ )			
Constante	-28,020	-50,733 a -5,308	0,018
AngF	7,417	3,267 a 11,567	<b>0,001</b>
EZ-AI	2,303	0,589 a 4,017	<b>0,011</b>
Hidroxiureia	7,667	3,750 a 11,584	<b>&lt;0,001</b>
Reticulócitos <sup>1</sup> % ( $R^2 = 0,14$ ; $p = 0,005$ )			
Constante	4,027	1,791 a 6,264	0,001
AngF	-0,622	-1,038 a -0,206	<b>0,005</b>
Hidroxiureia	-0,199	-0,587 a 0,189	0,309
LDH U/L ( $R^2 = 0,32$ ; $p = 0,001$ )			
Constante	1463,974	1003,972 a 1923,976	<0,001
AngF	-151,481	-236,162 a -66,801	<b>0,001</b>
Hidroxiureia	-154,663	-234,759 a -74,566	<b>&lt;0,001</b>

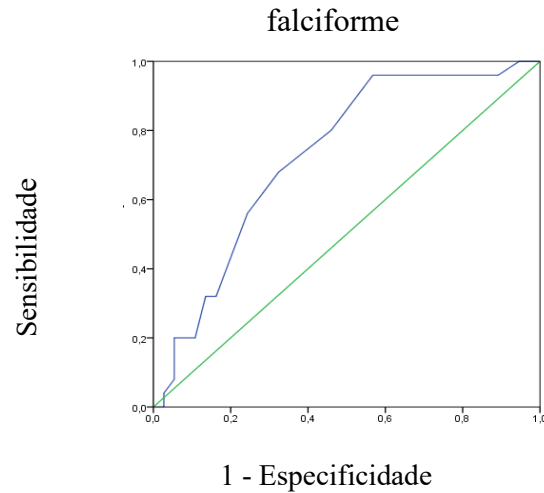
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota:  $\hat{\beta}$ , coeficiente de regressão; IC, intervalo de confiança; EZ-AI, escore Z do índice altura para idade; apoA1, apolipoproteína A1; LDH, lactato desidrogenase. Hidroxiureia, idade e sexo, escore z do índice de massa corporal e da altura para a idade foram incluídos em todas as análises. <sup>1</sup>Os valores de reticulócitos passaram por transformação logarítmica. Resultados significativos em negrito ( $p < 0,05$ ).

O AngF apresentou poder preditivo significativo na alteração da LDH na população de indivíduos com AF, com 73% de acurácia em predizer intensa hemólise ( $p = 0,003$ ; IC: 0,60 – 0,85). O valor do AngF de  $5,45^\circ$  apresentou sensibilidade de 80% e especificidade de 54% ( $p = 0,003$ ) (Figura 17). Por outro lado, o AngF não foi um preditor para alteração dos níveis de reticulócitos acima do percentil 80 ( $p = 0,106$ ) e dos valores de Hb e HbF abaixo do percentil 20 ( $p > 0,05$ ).

Adicionalmente, o valor do percentil 50 também foi avaliado para reticulócitos (2,70%), LDH (559,50 U/L), Hb (8,30 g/dL) e HbF (12,20%). O mesmo ponto de corte do AngF ( $5,45^\circ$ ) apresentou 81% de sensibilidade e 61% de especificidade em predizer Hb com 73% de acurácia ( $p = 0,002$ ) (Figura 18) e 87% de sensibilidade e 85% de especificidade em predizer HbF com 84% de acurácia ( $p = 0,002$ ) (Figura 19) mas, não foi significativo para reticulócitos ( $p = 0,181$ ).

Figura 17 - Curva ROC do ângulo de fase e lactato desidrogenase em indivíduos com anemia

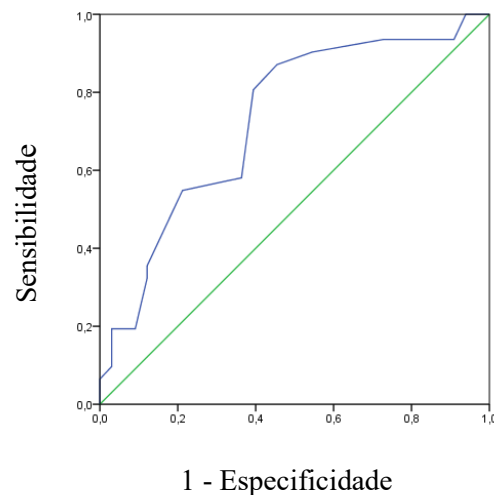


Ponto de corte AngF °	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia (95% IC)	p
5,45	80%	54%	73% (60 – 85)	0,003

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AngF, ângulo de fase. Ponto de corte para lactato desidrogenase corresponde ao valor de intensa hemólise (610 U/L).

Figura 18 - Curva ROC do ângulo de fase e hemoglobina na anemia falciforme

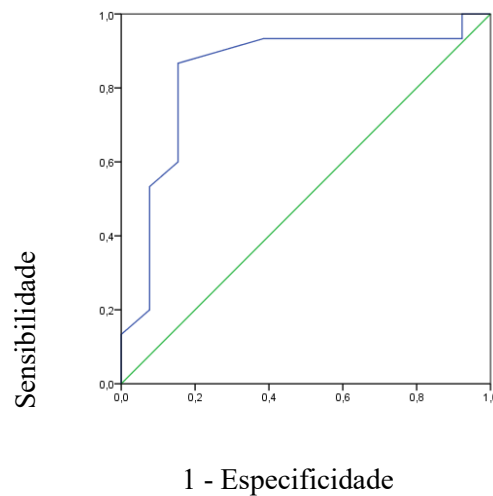


Ponto de corte AngF °	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia (95% IC)	p
5,45	81 %	61%	73% (60 – 85)	0,002

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AngF, ângulo de fase. Ponto de corte para hemoglobina corresponde ao valor do percentil 50 da população do estudo com anemia falciforme (8,30 g/dL).

Figura 19 - Curva ROC do ângulo de fase e hemoglobina fetal na anemia falciforme



Ponto de corte AngF <sup>o</sup>	Sensibilidade	Especificidade	Acurácia (95% IC)	p
5,45	87%	85 %	84% 68 - 100	0,002

Fonte: próprio autor.

Nota: AngF, ângulo de fase. Ponto de corte para hemoglobina fetal corresponde ao valor do percentil 50 da população do estudo com anemia falciforme (12,20%).

### 5.7 POLIMORFISMOS NO GENE CETP

Foram genotipados três SNPs, rs3764261, rs183130 e rs247616 do gene *CETP* que, reconhecidamente, modulam o metabolismo de lipídios, principalmente HDL-C. A frequência do alelo menor (MAF) de cada SNP foi consistente com o esperado em diferentes populações de acordo com os dados do Projeto 1000 Genomas (Tabela 17).

Os SNPs avaliados estavam em equilíbrio de *Hardy-Weinberg* ( $p > 0,05$ ) e foram considerados para a análise de associação. As análises no *software Haploview* confirmaram alto desequilíbrio de ligação entre os três SNPs (rs183130 x rs247616:  $D' = 1,0$  e  $R^2 = 1,0$ ; rs183130 x rs3764261:  $D' = 1,0$  e  $R^2 = 0,82$ ; rs247616 x rs3764261:  $D' = 1,0$  e  $R^2 = 0,82$ ) e identificaram um haplobloco formado por três haplótipos das variantes avaliadas (CCC, TTA e CCA) (Tabela 18; Figura 20). Os resultados dos genótipos envolvendo os SNPs rs183130 e rs247616, por estarem em completo desequilíbrio de ligação ( $D' = 1,0$  e  $R^2 = 1,0$ ), foram os mesmos em todas as análises e por isso são apresentados juntos.

Tabela 17 - Comparação entre as frequências alélicas da população de estudo com doença falciforme e frequências mundiais dos alelos de menor frequência dos polimorfismos analisados do gene *CETP*

	rs247616 16:56989590 C>T	rs183130 16:56991363 C>T	rs3764261 16:56993324 C>A
MAF	0,28	0,28	0,32
População de estudo <sup>1</sup>	0,28	0,28	0,32
Global <sup>2</sup>	0,27	0,27	0,29

Fonte: <sup>1</sup>Elaborado pelo autor (2020); <sup>2</sup>Projeto 1000Genome.

Nota: MAF: frequência do alelo menor; EAS: leste asiático; SAS: sul da Ásia; AFR: africano; EUR: europeu; AMR: américas. SNP: polimorfismo de um único nucleotídeo. rs247616, NC\_000016.9:g.56989590; rs183130, NC\_000016.9:g.56991363; rs3764261, NC\_000016.9:g.56993324.

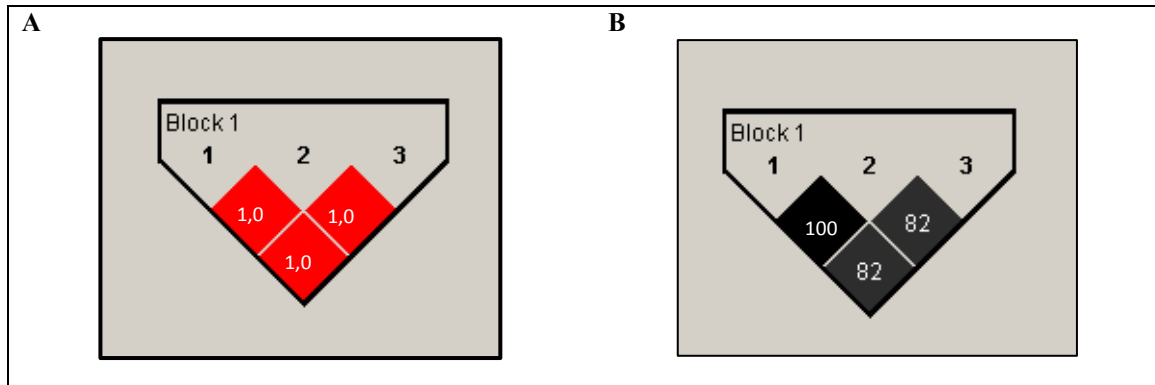
Tabela 18 - Distribuição genotípica e dos haplótipos de polimorfismos do gene *CETP* dos participantes com doença falciforme

	Doença Falciforme (n = 136)		AF (n = 75)		HbSC (n = 61)	
	Frequência	n	Frequência	n	Frequência	n
rs183130 e rs247616						
CC	0,51	69	0,51	38	0,51	31
CT	0,43	58	0,40	30	0,46	28
TT	0,06	9	0,09	7	0,03	2
HW - p	> 0,05		> 0,05		> 0,05	
rs3764261						
CC	0,456	62	0,44	33	0,47	29
CA	0,449	61	0,44	33	0,46	28
AA	0,096	13	0,12	9	0,07	4
HW - p	> 0,05		> 0,05		> 0,05	
Haplótipos						
CCC	0,672		0,651		0,705	-
TTA	0,286		0,301		0,262	-
CCA	0,042		0,048		0,033	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC; n, número de indivíduos que realizaram a análise; HW-p, equilíbrio de *Hardy-Weinberg* - p valor. Teste Qui-Quadrado de Pearson  $p > 0,05$ . Frequência dos haplótipos definida em análises no *software Haploview* (<https://www.broadinstitute.org>).

Figura 20 - Alto desequilíbrio de ligação e  $r^2$  dos haplótipos dos SNPs do gene *CETP*



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: (A) Desequilíbrio de ligação; (B)  $r^2$ . (1) rs247616, (2) rs183130 e (3) rs3764261. Análises realizadas no *software Haploview* (<https://www.broadinstitute.org>).

## 5.8 POLIMORFISMO NO GENE *CETP* E INFLUÊNCIA NO PERFIL LIPÍDICO DE INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME

O efeito de dominância do alelo de menor frequência de rs3764261 (C>A) indicou níveis mais altos de apoA1 ( $p = 0,003$ ), HDL-C ( $p = 0,011$ ) e mais baixos para a razão TG/HDL-C ( $p = 0,024$ ) quando comparados aos genótipos CA + AA *versus* CC (Tabela 19).

Tabela 19 - Avaliação dos efeitos de dominância do alelo de menor frequência do polimorfismo rs3764261 do gene *CETP* em indivíduos com doença falciforme

rs3764261 C>A	Modelo da dominância		p
	CC (n=58)	CA + AA (n=73)	
	Mediana (Q1-Q3)	Mediana (Q1-Q3)	
ApoA1 mg/dL	99,00 (92,75-110,25)	108,00 (100,00-121,50)	<b>0,003</b>
ApoB mg/dL	59,00 (48,00-74,25)	59,00 (49,00-67,00)	0,677
CT mg/dL	113,50 (106,75-137,00)	117,00 (107,00-135,00)	0,545
LDL-C mg/dL	60,20 (52,95-80,90)	62,20 (51,60-75,10)	0,913
Não-HDL-C mg/dL	74,50 (69,75-98,00)	79,00 (66,50-93,00)	0,799
HDL-C mg/dL	36,00 (34,00-41,00)	40,00 (35,00-45,00)	<b>0,011</b>
TG mg/dL	82,50 (59,00-106,25)	76,00 (57,00-91,50)	0,252
TG/HDL-C	2,11 (1,89-2,73)	2,00 (1,49-2,41)	<b>0,024</b>
AIP	-0,04 (-0,13 - 0,01)	-0,05 (-0,14 - -0,02)	0,373

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: n, número de participantes; Dp, desvio padrão; Q1-Q3, primeiro e terceiro quartis; apoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma. Resultados das análises por teste U de *Mann Whitney*. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

A análise de dominância do alelo de menor frequência dos SNPs rs183130 e rs247616 (C>T; genótipos CT + TT *versus* CC) mostrou diferenças significativas com maiores níveis de apoA1 ( $p = 0,006$ ) e HDL-C ( $p = 0,004$ ) e menores valores da razão TG/HDL-C ( $p = 0,024$ ) (Tabela 20).

Não foram observados efeitos nos modelos de recessividade de nenhuma das variantes avaliadas do gene CETP (rs3764261 genótipos AA *versus* CA + CC; rs183130 e rs247616 genótipos TT *versus* CT + CC) (dados não apresentados).

Tabela 20 - Avaliação dos efeitos de dominância do alelo de menor frequência dos polimorfismos rs183130 e rs247616 do gene *CETP* em indivíduos com doença falciforme

rs183130 e rs247616 C/T	Modelo da dominância		p
	CC (n = 65)	(CT + TT) (n = 66)	
	Média (Dp) ou Mediana (Q1-Q3)	Média (Dp) ou Mediana (Q1-Q3)	
ApoA1 mg/dL	101,00 (93,50-111,50)	108,50(100,00-122,00)	<b>0,006</b>
ApoB mg/dL	62,60(17,26)	59,21 (14,82)	0,231
CT mg/dL	115,00 (106,50-138,00)	117,00 (107,00-135,00)	0,653
LDL-C mg/dL	61,80 (52,90-80,20)	61,80 (52,90-80,20)	0,758
Não-HDL-C mg/dL	75,00 (69,50-99,00)	78,50 (65,75-92,50)	0,546
HDL-C mg/dL	36,00 (34,00-41,00)	40,00 (35,00-46,00)	<b>0,004</b>
TG mg/dL	84,00 (60,00-106,50)	71,50 (56,00-89,25)	0,051
TG/HDL-C	2,13 (1,90-2,64)	1,93 (1,47-2,36)	<b>0,005</b>
AIP	-0,04 (-0,13 - -0,01)	-0,06 (-0,14 - -0,02)	0,107

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: n, número de participantes; Dp, desvio padrão; Q1-Q3, primeiro e terceiro quartis; apoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Análise do efeito das variantes de CETP sobre os níveis de HDL-C, realizada pelo aplicativo *Haploview*, indicou diferenças na distribuição de casos (HDL-C < 40 mg/dl) e controles (HDL-C  $\geq$ 40 mg/dL). Os alelos de menor frequência dos SNPs rs247616 e rs183130 apresentaram maior número de indivíduos do grupo controle (Tabela 21). Não houve associação significativa para os demais marcadores do perfil lipídico e de gravidade clínica com as variantes (dados não apresentados).



Tabela 21 - Associação alélica dos polimorfismos no gene *CETP* em relação aos níveis de HDL-C em indivíduos com doença falciforme

SNP	Alelo de menor frequência	Razão caso/ controle	X <sup>2</sup>	p
rs247616	T	39:67, 36:120	5,811	<b>0,015</b>
rs183130	T	39:67, 36:120	5,811	<b>0,015</b>
rs3764261	A	41:65, 45:111	2,768	0,096

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: Associação investigada pelo *software Haploview* (<https://www.broadinstitute.org>). Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

Análises no *Haploview* também foram realizadas com os haplótipos do gene *CETP* e marcadores do perfil lipídico nos indivíduos com DF. O haplótipo TTA foi associado com alto HDL-C ( $\geq 40$  mg/dl;  $p = 0,015$ ) e menor razão TG/HDL-C ( $\leq 2,0$ ;  $p = 0,047$ ) (Tabela 22).

Tabela 22 - Haplótipos das variantes do gene *CETP* e associações com parâmetros lipídicos em indivíduos com doença falciforme

Haplótipos	Caso n	Controle n	X <sup>2</sup>	p
HDL-C				
CCC	65	41	2,768	0,096
TTA	39	67	5,811	<b>0,015</b>
CCA	2	104	2,365	0,124
TG/HDL-C				
CCC	74	44	1,940	0,163
TTA	41	77	3,935	<b>0,047</b>
CCA	3	115	1,464	0,226

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG/HDL-C, razão triglicerídios e lipoproteína de alta densidade. Caso: HDL-C  $< 40$  mg/dl e controle: HDL-C  $\geq 40$  mg/dL; caso: TG/HDL-C  $> 2,0$  e controle: TG/HDL-C  $\leq 2,0$ . Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito. Análises realizadas no *software Haploview* (<https://www.broadinstitute.org>).

As análises do efeito dos SNPs, considerando os haplótipos do gene *CETP* foram realizadas separadamente nos grupos AF e HbSC. Nos indivíduos do grupo AF a associação do haplótipo TTA com HDL-C ( $p = 0,044$ ) permaneceu, mas não com a razão TG/HDL-C. No grupo HbSC, o haplótipo TTA se manteve associado com a razão TG/HDL-C ( $p < 0,05$ ), mas não ocorreu associação com HDL-C. Adicionalmente no grupo HbSC, o haplótipo CCC foi associado com a razão TG/HDL-C, sendo observado maior frequência de casos (TG/HDL-C  $>$

2,0) com este haplótipo (dados não apresentados). Análises envolvendo outros marcadores do perfil lipídico e de gravidade clínica não foram significativas (dados não apresentados).

## 5.9 VARIÁVEIS EXPLICATIVAS DOS NÍVEIS DE HDL-C EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME

Os valores de HDL-C foram dicotomizados para avaliar se os marcadores de gravidade da anemia poderiam diferir entre as faixas de baixo HDL-C ( $< 40$  mg/dL) ou alto ( $\geq 40$  mg/dL). Pacientes do grupo AF com baixos níveis de HDL-C apresentaram maiores valores de reticulócitos e LT além de menores níveis de Hb (APÊNDICE L). No grupo HbSC, nenhuma significância foi observada nesta análise (dados não apresentados).

Considerando os menores níveis de Hb, maiores de reticulócitos e LT no grupo de baixo HDL-C ( $< 40$  mg/dL) e as associações observadas do HDL-C com LT e com os polimorfismos do gene *CETP*, realizou-se análise de regressão logística binária incluindo o HDL-C (caso e controle) como variável dependente e, em cada análise, um polimorfismo e um marcador laboratorial de gravidade como variáveis independentes. Para investigar a necessidade de ajustamento dos modelos foi avaliada a existência de correlação do HDL-C com a idade e EZ-IMCI e teste qui-quadrado para avaliar associação do sexo com HDL-C, sendo observada significância apenas para a idade ( $p < 0,05$ ). Desta forma, a idade foi considerada na análise, e esta foi realizada para toda a população com DF e, posteriormente, por grupo de acordo com o genótipo da DF.

Os resultados indicaram que a ausência dos alelos de menor frequência nos três SNPs do gene *CETP* no modelo de dominância, aumenta em aproximadamente três vezes a razão de chance do indivíduo com DF ter HDL-C baixo. No mesmo modelo observou-se que os níveis aumentados de Hb conferem um fator protetor de níveis baixo de HDL-C (Tabela 23). Outros marcadores de gravidade não foram associados (dados não apresentados).

Estes resultados foram semelhantes aos observados nas análises somente com os indivíduos com AF (APÊNDICE M), mas no grupo HbSC não foram observadas associações.

Tabela 23 - Associação de subgrupos caso e controle em relação aos níveis de HDL-C com hemoglobina e polimorfismos no gene *CETP* em modelo de dominância na doença falciforme

Variáveis	p	OR IC 95%	Variáveis	p	OR IC 95%
Hemoglobina	<b>0,026</b>	0,793 0,646 - 0,973	Hemoglobina	<b>0,012</b>	0,758 0,611-0,940
rs247616 e rs183130 genótipo CC	<b>0,002</b>	3,601 1,603-8,087	rs3764261 genótipo CC	<b>0,007</b>	3,048 0,1362-6,820
Idade	<b>0,032</b>	1,177 1,014-1,367	Idade	<b>0,036</b>	1,170 1,010-1,355

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: Modelo  $p < 0,05$ ,  $n = 125$  indivíduos. O grupo de referência para variável categórica foi TT+CT para rs247616 e rs183130 e AA+CA para rs3764261; caso: HDL-C  $< 40$  mg/dl e controle: HDL-C  $\geq 40$  mg/dL. A variável idade entrou em todas as análises, mas não foi significativa.

O efeito de haplótipos TTA nos níveis de HDL-C (caso e controle) foi investigado em dois grupos de genótipos com presença ou ausência do haplótipo TTA (CCC/CCC, CCC/ACC *versus* TTA/TTA, CCC/TTA, ACC/TTA) juntamente com cada marcador laboratorial de gravidade, conforme análise anterior, e a idade. O modelo 2 foi ajustado para a variável Hidroxiureia (uso ou não uso) para as análises com toda população (AF e HbSC) e para o grupo AF, visto os resultados em análises anteriores mostrarem maiores níveis de HDL-C no grupo AF em uso de Hidroxiureia. A razão de chance de ter baixos níveis de HDL-C é 3,4 vezes maior na ausência do haplótipo TTA no genótipo de indivíduo com DF.

Em relação a Hb, níveis altos conferem proteção contra níveis baixos de HDL-C, enquanto a variável Hidroxiureia não foi significativa (Tabela 24). Resultados semelhantes para o haplótipo de *CETP* foram observados no grupo AF (Tabela 25) e no grupo HbSC (Tabela 26), exceto para a variável Hb, onde os resultados foram significativos apenas no grupo AF. Outros marcadores de gravidade foram analisados não sendo significativos para os grupos avaliados.

Tabela 24 - Análise da associação de subgrupos caso e controle em relação aos níveis de HDL-C com hemoglobina e genótipos do gene *CETP* em indivíduos com doença falciforme

Variáveis	Modelo 1 <sup>a</sup>			Modelo 2 <sup>b</sup>		
	$\hat{\beta}$	p	OR IC 95%	$\hat{\beta}$	p	OR IC 95%
Hemoglobina	0,291	<b>0,009</b>	0,748 0,601; 0,931	0,311	<b>0,007</b>	0,732 0,583; 0,920
Ausência de TTA*	-1,234	<b>0,003</b>	3,436 1,530-7,715	-1,255	<b>0,002</b>	3,506 1,556; 7,902
Idade	-0,164	<b>0,031</b>	1,178 1,015; 1,367	-0,158	<b>0,040</b>	1,171 1,007; 1,361
Hidroxiureia	-	-	-	-0,359	0,411	1,432 0,608; 3,370

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: \*Referência “presença de haplótipo TTA”. n = 123. Modelos p < 0,05.  $\hat{\beta}$ , coeficiente da regressão; OR, risco relativo, IC, intervalo de confiança. Resultados significativos estão em negrito. <sup>a</sup> análise de regressão logística modelo 1, com genótipos de haplótipos agrupados por presença ou ausência de TTA e hemoglobina como variáveis independentes. Caso: HDL-C < 40 mg/dl e controle: HDL-C ≥ 40 mg/dL. <sup>b</sup> análise de regressão logística modelo 2, semelhante ao modelo 1 + Hidroxiureia (uso ou não uso) ajustando o modelo.

Tabela 25 - Análise da associação de subgrupos caso e controle em relação aos níveis de HDL-C com hemoglobina e genótipos do gene *CETP* em indivíduos com anemia falciforme

Variáveis	Modelo 1 <sup>a</sup>			Modelo 2 <sup>b</sup>		
	$\hat{\beta}$	p	OR IC 95%	$\hat{\beta}$	p	OR IC 95%
Hemoglobina	0,661	<b>0,005</b>	0,516 0,327; 0,815	0,667	<b>0,008</b>	0,513 0,315-0,838
Ausência de TTA *	-1,222	<b>0,046</b>	3,393 1,021-11,275	-1,218	<b>0,048</b>	3,380 1,010; 11,311
Idade	-0,215	<b>0,043</b>	1,240 1,007; 1,529	-0,216	<b>0,044</b>	1,242 1,005; 1,533
Hidroxiureia	-	-	-	-0,039	0,952	1,039 0,296; 3,645

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: \*Referência “presença de haplótipo TTA”. n = 69. Modelos p < 0,05.  $\hat{\beta}$ , coeficiente da regressão; OR, risco relativo, IC, intervalo de confiança. Resultados significativos estão em negrito. <sup>a</sup> análise de regressão logística modelo 1, com genótipos de haplótipos agrupados por presença ou ausência de TTA e hemoglobina como variáveis independentes. Caso: HDL-C < 40 mg/dl e controle: HDL-C ≥ 40 mg/dL. <sup>b</sup> análise de regressão logística modelo 2, semelhante ao modelo 1 + Hidroxiureia (uso ou não uso) ajustando o modelo.

Tabela 26 - Análise associação de subgrupos caso e controle em relação aos níveis de HDL-C e genótipos do gene *CETP* em indivíduos com doença SC

Variáveis	$\hat{\beta}$	p	OR IC 95%
Ausência de TTA *	-1,226	<b>0,033</b>	3,409 1,101-10,557

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: \*Referência “presença de haplótipo TTA”. n = 54. Modelos  $p < 0,05$ .  $\hat{\beta}$ , coeficiente da regressão; OR, risco relativo, IC, intervalo de confiança. Resultados significativos estão em negrito. Análise de regressão logística com genótipos de haplótipos agrupados por presença ou ausência de TTA como variável independente. Caso: HDL-C < 40 mg/dl e controle: HDL-C  $\geq$  40 mg/dL. As variáveis idade e hemoglobina entraram nas análises, mas não foram significativas. Análises adicionais com Hidroxiureia não alteraram os resultados.

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo abordou os aspectos nutricionais relacionados ao perfil antropométrico, lipídico e ao estado de vitaminas A e D, PTH, como também avaliou marcadores laboratoriais de gravidade em uma população de crianças e adolescentes com dois tipos da DF: AF e HbSC. Adicionalmente, foram medidos os valores de AngF em indivíduos com AF e sem a doença e buscou-se determinar se este parâmetro está associado com a gravidade da anemia pelos marcadores laboratoriais e clínicos investigados. Além das análises comparativas entre os grupos (principalmente entre AF e HbSC, sexo, uso e não uso de Hidroxiureia) e a investigação da interrelação dos parâmetros avaliados, foram incluídas análises da co-herança da  $\alpha$ -tal e de três polimorfismos rs247616, rs183130 e rs3764261 no gene *CETP* envolvido na homeostase lipídica.

### 6.1 DIFERENÇAS ENTRE ANEMIA FALCIFORME E DOENÇA SC

A AF é considerada a forma mais grave quando comparada a HbSC (ALELUIA *et al.*, 2017a; GARNIER *et al.*, 2017; SANTIAGO *et al.*, 2017). Como esperado, o presente estudo indicou heterogeneidade hematológica e bioquímica entre os pacientes com AF e HbSC pela observação de maiores valores de reticulócitos, LDH, bilirrubinas, LT e menores de Hb no grupo AF, caracterizando um perfil hemolítico e inflamatório mais proeminente, alinhado a resultados encontrados em outros trabalhos (ALELUIA *et al.*, 2017a; MANDESE *et al.*, 2019; MÖCKESCH *et al.*, 2017).

As diferenças laboratoriais entre os dois tipos da DF (AF e HbSC) também são observadas nas manifestações clínicas. Na HbSC, a função microvascular é melhor preservada e ocorre menor frequência de úlceras de perna, hipertensão pulmonar, priapismo e acidente vascular cerebral quando comparado aos AF (MÖCKESCH *et al.*, 2017), entretanto, devido a maior viscosidade no sangue aumentam-se os riscos para retinopatia, distúrbios otológicos e osteonecrose (MÖCKESCH *et al.*, 2017) além de apresentarem alta frequência na ocorrência de episódios de dor e colelitíase (GUALANDRO *et al.*, 2015). Na população estudada observou-se maior frequência de hospitalizações no grupo AF (quando foi considerada a população em uso e não uso de Hidroxiureia), embora não tenha sido observada esta diferença ao incluir na análise somente os indivíduos sem uso de Hidroxiureia. Este resultado pode ser devido aos pacientes AF que não usavam hidroxiureia não serem eletivos para uso do

medicamento por apresentarem parâmetros laboratoriais de menor gravidade (MANDESE, V. *et al.*, 2019) e, portanto, seus fenótipos clínicos serem semelhantes aos pacientes HbSC. A frequência de dor não apresentou diferença significativa entre os dois grupos, o que está de acordo com estudo prévio (ALELUIA *et al.*, 2017a).

A maior gravidade dos indivíduos do grupo AF foi acompanhada por maior déficit do estado nutricional, indicado pelas variáveis EZ-IMCI, EZ-AI, medidas de composição corporal, vitamina A e D como também as do perfil lipídico. Observou-se que o déficit no peso é resultado de um comprometimento tanto da reserva energética quanto protéica, com menores valores do  $\Sigma$ DC e AMB. Vários estudos tem mostrado maior déficit de peso e altura nas crianças com DF em comparação com a população geral sem a doença (ODETUNDE *et al.*, 2016; VANDERJAGT *et al.*, 2002b; MANDESE *et al.*, 2019). O intenso catabolismo, *turnover* proteico, hemólise crônica, infecções, taxa cardíaca e eritropoiese aumentadas (CATANZARO; KOUMBOURLIS, 2014; NOGUEIRA *et al.*, 2014), baixa ingestão energética devido supressão do apetite por mediadores inflamatório e o elevado gasto energético (REID, 2013) são fatores sugeridos para explicar essa diferença.

Adicionalmente, constatamos menores valores das vitaminas A e D no grupo AF. Menores níveis de vitamina D também foram encontrados em indivíduos pediátricos com AF em comparação com HbSC em estudo prévio (WINTERS; KETHMAN; KANTER, 2014), entretanto, diferenças nos níveis de micronutrientes entre os genótipos não foram encontradas em outros estudos (KUVIBIDILA *et al.*, 2018; MARTYRES *et al.*, 2016).

Aproximadamente 18% da população estudada com AF e 8% no grupo HbSC apresentaram hipertrigliceridemia (Figura 15). Embora a distribuição dos indivíduos nas classificações dos níveis de TG se mostrou semelhante entre os dois grupos, observaram-se maiores valores medianos no grupo AF na população acima de 10 anos (Tabela 9), discordando com o observado em uma população envolvendo crianças, adolescentes e adultos, onde os valores medianos foram semelhantes entre os dois tipos de DF (ALELUIA *et al.*, 2017a). Entretanto, a falta de análise por faixa etária neste estudo limita a comparação com nossos resultados.

A dislipidemia na população estudada foi caracterizada também por hipocolesterolemia com indivíduos do grupo AF sem uso de Hidroxiureia apresentando baixos níveis de ApoA1 e HDL-C em comparação com HbSC (Tabela 9). Aleluia *et al.* (2017a) também observaram menores valores de HDL-C nos indivíduos com AF em comparação com HbSC. É importante destacar que a Hidroxiureia mascarou a diferença dos níveis de lipídios observada entre AF e

HbSC e por isso foi importante incluir análises com os grupos de pacientes que não faziam uso de Hidroxiureia.

Os baixos níveis de HDL-C e maiores de TG no grupo AF refletiram na maior razão TG/HDL-C neste grupo, mas não foi observado nos resultados de Valente-Frossard *et al.* (2020), os quais não verificaram diferenças nestes três marcadores do perfil lipídico entre os indivíduos dos grupos AF e HbSC. A razão TG/HDL-C foi proposta inicialmente por Gaziano *et al.* (1997), que mostrou ser superior a diferentes marcadores lipídicos como indicador de doença coronariana em adultos (LUZ *et al.*, 2008; GAZIANO *et al.*, 1997), existindo correlação negativa com o tamanho de partícula de LDL-C (MARUYAMA; IMAMURA; TERAMOTO, 2003). Entretanto, os desdobramentos das diferenças do perfil lipídico observadas entre os grupos AF e HbSC em nosso estudo, principalmente em relação aos níveis de TG, HDL-C e da razão TG/HDL-C necessitam ser investigados, mas poderiam estar envolvidos nas diferenças observadas das manifestações cardíacas como os piores valores dos parâmetros ecocardiográficos na AF em comparação ao grupo HbSC (GUEDENEY *et al.*, 2018).

## 6.2 ASSOCIAÇÃO DO PERFIL ANTROPOMÉTRICO E ESTADO DE VITAMINAS A E D COM OS MARCADORES DE GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME

Os resultados indicaram a estreita relação entre o estado nutricional e a gravidade da doença, principalmente no grupo AF. No estudo de Zemel *et al.* (2007) os autores identificaram associação do peso, altura e EZ-IMCI com Hb, hematócrito e HbF em meninas com AF, mas não em meninos, mas resultados contraditórios sem associações foram observados (AL-SAQLADI; BIN-GADEEN; BRABIN, 2010). A não associação dos resultados do doppler transcraniano e da Hb com perfil antropométrico está de acordo com o observado por Ghafuri *et al.* (2020).

A vitamina A apresentou relação com o grau hemolítico na AF, uma vez que foi observada associação positiva com Hb e negativa com LDH. O estado subótimo dessa vitamina está relacionado ao maior número de hospitalizações e foi associado aos menores valores de Hb e hematócrito (DOUGHERTY *et al.*, 2012; SCHALL *et al.*, 2004) e maiores de reticulócitos (SCHALL *et al.*, 2004). O estudo de Behera *et al.* (2012) mostrou também correlação positiva entre os níveis de vitamina A e hematócrito, Hb e contagem de hemácias na AF. Os autores sugeriram que a falcização influencia as concentrações plasmáticas de retinol, pois as células falcizadas são mais susceptíveis ao estresse oxidativo e poderiam apresentar maior requerimento de vitamina A para neutralizar as espécies reativas de oxigênio.



A vitamina A armazenada é perdida quando ocorre ativação das células estreladas em decorrência de dano hepático (BLANER *et al.*, 2009). Na DF, os indivíduos estão expostos a injúria hepática crônica (BANERJEE; OWEN; CHOPRA, 2001), demonstrando comprometimento das funções hepáticas através de alterações dos níveis dos testes bioquímicos de função hepática, BT, ALT, AST e ALP, em comparação com indivíduos SDF. Estas diferenças são mais expressivas em crianças e adolescentes em comparação com adultos (AKUYAM *et al.*, 2017).

A correlação positiva dos níveis de AST com LDH em estudo envolvendo crianças e adolescentes com DF, inclusive em estado estável (NAJIM; HASSAN, 2011), a associação positiva da LDH com os níveis de vitamina A no presente estudo, tanto na AF quanto na HbSC, como também os menores níveis de vitamina A na AF em comparação a HbSC e em meninos, com quadro hemolítico e inflamatório mais graves, sugerem que em indivíduos com DF os baixos níveis de vitamina A se justificam, pelo menos em parte, aos danos hepáticos advindos da própria gravidade fisiopatológica da doença.

Assim, aspectos fisiopatológicos da DF poderiam contribuir para a alta frequência de déficit de vitamina A e para a não resposta à sua suplementação (BROWNELL *et al.*, 2019). Entretanto, essa hipótese deve ser investigada em estudos com metodologia apropriadas.

A frequência de deficiência de vitamina D é variável em crianças e adolescentes com DF (ADEGOKE *et al.*, 2017b; LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015; MARTYRES *et al.*, 2016; OZTAS *et al.*, 2018) e estudo indica ser maior quando comparada a crianças sem a doença (ROVNER *et al.*, 2008). O estado de vitamina D tem influência da latitude (por interferir na intensidade de luz solar), da ingestão alimentar, da cor da pele ou etnia (PATEL *et al.*, 2013; WYKES *et al.*, 2014), da sazonalidade (ROVNER *et al.*, 2008) como também pode ser reflexo da inflamação crônica e da gravidade geral da DF (BOETTGER *et al.*, 2017; WYKES *et al.*, 2014). Alinhado aos resultados deste trabalho, Oztas *et al.* (2018) ao estudarem indivíduos com AF também não encontraram relação dos marcadores inflamatórios com o estado de vitamina D, entretanto, verificaram maior frequência de síndrome torácica aguda nos indivíduos com baixos níveis desta vitamina.

Os benefícios da vitamina D na homeostase do organismo e na prevenção de anormalidades clínicas são conhecidos (MAKARIOU *et al.*, 2011), inclusive na DF (LEE; LICURSI; MCMAHON, 2015; OZTAS *et al.*, 2018; WINTERS; KETHMAN; KANTER, 2014). A relação dos baixos níveis de vitamina D com maior grau hemolítico avaliado por reticulocitose ou por hiperbilirrubinemia (BOETTGER *et al.*, 2017; WINTERS; KETHMAN; KANTER, 2014) e com maior frequência e dias de hospitalizações (MANDESE 2019) foi

observada na população com DF. A correlação inversa da vitamina D com trombospondina 1, uma glicoproteína adesiva derivada de plaquetas e envolvida em processos inflamatórios, e os menores níveis de vitamina D em indivíduos com AF em crise vaso-oclusiva em comparação com o grupo em estado estável, indica sua relação com os aspectos fisiopatológicos da doença falciforme (ADEGOKE *et al.* 2019). O fato de incluir somente indivíduos em estado estável e a falta de informações adicionais sobre eventos clínicos pode justificar parte das diferenças nos resultados observados neste estudo.

### 6.3 ÂNGULO DE FASE NA DOENÇA FALCIFORME: ESTUDOS PRELIMINARES DE ASSOCIAÇÃO COM A GRAVIDADE DA DOENÇA

O AngF é considerado uma ferramenta de triagem para identificação de pacientes em risco devido ao comprometimento do estado nutricional (ZHANG *et al.*, 2014) ou funcional e indicador de sobrevida (NORMAN *et al.*, 2012; ZAMBERLAN *et al.*, 2019). Diferentes situações clínicas como na doença cardíaca (MARINO *et al.*, 2017), transplante de células-tronco (FARIAS *et al.*, 2013) e na doença intestinal inflamatória (WIECH *et al.*, 2018) indicam menores valores desta medida nos pacientes pediátricos em comparação com grupo saudável. A investigação do AngF em crianças e adolescentes com DF é escassa. No presente estudo, a investigação do AngF entre os grupos com AF e SDF mostrou menor valor desta medida no grupo com AF, mesmo quando os grupos foram estratificados por sexo, faixa etária e estado antropométrico. Esses resultados foram semelhantes aos de VanderJagt *et al.* (2002c), que avaliaram 53 indivíduos com DF (AF e HbSC) entre 10 e 18 anos de idade e observaram diferenças significativas nos valores médios de AngF de 6,1° e 6,9° para meninos e 5,9° e 6,5° para meninas com DF e controle, respectivamente.

VanderJagt *et al.* (2002c) sugeriram que o perfil de ácidos graxos poderia explicar, pelo menos em parte, os menores valores de AngF nos pacientes com DF. Enquanto ácidos eicosapentaenoico, docosahexaenoico e docosapentaenoico foram positivamente correlacionados com AngF, ácido oleico apresentou correlação negativa. De fato, proporção menor dos ácidos eicosapentaenoico (20:5, n-3), docosahexaenoico (22:6, n-3) e docosapentaenoico (22:5, n-3) e maior de ácido aracdônico e oleico (18:1, n-9) no plasma foram observados em indivíduos com AF quando comparado ao grupo controle (ASLAN *et al.*, 2015; REN *et al.*, 2005; VANDERJAGT *et al.*, 2002c), sendo sugerido uma relação da proporção destes ácidos graxos no plasma e em membranas de células de indivíduos com DF (REN *et al.*, 2005).

Adicionalmente, a relação do AngF e a gravidade da AF foi demonstrada pela associação desta medida com Hb e LDH e pela sua acurácia em predizer valores altos de LDH e menores níveis de Hb, parâmetros indicadores de hemólise. Esses achados somados a associação positiva do AngF com HbF indicam seu valor prognóstico na AF. Estudos adicionais com inclusão de outras populações com DF e investigação de sua associação com manifestações clínicas contribuirão para confirmar estes resultados.

#### 6.4 INFLUÊNCIA DO PERFIL SOCIOECONÔMICO, DO SEXO NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME

O maior déficit estatural e menores médias de vitamina A observadas nas classes socioeconômicas mais baixas (D-E) nos grupos AF e HbSC, respectivamente, indicam a influência do perfil socioeconômico no estado nutricional de indivíduos com DF, o que está alinhado com resultados prévios (AKODU; DIAKU-AKINWUMI; NJOKANMA, 2012; ESEZOBOR *et al.*, 2016). Adicionalmente, os maiores níveis de BI nestas classes no grupo AF levantam indícios da influência na gravidade da doença.

Nenhuma diferença foi encontrada em relação ao perfil antropométrico relacionado ao peso e altura entre meninos e meninas com DF no presente trabalho. Estudos anteriores com população pediátrica com AF relatam maior déficit em meninos (ESEZOBOR *et al.*, 2016; ZEMEL *et al.*, 2007) e sugerem que um quadro inflamatório mais acentuado e a maior hiperatividade eritróide observada no sexo masculino poderia ser uma das explicações para esta diferença (ESEZOBOR *et al.*, 2016). Entretanto, observamos menores níveis de vitamina A como também de colesterol (apoB, CT, LDL-C e não HDL-C) e maior gravidade da doença nos meninos caracterizada por níveis mais elevados de LDH e LT e menores de Hb. A maior gravidade da AF em meninos também foi reportada na literatura (AL-SAQLADI; BIN-GADEEN; BRABIN, 2010; ZEMEL *et al.*, 2007). Em uma população de crianças e adolescentes com AF acompanhada por quatro anos, observaram-se menores valores de Hb, hematócrito e HbF em meninos em comparação com meninas (ZEMEL *et al.*, 2007). Maiores valores de leucócitos e de amiloide A, um marcador inflamatório, também se mostraram superiores em meninos (AL-SAQLADI; BIN-GADEEN; BRABIN, 2010).

Não foram encontrados relatos investigando diferenças de gênero no perfil lipídico da população pediátrica com AF. Entretanto, em uma população adulta com AF, os níveis de CT, LDL-C, não-HDL-C, HDL-C e apoA1 foram mais baixos nos homens do que nas mulheres (LALANNE-MISTRICH *et al.*, 2018). Além disso, um estudo com crianças e adolescentes sem

a doença falciforme indicou menores níveis de CT, LDL-C, HDL-C, TG e apoA1 em meninos (DELVIN *et al.*, 2010). Mittendorfer *et al.* (2005) sugerem que diferenças de gênero no metabolismo lipídico podem estar relacionadas a diferenças na sensibilidade hormonal dos tecidos-alvo com consequências na utilização de ácidos graxos, na sensibilidade à insulina e na ativação e/ou inativação de genes. Embora, possam existir especificidades no metabolismo lipídico relacionadas ao gênero, a hipocolesterolemia, como observado em nossos resultados com AF, parece decorrer da gravidade da anemia. Assim, uma vez que os meninos também mostraram piores médias ou medianas nos parâmetros de hemólise com menor valor de Hb, sugere-se que a maior gravidade seja, pelo menos em parte, a explicação da hipocolesterolemia mais intensa nesse grupo.

#### 6.5 CO-HERANÇA DE $\alpha$ -TALASSEMIA: INFLUÊNCIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME

A prevalência da deleção do gene HBA -  $\alpha^{3,7}$ kb encontrada no presente estudo está entre os valores observados em outras populações do país com prevalência variando de 14,14% a 22,22% na Bahia (ALELUIA *et al.*, 2017b; YAHOUÉDÉHOU *et al.*, 2019) e 27,3% a 29,9% em Minas Gerais (BELISÁRIO *et al.*, 2015; BELISÁRIO *et al.*, 2010b).

A co-herança de  $\alpha$ -tal reduz os níveis de VCM e HCM em indivíduos com DF (ALELUIA *et al.*, 2017b; BELISÁRIO *et al.*, 2010b; RUMANNEY *et al.*, 2014), o que foi confirmado neste estudo. Resultados de alguns trabalhos tem observado também redução nos níveis de bilirrubina (ALELUIA *et al.*, 2017; RUMANNEY *et al.*, 2014), plaquetas e reticulócitos (BELISÁRIO *et al.*, 2010b; RUMANNEY *et al.*, 2014). Embora a co-herança de  $\alpha$ -tal não tenha implicado em alterações no perfil nutricional do grupo AF em nossa população e em estudo anterior (ALELUIA *et al.*, 2017), no grupo HbSC observou-se menor adiposidade corporal.

A presença de deleção  $\alpha$ -tal reduz as manifestações da disfunção hemolítico-endotelial, oferecendo proteção contra o acidente vascular cerebral (KATO, GLADWIN E STEINBERG, 2007; STEIMBERG 2009; BELISÁRIO 2015). A ausência desta deleção nas crianças aumentou em sete vezes o risco de AVC e em três vezes de doenças cerebrovasculares (BELISÁRIO *et al.*, 2015). Sugere-se que a redução de leucócitos e reticulócitos possa contribuir para reduzir adesão de eritrócitos nas células endoteliais e, desta forma, estarem envolvidos nos mecanismos de proteção da  $\alpha$ -tal (BELISÁRIO *et al.*, 2010b; RUMANNEY *et al.*, 2014).

## 6.6 INFLUÊNCIA DA HIDROXIUREIA NO ESTADO NUTRICIONAL E NA GRAVIDADE DA DOENÇA FALCIFORME

Mais de 50% da população estudada com AF fazia uso da Hidroxiureia e semelhantes a estudos prévios nenhum efeito foi observado do uso de Hidroxiureia no estado antropométrico e níveis de vitamina D (ESEZOBOR *et al.*, 2016; WINTERS; KETHMAN; KANTER, 2014) como também no estado de vitamina A.

A influência da Hidroxiureia no perfil lipídico em indivíduos com AF não foi observada em alguns estudos (LALANNE-MISTRICH *et al.*, 2018; TEIXEIRA *et al.*, 2017). Os maiores níveis de apoA1 e HDL-C na população estudada com AF em uso de Hidroxiureia parece ter ocorrido por efeito indireto deste fármaco, visto a não associação da Hidroxiureia com a HDL-C no modelo multivariado, mas sim desta lipoproteína com os níveis de Hb. Este resultado sugere o efeito do grau da anemia na hipocolesterolemia. Assim, a melhora do subfenótipo de hemólise, com consequente redução da eritropoiese e do consumo de lipídios nesse processo poderia explicar o melhor perfil lipídico em indivíduos em terapia com Hidroxiureia.

Os efeitos da Hidroxiureia nos marcadores de gravidade laboratoriais tais como redução de bilirrubinas, LDH e LT e aumento de Hb e HbF, está bem determinada na literatura (BISPO *et al.*, 2017; KEIKHAEI; YOUSEFI; BAHADORAM, 2015; LOPES DE CASTRO LOBO *et al.*, 2013; PHILLIPS *et al.*, 2018; RIGANO *et al.*, 2018).

Hidroxiureia é um agente citostático que ao induzir a produção de HbF, reduz a polimerização da Hb falciforme (MCGANN; WARE, 2015). Além disso, a Hidroxiureia possui importantes propriedades anti-inflamatórias, pelo efeito indireto de inibir a polimerização da HbS quanto por efeitos anti-inflamatórios diretos (LANARO *et al.*, 2009). Devido a seus efeitos primários, a Hidroxiureia reduz significativamente crises dolorosas e síndrome torácica aguda (BISPO *et al.*, 2017; RIGANO *et al.*, 2018). No Brasil, os pacientes com DF eletivos para uso de Hidroxiureia são aqueles que mostram parâmetros hematológicos de maior gravidade e que refletiriam em complicações clínicas mais graves ao longo da vida. Como nós não avaliamos dados clínicos e laboratoriais anteriores ao uso da Hidroxiureia não foi possível afirmar se o efeito do medicamento reduziu a diferença prévia de gravidade dos indivíduos.

## 6.7 HOMEOSTASE LIPÍDICA NA DOENÇA FALCIFORME: ENVOLVIMENTO DA GRAVIDADE DA DOENÇA E DE POLIMORFISMOS NO GENE CETP

A dislipidemia tem sido considerada um dos subfenótipos da DF (ADEGOKE, OLADOTUN e AKINTUDE, 2016; AKINLADE *et al.*, 2014; TEIXEIRA *et al.*, 2017). No presente estudo foi observada hipocolesterolemia, caracterizada principalmente pelos níveis baixos de HDL-C e apoA1, e casos de hipertrigliceridemia, sendo observada uma relação com alguns marcadores de gravidade da doença. Entre os grupos AF, em uso e não uso de Hidroxiureia, os níveis de TG foram semelhantes, entretanto, a hipocolesterolemia foi menos acentuada no grupo AF em uso do medicamento como também no grupo HbSC. Considerando que estes grupos (AF em uso de Hidroxiureia e HbSC) apresentaram menor gravidade da doença indicada pelos marcadores hematológicos e bioquímicos avaliados, e hipocolesterolemia menos acentuada, é possível indicar a relação da hipocolesterolemia com o quadro mais grave da doença e assim a presença deste subfenótipo na DF.

De forma geral, os indivíduos apresentaram as lipoproteínas dentro dos intervalos de referência normais, porém com valores de LDL-C e apoB situados distantes do limite inferior do intervalo de referência para crianças. Menores níveis de CT, HDL-C e LDL-C na AF em comparação com grupo controle sem a doença foram observados em diferentes estudos (AKINBAMI *et al.*, 2019; ZORCA *et al.*, 2010) inclusive em população pediátrica (VANDERJAGT *et al.*, 2002a). A hipocolesterolemia é uma característica comum não somente na DF (ATAGA *et al.*, 2015; FERENGE *et al.*, 2017), mas em anemias hemolíticas de diferentes etiologias (CHOWTA *et al.*, 2017).

Poucos estudos investigaram a base da relação entre dislipidemia e DF (ATAC *et al.*, 2003). Alguns mecanismos fisiopatológicos têm sido propostos, entre eles a diluição plasmática resultante de anemia, a maior demanda de colesterol devido hiperplasia eritróide, lesão hepática secundária à sobrecarga de ferro (SHALEV *et al.*, 2007) e alteração na absorção, síntese, redistribuição e excreção (ATAC *et al.*, 2003). A associação da HDL-C ou apoA1 com LT e/ou BT, observadas neste estudo e em outras investigações (CHOWTA *et al.*, 2017; ZORCA *et al.*, 2010), e as correlações inversas entre os níveis séricos de colesterol e o receptor solúvel de transferrina, um marcador de alta atividade eritropoiética na ausência de deficiência de ferro (SHALEV *et al.*, 2007), reforça a relação da hipocolesterolemia com a gravidade da anemia. Neste estudo, as correlações e/ou associações de marcadores do estado antropométrico e de vitaminas com marcadores de gravidade e do perfil lipídico, como também a associação da Hb com os níveis de HDL-C na DF e no grupo AF, sugere que o melhor estado nutricional e níveis

mais altos de lipoproteínas estão estreitamente relacionados a menor gravidade da doença. Segundo Akinbami *et al.* (2019b), a hipocolesterolemia na DF pode não estar relacionada à idade, raça, condição socioeconômico ou dieta, mas a fatores fisiopatológicos da anemia falciforme (alta atividade eritropoiética por causa do aumento do uso de colesterol, função hepática defeituosa secundária à sobrecarga de ferro e prejudicada homeostase plasmática pós-absortiva com de ácidos graxos), como também a diferenças genéticas.

A herdabilidade na determinação do perfil lipídico foi estimada entre 27% a 48% para o HDL-C (KAESS *et al.*, 2008). Na população estudada e em outras com DF está bem caracterizada a dislipidemia com baixos níveis de HDL-C e esta fração lipídica foi associada aos parâmetros de hemólise e inflamatório (Hb e LT), entretanto, nós propusemos investigar se, além da relação com marcadores fisiopatológicos da anemia, fatores genéticos poderiam explicar parte da variação. Deste modo, nós avaliamos três variantes no gene *CETP* (rs3764261, rs183130 e rs247616).

O gene *CETP* codifica a proteína de transferência de ésteres de colesterol que está envolvida na homeostase de lipídios tendo em vista sua função de facilitar a transferência de colesterol do HDL-C para partículas contendo apoB, tais como LDL-C, em troca de TG (HOLMES; SMITH, 2017; KUIVENHOVEN *et al.*, 1998). Assim como em outras populações (BLAUW *et al.*, 2018; CORELLA *et al.*, 2010; MCCAFFERY *et al.*, 2018), nos participantes da pesquisa com DF, os alelos T das variantes rs183130 e rs247616 foram associados com maiores níveis de HDL-C ( $\geq 40$  mg/dL). Além disso, observaram-se efeitos positivos de dominância das três variantes nos níveis de apoA1 e da razão TG/HDL-C. O alelo de menor frequência do SNP rs183130 foi o mais fortemente associado aos níveis de HDL-C em uma população do Mediterrâneo com alto risco para doença cardiovascular (CORELLA *et al.*, 2010). Em adultos, cada cópia do alelo de risco C do rs3764261 foi associada ao HDL-C basal mais baixo (MCCAFFERY *et al.*, 2018).

Estudos tem indicado que as alterações no HDL-C decorrentes de polimorfismos no gene *CETP* estão relacionadas aos níveis e/ou atividade da proteína CETP (BLAUW *et al.*, 2018; HASSANZADEH *et al.*, 2009). Blauw *et al.* (2018) estudaram três variantes (rs12720922, rs247616 e rs1968905) e observaram associação com redução nos níveis de CETP e consequentemente com o aumento de HDL-C. Os pesquisadores encontraram nas três variantes a explicação para 16,4% de alteração dos níveis de CETP séricos, sendo o rs247616 mais fortemente associado, sendo que o aumento de 1µg/mL na CETP sérica associou-se à redução de -0,23 mmol/L na média do colesterol HDL-C e de -0,14 mmol/L na média do CT, como também em aumentos moderados na concentração de LDL-C (0,08 mmol/L) e de apoB

(0,02 g/L). O alelo de menor frequência do SNP rs247616 também foi considerado regulador em outro estudo causando redução da expressão de CETP *in vitro* (SUHY *et al.*, 2015).

Para aumentar o poder de associação, avaliou-se três haplótipos decorrentes dos SNPs de CETP (rs247616, rs183130 e rs3764261) que estão em alto desequilíbrio de ligação na população estudada. No nosso conhecimento, este é o primeiro estudo envolvendo análise de haplótipos com as três variantes no gene CETP em indivíduos com DF e não foram encontrados relatos desses haplótipos em outras doenças. Houve associação do haplótipo TTA com maiores níveis de HDL-C, tanto na população total quanto nos grupos AF e HbSC. A presença desse haplótipo no genótipo reduz em aproximadamente 3,5 vezes a razão de chance do indivíduo ter HDL-C em baixos níveis, sendo portanto, um haplótipo protetor. Adicionalmente, a Hb também foi explicativa para os níveis de HDL-C na análise de regressão. Portanto, embora baixos níveis de HDL-C possam decorrer da anemia hemolítica, como observado neste estudo, por aumentar a eritropoiese e assim a demanda de colesterol (SHALEV *et al.*, 2007), a ausência do haplótipo protetor TTA do gene CETP no genótipo de pacientes com DF pode estar funcionando como um fator modulador de risco para redução dos níveis de HDL-C juntamente com os efeitos fisiopatológicos da própria anemia. Isto mostra que a dislipidemia observada na DF em várias populações pode ser minimizada ou agravada dependendo da co-herança de variantes genéticas envolvidas no metabolismo de lipídios ou, por outro lado, ser um fator confundidor para as interpretações sobre o mecanismo fisiopatológico da dislipidemia na anemia. Permanece um desafio determinar se os dois fatores (anemia *per si* ou variação genética dos níveis de lipídios) tem sinergismo ou efeito cumulativo.

Os níveis de TG foram correlacionados com medidas de adiposidade corporal na HbSC, mas não na AF, o que está de acordo a estudo prévio (LALANNE-MISTRICH *et al.*, 2018). Além disso, a associação entre TG e Hb observada nos indivíduos com AF neste estudo como também por Zorca *et al.*, (2010) indica que, nos indivíduos com AF, as causas da hipertrigliceridemia podem ir além daquelas propostas para população sem a DF (BLACKETT; WILSON; MCNEAL, 2015).

Recentemente, foi postulado o envolvimento de proteínas do tipo angiopoietina (ANGPTL), conhecidas por inibir a atividade da lipoproteína lipase (LPL) (HASSAN, 2017; ZHANG, 2016). ANGPTL3 e 4 são capazes de inibir a atividade da LPL o que leva a menor depuração do TG (KERSTEN, 2017; LI.; TENG, 2014). Curiosamente, níveis mais altos de ANGPTL3 e 4 foram observados em adultos com AF em comparação com o grupo controle. A correlação dos níveis de ANGPTL3 e marcadores de hemólise, como LDH, reticulócitos e BT, foi verificada por Vendrame e colaboradores (2019). Especula-se que a superprodução de



ANGPTLs seja, pelo menos em parte, uma resposta hepática a estímulos gerados por anemia hemolítica (VENDRAME *et al.*, 2019), visto que ANGPTL3 e 4 são expressos principalmente no fígado (LI, Y.; TENG, 2014). Considerando todos estes achados e o fato da Hb ser um importante indicador de gravidade clínica das doenças hemolíticas (BARCELLINI; FATTIZZO, 2015), é possível visualizar a relação entre TG e Hb, bem como o envolvimento do ANGPTL e LPL.

A dislipidemia, inclusive a hipertrigliceridemia, é considerada um fator de risco para eventos cardiovasculares na população geral (ALEXOPOULOS *et al.*, 2019; CAI *et al.*, 2017; LUZ *et al.*, 2008) e as razões aterogênicas tem se mostrado superiores como preditores deste risco quando comparadas a um marcador isolado (CAI *et al.*, 2017; DA LUZ *et al.*, 2008). No presente trabalho, metade da população com DF apresentou a razão TG/HDL-C alterada com valores superiores nos grupos com maior gravidade e no grupo HbSC foi correlacionada com reticulócitos. Maior valor desta razão foi observada em indivíduos com AF em comparação ao grupo controle (AKINBAMI; UCHE; SULEIMAN; OGBENNA; *et al.*, 2019; TEIXEIRA *et al.*, 2019), apesar de existir resultados contraditórios (OLABODE *et al.*, 2018). A relação da dislipidemia com risco de eventos vasculares em indivíduos com DF ainda não foi esclarecida. Em adultos com DF, a razão TG/HDL-C foi preditora de disfunção endotelial (ZORCA *et al.*, 2010) e em crianças e adolescentes com AF foi considerado um potencial marcador de eventos vasculares, sendo positivamente associado com LT, disfunção endotelial e maior velocidade de fluxo sanguíneo nas artérias cerebrais (TEIXEIRA *et al.*, 2019). A velocidade de fluxo sanguíneo cerebral avaliado por doppler transcraniano é considerada preditora de AVC (RANKINE-MULLINGS *et al.*, 2018) e, por sua vez, a contagem de LT associou-se com alterações nos resultados do doppler transcraniano em população pediátrica com AF (OJEWUNMI *et al.*, 2018).

O AIP é um importante preditor de doença cardiovascular (CAI *et al.*, 2017; NOGAY, 2017) e estudos mostraram valores superiores deste marcador em indivíduos com AF quando comparado ao grupo sem a doença (AKINBAMI *et al.*, 2019). Na AF, maior proporção de indivíduos com AIP alto ( $> 0,21$ ) no grupo com hipertensão pulmonar (LAMARRE *et al.*, 2013), sugere maior risco cardiovascular envolvendo este marcador (DOBIÁŠOVÁ, 2004). Embora em nosso trabalho o AIP tenha ficado dentro dos valores considerados de baixo risco, ele correlacionou com vários marcadores de gravidade em nossa população com DF.

Considerando a associação de reticulocitose com risco de AVC (MEIER; WRIGHT; MILLER, 2014), a relação entre gravidade da DF e marcadores lipídicos e o papel destes no risco cardiovascular, reforça-se a hipótese que a dislipidemia influencia no risco aumentado

para doenças cardiovasculares em indivíduos com anemia falciforme (AKINBAMI *et al.*, 2019).

Maiores níveis de TG foram observados nos indivíduos com insuficiência/deficiência de vitamina D. Essa relação da vitamina D com TG foi confirmada em outros estudos (BACHA *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2013; MIRHOSSEINI; VATANPARAST; KIMBALL, 2017). Bacha *et al.* (2019) observaram níveis mais altos de TG no tercil mais baixo de vitamina D em adolescentes. Os mecanismos sugeridos envolvem a associação positiva da vitamina D com os níveis de LPL (HUANG *et al.*, 2013), a correlação negativa com PTH e a capacidade deste hormônio em aumentar a lipogênese (RUSCONI *et al.*, 2015).

## 6.8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O estudo apresentou limitações como ausência de dados hematológicos, clínicos e do perfil lipídico anteriores ao uso de Hidroxiureia, de dosagens dos níveis plasmáticos de CETP e LPL como também de análises laboratoriais no grupo SDF. Entretanto, os resultados observados são suficientes para concluir os objetivos propostos no trabalho.

Com a ausência de informações adicionais sobre manifestações clínicas as análises ficaram limitadas e impediu a identificação dos subfenótipos viscosidade-vaso-oclusão e de disfunção hemólise-endotelial em nossa população. A subnotificação nos prontuários, a dificuldade de relato dos responsáveis foram os fatores limitantes para obtenção destes dados. Land *et al.* (2013) relatam dificuldade em distinguir os dois subfenótipos (viscosidade-vaso-oclusão e de disfunção hemólise-endotelial) na população pediátrica devido ser baixa a taxa de complicações nesta fase. Os autores consideraram níveis superiores de hemoglobina como subfenótipo viscosidade-vaso-oclusão e, por ser a hemólise um marcador importante do subfenótipo disfunção hemólise-endotelial, eles classificaram os pacientes no quartil superior da LDH neste subfenótipo. De forma semelhante, algumas de nossas análises utilizaram esse critério.

A análise de pacientes atendidos em um único centro e o tamanho da amostra não permitem a generalização dos resultados, mas apesar da limitação referente a população, foi feito um esforço amostral incluindo todos os pacientes com DF acompanhados no Hemocentro e para o grupo SDF procedeu-se o cálculo amostral.

## 7 CONCLUSÕES

Os indivíduos com DF pertenciam aos menores estratos socioeconômicos e apresentaram alta frequência de deficit nutricional. Na classe socioeconômica mais baixa observaram-se menores valores de EZ-AI e maior de BI no grupo AF como também menor nível de vitamina A no grupo HbSC.

A dislipidemia presente foi caracterizada pela hipocolesterolemia, devido principalmente aos baixos níveis de HDL-C e apoA1, como também pela hipertrigliceridemia. O deficit antropométrico e de vitaminas A e D, a dislipidemia e a gravidade da doença foram mais acentuadas no grupo AF.

Na AF, os menores valores de EZ-IMCI e vitamina A foram relacionados a menores valores de CT e/ou LDL-C, entretanto, menores níveis de vitamina D proporcionaram maiores níveis de CT, não-HDL-C, TG, TG/HDL-C e AIP. Além disso, o estado nutricional foi associado com marcadores de hemólise e/ou inflamação. Enquanto a vitamina A foi associada de forma positiva com Hb e negativa com a LDH, os valores de TG, HDL-C, apoA1 e EZ-IMCI foram negativamente associados com Hb, LT, BT e LDH, respectivamente. Adicionalmente, o PTH foi correlacionado de forma negativa com vitamina D em ambos os grupos (AF e HbSC).

O valor do AngF foi inferior em indivíduos com AF quando comparado com controles SDF e se mostrou associado de forma positiva aos valores de Hb, HbF e negativa com reticulócitos e LDH, indicando ser uma estratégia promissora na predição da gravidade na AF.

A co-herança de  $\alpha$ -tal contribuiu para menores valores de VCM e HCM em ambos os grupos e na HbSC para menor adiposidade corporal e níveis de vitamina A.

Nos meninos com AF, os quais apresentaram maior gravidade laboratorial em relação às meninas, os níveis dos marcadores de hemólise e de inflamação apresentaram relação proporcional com a hipocolesterolemia.

A Hidroxiureia não influenciou no estado nutricional, mas melhorou o perfil lipídico provavelmente por efeito indireto, visto sua associação com níveis de Hb e dessa com os níveis de HDL-C. Assim, a Hb, como também as variantes do gene *CETP* investigadas, foram determinantes do subfenótipo dislipidêmico. A ausência do haplótipo TTA dos SNPs (rs247616, rs183130 e rs3764261) do gene *CETP* aumenta o risco de ter baixos níveis de HDL-C. Portanto, variantes do gene *CETP* somados aos fatores intrínsecos da própria anemia hemolítica poderiam explicar parte da variação observada na dislipidemia em pacientes com DF.

Este trabalho contribuiu para um melhor conhecimento sobre o estado nutricional de crianças e adolescentes com DF e sua relação com a gravidade da doença enfatizando a importância da avaliação e do cuidado nutricional deste grupo, principalmente na AF, com o objetivo de melhorar o quadro da doença e minimizar as repercussões no desenvolvimento infantil. O estudo também mostrou que a medida do AngF pode ser uma ferramenta útil de triagem na AF contribuindo com informações para desenvolvimento de novas pesquisas que venham identificar valores de referência para este grupo. Finalmente, este estudo, ao mostrar a influência de variantes no gene *CETP* na determinação dos níveis superiores de HDL-C, agrega conhecimentos para tentar explicar a dislipidemia para melhor compreensão dos aspectos fisiopatológicos decorrentes da homeostase lipídica na DF, não sendo esgotadas as explicações para esse subfenótipo.

Estudos adicionais e prospectivos com representação populacional são necessários para confirmar as associações aqui observadas entre o estado nutricional, perfil lipídico e marcadores de gravidade e identificar os impactos futuros na gravidade clínica da doença falciforme.

## REFERÊNCIAS<sup>1</sup>

- ADEGOKE, S. A *et al.* Comparative study of the growth and nutritional status of Brazilian and Nigerian school-aged children with sickle cell disease. **International Health**, Oxford, v. 9, p. 327–334, 2017a.
- ADEGOKE, S. A. *et al.* Impact of Hydroxyurea on anthropometry and serum 25-Hydroxyvitamin D among children with sickle cell disease. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, New York, v. 40, n. 4, p. 243–247, 2017b.
- ADEGOKE, S. A.; OKENIYI, J. A. O.; AKINTUDE, A. A. Electrocardiographic abnormalities and dyslipidaemic syndrome in children with sickle cell anaemia. **Cardiovascular journal of Africa**, Durbanville, v. 27, n. 1, p. 16–20, 2016.
- ADEGOKE, S. A. Thrombospondin-1 and vitamin D in children with sickle cell anemia. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, New York, v. 41, n. 8, p. e525-e529, 2019.
- ADEKILE, A. D. *et al.* The sub-phenotypes of sickle cell disease in Kuwait. **Hemoglobin**, Creteil v. 43, n. 2, p. 83–87, 2019.
- ADORNO, E. V. *et al.* Clinical and molecular characteristics of sickle cell anemia in the northeast of Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 3, p. 621–625, 2008.
- AGARWAL, A. *et al.* Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. **Blood**, Washington DC, v. 96, n. 7, p. 2358-63, 2000.
- AGIRBASLI, M. *et al.* Multi-locus candidate gene analyses of lipid levels in a pediatric turkish cohort: lessons learned on *LPL*, *CETP*, *LIPC*, *ABCA1*, and *SHBG*. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, Coimbatore, v. 17, n. 12, p. 636–645, 2013.
- AKCAN, F. A. *et al.* Clinical role of vitamin D in prognosis of otitis media with effusion. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**, New York, v. 105, p. 1–5, 2018.
- AKINBAMI, A. A. *et al.* On artherogenic index of plasma in sickle cell anaemia patients. **Pan African Medical Journal**, South Africa, v. 32, n. 141, p. 1–11, 2019.
- AKINLADE, K. S. *et al.* Defective lipid metabolism in sickle cell anaemia subjects in vaso-occlusive crisis. **Nigerian medical journal**, Mumbai, v. 55, n. 5, p. 428–31, 2014.
- AKINSHEYE, I. *et al.* Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. **Blood**, Wahsington DC, v. 118, n. 1, p. 19–27, 2011.
- AKODU, S. O.; DIAKU-AKINWUMI, I. N.; NJOKANMA, O. F. Obesity-does it occur in Nigerian children with sickle cell anemia. **Pediatric Hematology and Oncology**, Washington

---

<sup>1</sup> De acordo com NBR6023 (Associação Brasileira de Normas Técnicas).

DC, v. 29, n. 4, p. 358–364, 2012.

AKUYAM, S. *et al.* Assessment of biochemical liver function tests in relation to age among steady state sickle cell anemia patients. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, Mumbai, v. 20, n. 11, p. 1428–1433, 2017.

AL-GHAZALY, J. *et al.* Characteristics of sickle cell anemia in Yemen. **Hemoglobin**, Creteil, v. 37, n. 1, p. 1–15, 2013.

AL-SAQLADI, A. W. M.; BIN-GADEEN, H. A.; BRABIN, B. J. Growth in children and adolescents with sickle cell disease in Yemen. **Annals of Tropical Paediatrics**, Liverpool, v. 30, n. 4, p. 287–298, 2010.

ALASTAIR, J. J. Management of sickle cell disease. **The New England Journal Of Medicine**, Waltam, v. 340, n. 13, p. 1021–1030, 1999.

ALAYASH, A. I. Oxidative pathways in the sickle cell and beyond. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Amsterdam, v. 70, p. 78–86, 2018.

ALELUIA, M. M. *et al.* Association of classical markers and establishment of the dyslipidemic sub-phenotype of sickle cell anemia. **Lipids in Health and Disease**, Federal Way, v. 16, n. 74, p. 1–9, 2017b.

ALELUIA, M. M. *et al.* Comparative study of sickle cell anemia and hemoglobin SC disease: Clinical characterization, laboratory biomarkers and genetic profiles. **BMC Hematology**, New York, v. 17, n. 15, p. 1–10, 2017a.

ALEXOPOULOS, A. S. *et al.* Triglycerides: emerging targets in diabetes care? Review of moderate hypertriglyceridemia in diabetes. **Physiology & Behavior**, San Antonio, v. 19, n. 4, p. 1136–1153, 2019.

AMLIE-LEFOND, C. *et al.* The genetic landscape of cerebral steno-occlusive arteriopathy and stroke in sickle cell anemia. **Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases**, Amsterdam, v. 27, n. 11, p. 2897–2904, 2018.

ANSARI, J. *et al.* Sickle cell disease: a malady beyond a hemoglobin defect in cerebrovascular disease. **Expert Review of Hematology**, London, v. 11, n. 1, p. 45–55, 2018.

ARDUINI, G. A. O.; RODRIGUES, L. P.; MARQUI, A. B. T. Mortality by sickle cell disease in Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 39, n. 1, p. 52–56, 2017.

ARLET, J. B. *et al.* Relationship between vitamin D deficiency and bone fragility in sickle cell disease: A cohort study of 56 adults. **Bone**, Amsterdam, v. 52, n. 1, p. 206–211, 2013.

ASBEUTAH, A. *et al.* Transcranial doppler and brain mri in children with sickle cell disease and high hemoglobin F levels. **Pediatric Blood Cancer**, Worcester, v. 61, n. 1, p. 25–28, 2014.

ASKLÖF, M. *et al.* Bioelectrical impedance analysis; a new method to evaluate

lymphoedema, fluid status, and tissue damage after gynaecological surgery - A systematic review. **European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology**, Amsterdam, v. 228, p. 111–119, 2018.

ASLAN, M. *et al.* LC–MS/MS analysis of plasma polyunsaturated fatty acids in patients with homozygous sickle cell disease. **Clinical and Experimental Medicine**, Madison, v. 15, n. 3, p. 397–403, 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE EMPRESAS DE PESQUISA. *Critério de classificação econômica Brasil*. ABEP, p. 1–6, 2016.

ATAC, B. *et al.* Anemia and hypocholesterolemia. **Heart Disease**, v. 5, n. 1, p. 65–71, 2003.

ATAGA, K. I. *et al.* Association of pro-inflammatory high density lipoprotein cholesterol with clinical and laboratory variables in sickle cell disease. **Physiology & Behavior**, San Antonio, v. 20, n. 5, p. 289–296, 2015.

AWODA, S. *et al.* Coagulation profile of Sudanese children with homozygous sickle cell disease and the effect of treatment with omega-3 fatty acid on the coagulation parameters. **BMC Hematology**, New York, v. 17, n. 1, p. 1–7, 2017.

BACHA, F. *et al.* Free Vitamin D: relationship to insulin sensitivity and vascular health in youth. **The Journal of Pediatrics**, New York, v. 212, p. 1-7, 2019.

BALLAS, S. K.; MOHANDAS, N. Pathophysiology of vaso-occlusion. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Amsterdam, v. 10, n. 6, p. 1221–1239, 1996.

BALLEW, C. *et al.* Serum retinol distributions in residents of the United States: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 73, n. 3, p. 586–593, 2001.

BANERJEE, S.; OWEN, C.; CHOPRA, S. Sickle cell hepatopathy. **Hepatology**, Amsterdam, v. 33, n. 5, p. 1021–1028, 2001.

BANSAL, N. *et al.* Bioelectrical impedance analysis measures and clinical outcomes in CKD. **American Journal of Kidney Diseases**, New York, v. 72, n.5, p. 662-672, 2018.

BARBALHO, S. M. *et al.* Metabolic syndrome and atherogenic indices in school children: A worrying panorama in Brazil. **Diabetes and Metabolic Syndrome: Clinical Research and Reviews**, Amsterdam, v. 11, n. 2016, p. S397–S401, 2017.

BARCELLINI, W.; FATTIZZO, B. Clinical applications of hemolytic markers in the differential diagnosis and management of hemolytic anemia. **Disease Markers**, Austin, v. 2015, p. 1-7, 2015.

BARRETT, J. C. *et al.* Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. **Bioinformatics**, Oxford, v. 21, n. 2, p. 263–265, 2005.

BAUMGARTNER, R. N.; CHUMLEA, W. C.; ROCHE, A. F. Bioelectric phase. *American*

*Journal of Clinical Nutrition*, v. 48, n. May, p. 16–23, 1988.

BEHERA, S. *et al.* Vitamin a status and hematological values in sickle cell disorder cases. **Indian Journal of Medical Sciences**, Mumbai, v. 66, n. 7, p. 169, 2012.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Association of alpha-thalassemia, TNF-alpha (-308G>A) and VCAM-1 (c.1238G>C) gene polymorphisms with cerebrovascular disease in a newborn cohort of 411 children with sickle cell anemia. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Amsterdam, v. 54, n. 1, p. 44–50, 2015.

BELISÁRIO, A. R. *et al.*  $\beta$ -globin gene cluster haplotypes in a cohort of 221 children with sickle cell anemia or  $S\beta^0$ -thalassemia and their association with clinical and hematological features. **Acta Haematologica**, Amsterdam, v. 124, n. 3, p. 162–170, 2010a.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Coinheritance of  $\alpha$ -thalassemia decreases the risk of cerebrovascular disease in a cohort of children with sickle cell anemia. **Hemoglobin**, Creitel, v. 34, n. 6, p. 516–529, 2010b.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Reticulocyte count is the most important predictor of acute cerebral ischemia and high-risk transcranial doppler in a newborn cohort of 395 children with sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, Austin, v. 95, n. 11, p. 1869–1880, 2016.

BELISÁRIO, A. R.; VIANA, M. B. Efeitos da talassemia alfa nas manifestações clínicas e hematológicas da anemia falciforme : uma revisão sistemática. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 21, n. 3, p. 319–330, 2011.

BERBIGIER, M. C. *et al.* Ângulo de fase derivado de bioimpedância elétrica em pacientes sépticos internados em unidades de terapia intensiva. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 25–31, 2013.

BERRIDGE, M. J. Vitamin D deficiency accelerates ageing and age-related diseases: a novel hypothesis. **Journal of Physiology**, Malden, v. 595, n. 22, p. 6825–6836, 2017.

BISPO, I. M. G. P. *et al.* Clinical and hematological evaluation of patients with sickle cell anemia before and after four years of using Hydroxyurea. **International Archives of Medicine**, London, v. 10, n. 199, p. 1–8, 2017.

BLACKETT, P. R.; WILSON, D. P.; MCNEAL, C. J. Secondary hypertriglyceridemia in children and adolescents. **Journal of Clinical Lipidology**, Amsterdam, v. 9, n. 5, p. S29–S40, 2015.

BLANER, W. S. *et al.* Hepatic stellate cell lipid droplets: A specialized lipid droplet for retinoid storage. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 1791, n. 6, p. 467–473, 2009.

BLAUW, L. L. *et al.* CETP (cholesteryl ester transfer protein) concentration: a genome-wide association study followed by mendelian randomization on coronary artery disease. **Circulation. Genomic and Precision Medicine**, Amsterdam, v. 11, n. 5, p. 1-10, 2018.

BOETTGER, P. C. *et al.* Vitamin D deficiency in adult sickle cell patients. **Journal of the National Medical Association**, Amsterdam, v. 109, n. 1, p. 36–43, 2017.



- BOSY-WESTPHAL, A. *et al.* Phase angle from bioelectrical impedance analysis: population reference values by age, sex, and body mass index. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Thousand Oaks, v. 30, n. 4, p. 309–316, 2006.
- BRANDOW, A. M.; DEBAUN, M. R. Key components of pain management for children and adults with sickle cell disease. **Hematology/Oncology Clinics of North America**, Amsterdam, v. 32, n. 3, p. 535–550, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Conitec. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Doença Falciforme**. Brasília, DF, Agosto, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Ciência, **Tecnologia e Insumos Estratégicos**. Portaria Conjunta n. 5, de 19 de Fevereiro de 2018. Brasília, DF, 2018.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar e de Urgência. **Doença Falciforme: o que se deve saber sobre herança genética**. 2014.
- BROWNELL, J. N. *et al.* Effect of high-dose vitamin A supplementation in children with sickle cell disease. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, New York, p. 1-9, November, 2019.
- CAI, G. *et al.* The atherogenic index of plasma is a strong and independent predictor for coronary artery disease in the Chinese Han population. **Medicine**, Amsterdam, v. 96, n. 37, p. 1–6, 2017.
- CANÇADO, R. D. *et al.* Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para uso de Hidroxiureia na doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 31, n. 361–366, p. 3–8, 2009.
- CATANZARO, T.; KOUMBOURLIS, A. C. Somatic growth and lung function in sickle cell disease. **Paediatric Respiratory Reviews**, Amsterdam, v. 15, p. 28–32, 2014.
- CHAKRAVORTY, S. WILLIAMS, T.N. Sickle cell disease: a neglected chronic disease of increasing global health importance. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 100, p. 48-53, 2015
- CHANG, A. K. *et al.* Genetic modifiers of severity in sickle cell disease. **Clinical Hemorheology and Microcirculation**, Senftenberg, v. 68, n. 2–3, p. 147–164, 2018.
- CHARAGE, S. *et al.* Effect of Hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell. **The New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 332, n. 20, p. 1317–1322, 1995.
- CHATURVEDI, S. *et al.* Genome-wide association study to identify variants associated with acute severe vaso-occlusive pain in sickle cell anemia. **Blood**, Washington DC, v. 130, n. 5, p. 686–688, 2017.
- CHAWLA, A. *et al.* Weight status of children with sickle cell disease. **Pediatrics**, Itasca, v. 131, n. 4, p. e1168–e1173, 2013.

- CHIU, C.Y. *et al.* Longitudinal vitamin D deficiency is inversely related to mite sensitization in early childhood. **Pediatric Allergy and Immunology**, Zurich, v. 29, n. 3, p. 254–259, 2018.
- CHONG, S. S. *et al.* Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassemia. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v. 46, n. 10, p. 1692-1695, 2000.
- CHOWTA, N. *et al.* Lipid profile in anemia: is there any correlation? **Annals of Tropical Medicine and Public Health**, Maharashtra, v. 10, n. 4, p. 837–840, 2017.
- COLÍN-RAMÍREZ, E. *et al.* Bioelectrical impedance phase angle as a prognostic marker in chronic heart failure. **Nutrition**, Amsterdam, v. 28, n. 9, p. 901–905, 2012.
- CONRAN, N.; FRANCO-PENTEADO, C. F.; COSTA, F. F. Newer aspects of the pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. **Hemoglobin**, Creteil, v. 33, n. 1, p. 1–16, 2009.
- CORELLA, D. *et al.* Gene-environment interactions of *CETP* gene variation in a high cardiovascular risk Mediterranean population. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v. 51, n. 9, p. 2798–2807, 2010.
- CUI, M. *et al.* HDL-cholesterol concentration in pregnant Chinese Han women of late second trimester associated with genetic variants in. **Oncotarget**, New York, v. 8, n. 34, p. 56737–56746, 2017.
- DA LUZ, P. L. *et al.* High ratio of triglycerides to HDL-cholesterol predicts extensive coronary disease. **Clinics**, São Paulo, v. 63, n. 4, p. 427–432, 2008.
- DELVIN, E. E. *et al.* Vitamin D status is modestly associated with glycemia and indicators of lipid metabolism in French-Canadian children and adolescents. **The Journal of Nutrition**, New York, v. 140, p. 987–991, 2010.
- DOBIÁŠOVÁ, M. Atherogenic index of plasma [ $\log(\text{triglycerides}/\text{HDL-cholesterol})$ ]: Theoretical and practical implications. **Clinical Chemistry**, Washington DC, v. 50, n. 7, p. 1113–1115, 2004.
- DOUGHERTY, K. A. *et al.* No improvement in suboptimal vitamin A status with a randomized, double-blind, placebo-controlled trial of vitamin A supplementation in children with sickle cell disease. **The American Journal Clinical Nutrition**, Rockville, v. 96, p. 932–940, 2012.
- ECKARDSTEIN, A. VON. Mulling over the odds of CETP inhibition. **European Heart Journal**, Oxford, v. 31, n. 4, p. 390–393, 2010.
- ESEZOBOR, C. I. *et al.* Wasting and stunting are still prevalent in children with sickle cell anaemia in Lagos, Nigeria. **Italian Journal of Pediatrics**, Palermo, v. 42, p. 1–8, 2016.
- FARIAS, C. L. A. *et al.* Phase angle from BIA as a prognostic and nutritional status tool for children and adolescents undergoing hematopoietic stem cell transplantation. **Clinical**

**Nutrition**, Rockville, v. 32, n. 3, p. 420–425, 2013.

ERENCE, B. A. *et al.* Association of genetic variants related to CETP inhibitors and statins with lipoprotein levels and cardiovascular risk. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 318, n. 10, p. 947–956, 2017.

FRENETTE, P. S.; ATWEH, G. F. Sickle cell disease: old discoveries , new concepts , and future promise. **The Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 117, n. 4, p. 850–858, 2007.

FRISANCHO, A. R. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. **American Journal of Clinical Nutrition**, Rockville, v. 34, n. 11, p. 2540–2545, 1981.

GALIZA NETO, G. C.; PITOMBEIRA, M. S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 51–56, 2003.

GARNIER, Y. *et al.* Differences of microparticle patterns between sickle cell anemia and hemoglobin SC patients. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 5, p. 1–14, 2017.

GAZIANO, J. M. *et al.* Fasting triglycerides, high-density lipoprotein, and risk of myocardial infarction. **Circulation**, Waltham, v. 96, n. 8, p. 2520–2525, 1997.

GEARD, A. *et al.* Genetics of sickle cell-associated cardiovascular disease : an expert review with lessons learned in Africa. **Journal of Integrative Biology**, New York, v. 20, n. 10, p. 581–592, 2016.

GHAFURI, D. L. *et al.* World Health Organization's growth reference overestimates the prevalence of severe malnutrition in children with sickle cell anemia in Africa. **Journal of Clinical Medicine**, London, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2020.

GUALANDRO, S. F. M. *et al.* Cohort study of adult patients with haemoglobin SC disease: Clinical characteristics and predictors of mortality. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 171, n. 4, p. 631–637, 2015.

GUEDENEY, P. *et al.* Cardiac manifestations in sickle cell disease varies with patient genotype. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 181, n. 5, p. 664–671, 2018.

GUO, S. *et al.* Association between eight functional polymorphisms and haplotypes in the cholesterol ester transfer protein (CETP) gene and dyslipidemia in national minority adults in the far west region of China. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, Basle, v. 12, p. 15979–15992, 2015.

HANKINS, J. S. *et al.* From infancy to adolescence: fifteen years of continuous treatment with hydroxyurea in sickle cell anemia. **Medicine**, Amsterdam, v. 93, n. 28, p. e215, 2014.

HASSAN, M. ANGPTL3: A novel modulator of lipid metabolism. **Global Cardiology Science and Practice**, Harefield, v. 2017, n. 1, p. 1–7, 2017.

HASSANZADEH, T. *et al.* Taq1B polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in primary combined hyperlipidaemia. **Indian Journal of Medical Research**, Mumbai, v. 129, n. 3, p. 293–298, 2009.

HEWING, B.; FISHER, E. A. NIH Public Access. **Current Opinion in Lipidology**, Ontario, v. 23, n. 4, p. 372–376, 2012.

HOLICK, M. F.; TIAN, X. Q.; ALLEN, M. Evolutionary importance for the membrane enhancement of the production of vitamin D<sub>3</sub> in the skin of poikilothermic animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington DC, v. 92, n. 8, p. 3124–6, 1995.

HOLMES, M. V.; SMITH, G. D. Dyslipidaemia: Revealing the effect of CETP inhibition in cardiovascular disease. **Nature Reviews Cardiology**, London, v. 14, n. 11, p. 635–636, 2017.

HOWARD, J. Sickle cell disease: When and how to transfuse. **Hematology**, London, v. 2016, n. 1, p. 625–631, 2016.

HUANG, Y. *et al.* Lipoprotein lipase links vitamin D, insulin resistance, and type 2 diabetes: a cross-sectional epidemiological study. **Cardiovascular Diabetology**, London, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2013.

HYACINTH, H. I.; ADEKEYE, O. A.; YILGWAN, C. S. Malnutrition in sickle cell anemia: implications for infection, growth, and maturation. **Journal of Social, Behavioral, and Health Sciences**, Minneapolis, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2013.

JADHAV, A. J. *et al.* Haematological profile of adult sickle cell disease patients in North Maharashtra. **Walawalkar International Medical Journal**, Maharashtra, v. 3, n. 1, p. 28–36, 2016.

JEKEL, J. F.; KATZ, D. L.; ELMORE, J. G. **Epidemiologia, Bioestatística e Medicina Preventiva**. 2 edição. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

JELLIFFE, Derrick Brian. Evaluación del estado de nutrición de la comunidad (con especial referencia a las encuestas en las regiones de desarrollo). Ginebra, 1968. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/41408>. Acesso em: 10 jul. 2019.

KAESS, B. *et al.* The lipoprotein subfraction profile: heritability and identification of quantitative trait loci. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v. 49, n. 4, p. 715–723, 2008.

KAPLAN, M.; BROMIKER, R.; HAMMERMAN, C. Hyperbilirubinemia, hemolysis, and increased bilirubin neurotoxicity. **Seminars in Perinatology**, Amsterdam, v. 38, n. 7, p. 429–437, 2014.

KATO, G. J. *et al.* Sickle cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, London, v. 4, n. 18010, p. 1–22, 2018.

KATO, G. J. *et al.* Vasculopathy in Sickle cell disease: biology, pathophysiology, genetics, translational medicine and new research directions. **American Journal Hematology**, Nashville, v. 84, n. 9, p. 618–625, 2009.

KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. **Blood Reviews**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 37–47, 2007.

KATO, G. J.; STEINBERG, M. H.; GLADWIN, M. T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **Journal of Clinical Investigation**, Ann Arbor, v. 127, n. 3, p. 750–760, 2017.

KEIKHAEI, B. *et al.* Altered levels of pro-inflammatory cytokines in sickle cell disease patients during vaso-occlusive crises and the steady state condition. **European Cytokine Network**, Montrouge, v. 24, n. 1, p. 45–52, 2013.

KEIKHAEI, B.; YOUSEFI, H.; BAHADORAM, M. Hydroxyurea: clinical and hematological effects in patients with sickle cell anemia. **Global Journal of Health Science**, Ottawa, v. 8, n. 3, p. 252, 2015.

KERSTEN, S. Angiotensin-like 3 in lipoprotein metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, London, v. 13, n. 12, p. 731–739, 2017.

KHAN, S. A. *et al.* Precipitating factors and targeted therapies in combating the perils of sickle cell disease - - A special nutritional consideration. **Nutrition and Metabolism**, Ottawa, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2016.

KUCHNIA, A. J. *et al.* Phase angle and impedance ratio: reference cut-points from the United States National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2004 from bioimpedance spectroscopy data. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Thousand Oaks, v. 41, n. 8, p. 1310–1315, 2017.

KUIVENHOVEN, J. A. *et al.* The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 338, n. 2, p. 86–93, 1998.

KUVIBIDILA, S. R. *et al.* Clinical observations, plasma retinol concentrations, and in vitro lymphocyte functions in children with sickle cell disease. **Ochsner Journal**, Queensland, v. 18, n. 4, p. 308–317, 2018.

KYLE, U. G. *et al.* Body composition during growth in children: limitations and perspectives of bioelectrical impedance analysis. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 69, n. 12, p. 1298–1305, 2015.

LALANNE-MISTRIH, M.L. *et al.* Lipid profiles in French West Indies sickle cell disease cohorts, and their general population. **Lipids in Health and Disease**, v. 17, n. 1, p. 38, 2018.

LAMARRE, Y. *et al.* Male gender, increased blood viscosity, body mass index and triglyceride levels are independently associated with systemic relative hypertension in sickle cell anemia. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 6, p. 4–9, 2013.

LANARO, C. *et al.* Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy. **Journal of Leukocyte Biology**, Silver Spring, v. 85, n. 2, p. 235–242, 2009.

- LAND, V. V. D. *et al.* Markers of endothelial dysfunction differ between subphenotypes in children with sickle cell disease. **Thrombosis Research**, Amsterdam, v. 132, n. 6, p. 712–717, 2013.
- LEE, M. T.; LICURSI, M.; MCMAHON, D. J. Vitamin D deficiency and acute vaso-occlusive complications in children with sickle cell disease. **Pediatric Blood Cancer**, New York, v. 62, p. 643–647, 2015.
- LETTRE, G.; BAUER, D. E. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: From genetic epidemiology to new therapeutic strategies. **The Lancet**, Amsterdam, v. 387, n. 10037, p. 2554–2564, 2016.
- LI, W. *et al.* Association between serum 25-hydroxyvitamin D concentration and pulmonary infection in children. **Medicine**, Amsterdam, v. 97, n. 1, p. 1–6, 2018.
- LI, Y.; TENG, C. Angiopoietin-like proteins 3, 4 and 8: Regulating lipid metabolism and providing new hope for metabolic syndrome. **Journal of Drug Targeting**, London, v. 22, n. 8, p. 679–687, 2014.
- LOHMAN, T. G. Assessment of body composition in children. **Pediatric Exercise Science**, Columbia, v. 1, p. 19–30, 1989.
- LOBO, C. L. C. *et al.* The effect of hydroxycarbamide therapy on survival of children with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 161, n. 6, p. 852–860, 2013.
- MACHIELA, M. J.; CHANOCK, S. J. LDlink: A web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants. **Bioinformatics**, Oxford, v. 31, n. 21, p. 3555–3557, 2015.
- MAKARIOU, S. *et al.* Novel roles of vitamin D in disease: what is new in 2011? **European Journal of Internal Medicine**, Amsterdam, v. 22, n. 4, p. 355–362, 2011.
- MANDESE, V. *et al.* Endocrine and metabolic complications in children and adolescents with Sickle Cell Disease: An Italian cohort study. **BMC Pediatrics**, Grenchen, v. 19, n. 1, p. 1–9, 2019.
- MANDESE, VALENTINA *et al.* Effects of nutritional intake on disease severity in children with sickle cell disease. **Nutrition Journal**, Rockville, v. 15, n. 46, p. 1–6, 2016.
- MARINO, L. V. *et al.* Bioimpedance spectroscopy measurements of phase angle and height for age are predictive of outcome in children following surgery for congenital heart disease. **Clinical Nutrition**, Rockville, v. 37, n. 4, p. 1430–1436, 2017.
- MAROUF, R. Blood transfusion in sickle cell disease. **Hemoglobin**, Creteil, v. 35, n. 5–6, p. 495–502, 2011.
- MARTELLI, A. Síntese e metabolismo da bilirrubina e fisiopatologia da hiperbilirrubinemia associados à Síndrome de Gilbert : revisão de literatura. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 22, n. 2, p. 216–220, 2012.

MARTYRES, D. J. *et al.* Nutrient insufficiencies/deficiencies in children with sickle cell disease and its association with increased disease severity. **Pediatric Blood Cancer**, Hoboken, v. 63, n. 6, p. 1060–1064, 2016.

MARUYAMA, C.; IMAMURA, K.; TERAMOTO, T. Assessment of LDL particle size by triglyceride/HDL-cholesterol ratio in non-diabetic, healthy subjects without prominent hyperlipidemia. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, Tokyo, v. 10, n. 3, p. 186–191, 2003.

MATARATZIS, P. S. R.; ACCIOLY, E.; PADILHA, P. DE C. Deficiências de micronutrientes em crianças e adolescentes com anemia falciforme: uma revisão sistemática. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 32, n. 3, p. 247–256, 2010.

MATTE, A. *et al.* New therapeutic options for the treatment of sickle cell disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, Milano, v. 11, n. 1, p. 1–12, 2019.

MCCAFFERY, J. M. *et al.* Weight gain prevention buffers the impact of CETP rs3764261 on high density lipoprotein cholesterol in young adulthood: The Study of Novel Approaches to Weight Gain Prevention (SNAP). **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, Philadelphia, v. 28, n. 8, p. 816–821, 2018.

MCGANN, P. T.; WARE, R. E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Expert Opinion of Drug Safety**, London, v. 14, n. 11, p. 1749–1758, 2015.

MEEUWES, M. *et al.* Bone mineral density, growth, pubertal development and other parameters in Brazilian children and young adults with sickle cell anaemia. **Tropical Medicine & International Health**, London, v. 18, n. 12, p. 1539–1546, 2013.

MEIER, E. R.; FASANO, R. M.; LEVETT, P. R. A systematic review of the literature for severity predictors in children with sickle cell anemia. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Amsterdam, v. 65, p. 86–94, 2017.

MEIER, E. R.; WRIGHT, E. C.; MILLER, J. L. Reticulocytosis and anemia are associated with an increased risk of death and stroke in the newborn cohort of the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. **American Journal Hematology**, Nashville, v. 89, n. 9, p. 904–906, 2014.

MIRHOSSEINI, N.; VATANPARAST, H.; KIMBALL, S. M. The association between serum 25(OH)D status and blood pressure in participants of a community-based program taking vitamin D supplements. **Nutrients**, Basel, v. 9, n. 1244, p. 1–15, 2017.

MITTENDORFER, B. Sexual dimorphism in human lipid metabolism. *The Journal of Nutrition*, Rockville, v. 135, n. 4, p. 681–686, 2005.

MÖCKESCH, B. *et al.* Association between oxidative stress and vascular reactivity in children with sickle cell anaemia and sickle haemoglobin C disease. **British Journal of Haematology**, Hooken, v. 178, n. 3, p. 468–475, 2017.

- MODELL, B.; DARLISON, M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. **Bulletin of the World Health Organization**, Genova, v. 86, n. 6, p. 480–487, 2008.
- MOKONDJIMOBÉ, É. *et al.* Évaluation du profil lipoprotéique et du risque athérogène chez les drépanocytaires homozygotes et hétérozygotes de Brazzaville. **Annales de Biologie Clinique**, France, v. 70, n. 2, p. 183–188, 2012.
- NAGEL, R. L.; FABRY, M. E.; STEINBERG, M. H. The paradox of hemoglobin SC disease. **Blood Reviews**, Amsterdam, v. 17, n. 3, p. 167–178, 2003.
- NAJIM, O. A.; HASSAN, M. K. Lactate dehydrogenase and severity of pain in children with sickle cell Disease. **Acta Haematologica**, Basel, v. 126, n. 3, p. 157–162, 2011.
- NAKAMURA, A. *et al.* Gene-gene combination effect and interactions among ABCA1, APOA1, SR-B1, and CETP polymorphisms for serum high-density lipoprotein-cholesterol in the Japanese population. **Plos One**, San Francisco, v. 8, n. 12, p. 1–9, 2013.
- NATIONAL HEART LUNG AND BLOOD INSTITUTE, N. **Expert panel on integrated guidelines for cardiovascular health and risk reduction in children and adolescents: summary report**. October, 2012.
- NIE, Z. *et al.* Serum levels of 25-hydroxyvitamin D predicts infarct volume and mortality in ischemic stroke patients. **Journal of Neuroimmunology**, Amsterdam, v. 313, n. 24, p. 41–45, 2017.
- NIESOR, E. J. *et al.* Modulating cholesteryl ester transfer protein activity maintains efficient pre- $\beta$ -HDL formation and increases reverse cholesterol transport. **Journal of Lipid Research**, Rockville, v. 51, n. 12, p. 3443–3454, 2010.
- NOGAY, N. H. Assessment of the correlation between the atherogenic index of plasma and cardiometabolic risk factors in children and adolescents: Might it be superior to the TG/HDL-C ratio? **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, Berlin, v. 30, n. 9, p. 947–955, 2017.
- NOGUEIRA, Z. D. *et al.* Anthropometric changes in children with sickle cell disease. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, Salvador, v. 13, n. 3, p. 393–397, 2014.
- NOLAN, V. G. *et al.* Prevalence of Vitamin D deficiency in sickle cell disease: A systematic review. **Plos One**, San Francisco, v. 10, n. 3, p. 1–13, 2015.
- NORMAN, K. *et al.* Bioelectrical phase angle and impedance vector analysis - Clinical relevance and applicability of impedance parameters. **Clinical Nutrition**, Rockville, v. 31, n. 6, p. 854–861, 2012.
- ODETUNDE, O. I. *et al.* Body Mass Index and other anthropometric variables in children with sickle cell anaemia. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, Sadder, v. 32, n. 2, p. 341–346, 2016.
- OJEWUNMI, O. O. *et al.* Haemoglobin oxygen saturation, leucocyte count and lactate



dehydrogenase are predictors of elevated cerebral blood flow velocity in Nigerian children with sickle cell anaemia. **Paediatrics and International Child Health**, Liverpool, v. 38, n. 1, p. 34–39, 2018.

OLABODE, O. P. *et al.* Triglyceride / HDL-cholesterol ratio and plasminogen activator inhibitor-1 independently predict high pulse pressure in sickle cell trait and disease. **Archives of Physiology and Biochemistry**, Munich, p. 1–6, 2018.

ONIS, M. *et al.* **Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents**. Bulletin of the World Health Organization. 2007.

ONUkwULI, V. O. *et al.* Relationship between zinc levels and anthropometric indices among school-aged female children with sickle cell anemia in Enugu, Nigeria. **Nigerian Journal of Clinical Practice**, Nnewi, v. 20, n. 11, p. 1461–1467, 2017.

OSUNKWO, I. *et al.* Vitamin D deficiency and chronic pain in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 153, n. 4, p. 538–540, 2011.

OZTAS, Y. *et al.* Vitamin D deficiency and its association with inflammatory markers, lipid profile and regulatory t-cells in pediatric sickle cell disease patients. **Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion**, Springer, v. 34, n. 3, p. 480–485, 2018.

PAPP, A. C. *et al.* Cholesteryl ester transfer protein (CETP) polymorphisms affect mRNA splicing, HDL levels, and sex-dependent cardiovascular risk. **Plos One**, San Francisco, v. 7, n. 3, p. e31930, 2012.

PATEL, J. V. *et al.* Vitamin D deficiency amongst minority ethnic groups in the UK: A cross sectional study. **International Journal of Cardiology**, v. 167, n. 5, p. 2172–2176, 2013.

PEDROSA, A. M. *et al.* Cytotoxicity and DNA damage in the neutrophils of patients with sickle cell anaemia treated with hydroxyurea. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Amsterdam, v. 50, n. 2, p. 401–410, 2014.

PHILLIPS, K. *et al.* Hydroxyurea therapy in UK children with sickle cell anaemia: A single-centre experience. **Pediatric Blood and Cancer**, Hoboken, v. 65, n. 2, p. 1–6, 2018.

PIEL, F. B.; STEINBERG, M. H.; REES, D. C. Sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 376, n. 16, p. 1561–1573, 2017.

RAHIMI, Z.; VAISI-RAYGANI, A.; POURMOTABBED, T. Association between apolipoprotein ε4 allele, factor v Leiden, and plasma lipid and lipoprotein levels with sickle cell disease in southern Iran. **Molecular Biology Reports**, Berlin, v. 38, n. 2, p. 703–710, 2011.

RANA, S. *et al.* Hydroxyurea and growth in young children with sickle cell disease. **Pediatrics**, Itasca, v. 134, n. 3, p. 465–472, 2014.

RANKINE-MULLINGS, A. E. *et al.* Transcranial doppler velocity among Jamaican children with sickle cell anaemia: determining the significance of haematological values and nutrition. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 181, n. 2, p. 242–251, 2018a.

REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. T. Sickle-cell disease. **The Lancet**, Amsterdam, v. 376, n. 9757, p. 2018–2031, 2010.

REID, M. Nutrition and sickle cell disease. **Comptes Rendus Biologies**, Amsterdam, v. 336, n. 3, p. 159–163, 2013.

REN, H. *et al.* Blood mononuclear cells and platelets have abnormal fatty acid composition in homozygous sickle cell disease. **Annals of Hematology**, Irving, v. 84, n. 9, p. 578–583, 2005.

RIGANO, P. *et al.* Real-life experience with hydroxyurea in sickle cell disease: A multicenter study in a cohort of patients with heterogeneous descent. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, Amsterdam, v. 69, p. 82–89, 2018.

RILEY, T. R. *et al.* Review of medication therapy for the prevention of sickle cell crisis. **Pharmacy and Therapeutics**, Morrisville, v. 43, n. 7, p. 417–422, 2018.

RIMSEVICIUS, L. *et al.* Malnutrition assessment in hemodialysis patients: role of bioelectrical impedance analysis phase angle. **Journal of Renal Nutrition**, Würzburg, v. 26, n. 6, p. 391–395, 2016.

RODRIGUES, C. *et al.* Bilirubin dependence on UGT1A1 polymorphisms, hemoglobin, fasting time and body mass index. **American Journal of the Medical Sciences**, New York, v. 343, n. 2, p. 114–118, 2012.

ROTHER, R. P. *et al.* The clinical sequelae of intravascular hemolysis and extracellular plasma hemoglobin a novel mechanism of human disease. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 293, n. 13, p. 1653–1662, 2005.

ROVNER, A. J. *et al.* High risk of vitamin d deficiency in children with sickle cell disease. **Journal of the American Dietetic Association**, Amsterdam, v. 108, n. 9, p. 1512–1516, 2008.

RUMANNEY, M. B. *et al.* The co-inheritance of alpha-thalassemia and sickle cell anemia is associated with better hematological indices and lower consultations rate in Cameroonian patients and could improve their survival. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 6, p. 1–10, 2014.

RUSANOVA, I. *et al.*  $\beta$ -globin gene cluster haplotypes in sickle cell patients from Panamá. **American Journal of Human Biology**, Los Angeles, v. 23, n. 3, p. 377–380, 2011.

RUSCONI, R. E. *et al.* Vitamin D insufficiency in obese children and relation with lipid profile. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, London, v. 66, n. 2, p. 132–134, 2015.

RYTER, S. W.; ALAM, J.; CHOI, A. M. K. Heme oxygenase-1 / carbon monoxide : from basic science to therapeutic applications. **Physiological Reviews**, Rockville, v. 86, p. 583–650, 2006.

SAMBROOK J.; FRITSCHI E. F.; MANIATIS T. Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 1989.

SAMSON, K. L. I. *et al.* Prevalence of vitamin D deficiency varies widely by season in Canadian children and adolescents with sickle cell disease. **Journal of Clinical Medicine**, London, v. 7, n. 2, p. 1–10, 2018.

SANTIAGO, R. P. *et al.* Laboratory and genetic biomarkers associated with cerebral blood flow velocity in hemoglobin SC disease. **Disease Markers**, Rome, v. 2017, p. 1–11, 2017.

SAPUNAR, J. *et al.* High prevalence of dyslipidemia and high atherogenic index of plasma in children and adolescents. **Revista Medica de Chile**, Santiago, v. 146, n. 10, p. 1112–1122, 2018.

SCHALL, J. I. *et al.* Vitamin A status, hospitalizations, and other outcomes in young children with sickle cell disease. **Journal of Pediatrics**, New York, v. 145, n. 1, p. 99–106, 2004.

SHALEV, H. *et al.* Hypocholesterolemia in chronic anemias with increased erythropoietic activity. **American Journal of Hematology**, New York, v. 82, n. 9, p. 807–811, 2007.

SHIN, J. *et al.* Predicting clinical outcomes using phase angle as assessed by bioelectrical impedance analysis in maintenance hemodialysis patients. **Nutrition**, Amsterdam, v. 41, p. 7–13, 2017.

SILVA, T. K. *et al.* Phase angle as a prognostic marker in patients with critical illness. **Nutrition in Clinical Practice**, Thousand Oaks, v. 30, n. 2, p. 261–265, 2015.

SILVEIRA, J. A. C. *et al.* Association between socioeconomic and biological factors and infant weight gain: Brazilian Demographic and Health Survey - PNDS-2006/07. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 91, n. 3, p. 284–291, 2015.

SLAUGHTER, M. *et al.*, Skinfold equations for estimation of body fatness in children and youth. **Human Biology**, v.60, p. 709–723, 1988.

SPARKENBAUGH, E.; PAWLINSKI, R. Interplay between coagulation and vascular inflammation in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, Hoboken, v. 162, n. 1, p. 3–14, 2013.

STAPEL, S. N. *et al.* Bioelectrical impedance analysis-derived phase angle at admission as a predictor of 90-day mortality in intensive care patients. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 72, n. 7, p. 1019–1025, 2018.

STEINBERG, M. H. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. **The Scientific World Journal**, London, v. 9, p. 46–67, 2009.

STEINBERG, M. H. Sickle cell anemia, the first molecular disease: Overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. **The Scientific World Journal**, London, v. 8, p. 1295–1324, 2008.

STEINBERG, M. H.; SEBASTIANI, P. Genetic modifiers of sickle cell disease. **American Journal Hematology**, Washington DC, v. 87, n. 8, p. 795–803, 2012.

STOJANOVIC, K. S.; LIONNET, F. Lactate dehydrogenase in sickle cell disease. **Clinica**

**Chimica Acta**, Amsterdam, v. 458, p. 99–102, 2016.

STUART, M. J.; NAGEL, R. L.; JEFFERSON, T. Sickle-cell disease. **Lancet**, London, v. 364, p. 1343–1360, 2004.

SUHY, A. *et al.* Regulation of CETP expression by upstream polymorphisms: reduced expression associated with rs247616. **Pharmacogenet Genomics**, Stuttgart, v. 25, n. 8, p. 394–401, 2015.

TAN, A. S. C. *et al.* A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for alpha-thalassemia. **Blood**, Washington Dc, v. 98, n. 1, p. 250–251, 2001.

TAYLOR, J. G. *et al.* Chronic hyper-hemolysis in sickle cell anemia: association of vascular complications and mortality with less frequent vasoocclusive pain. **Plos One**, San Francisco, v. 3, n. 5, p. e2095, 2008.

TEIXEIRA, R. S. *et al.* Higher values of triglycerides:HDL-cholesterol ratio hallmark disease severity in children and adolescents with sickle cell anemia. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 52, n. 10, p. e8833, 2019.

TEIXEIRA, R. S. *et al.* Associations between endothelial dysfunction and clinical and laboratory parameters in children and adolescents with sickle cell anemia. **Plos One**, San Francisco, v. 12, n. 9, p. 1–14, 2017.

THOMPSON, A. *et al.* Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with CETP mass and activity, lipid levels, and coronary risk. **Jama-Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 299, n. 23, p. 2777–2788, 2008.

TSHILOLO, L. *et al.* Hydroxyurea for children with sickle cell anemia in Sub-Saharan Africa. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 380, n. 2, p. 121–131, 2019.

UCCELLA, S. *et al.* Assessment of preoperative nutritional status using BIA-derived phase angle (PhA) in patients with advanced ovarian cancer: Correlation with the extent of cytoreduction and complications. **Gynecologic Oncology**, Amsterdam, v. 149, n. 2, p. 263–269, 2018.

VALENTE-FROSSARD, T. N. S. *et al.* Polymorphisms in genes that affect the variation of lipid levels in a Brazilian pediatric population with sickle cell disease : rs662799 APOA5 and rs964184 ZPR1. **Blood Cells, Molecules and Diseases**, Amsterdam, v. 80, p. 1-9, 2020.

VANDERJAGT, D. J. *et al.* Hypocholesterolemia in Nigerian children with sickle cell disease. **Journal of Tropical Pediatrics**, Oxford, v. 48, p. 156–161, 2002a.

VANDERJAGT, D. J. *et al.* Bioelectrical impedance analysis of the body composition of children and adolescents with sickle cell disease. **Journal of Pediatrics**, New York, v. 140, n. 6, p. 681–687, 2002b.

VANDERJAGT, D. J. *et al.* Phase angle and n-3 polyunsaturated fatty acids in sickle cell disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 87, n. 3, p. 252–254, 2002c.

- VANDERJAGT, D. J. *et al.* Phase angle correlates with n-3 fatty acids and cholesterol in red cells of Nigerian children with sickle cell disease. **Lipids in Health and Disease**, v. 2, n. 2, p. 1–8, 2003.
- VANDERJAGT, D. J. *et al.* Pulmonary function correlates with body composition in Nigerian children and young adults with sickle cell disease. **Journal of Tropical Pediatrics**, Oxford, v. 54, n. 2, p. 87–93, 2008.
- VENDRAME, F. *et al.* Hypcholesterolemia and dysregulated production of angiopoietin-like proteins in sickle cell anemia patients. **Cytokine**, Amsterdam, v. 120, p. 88–91, 2019.
- WALIA, G. K. *et al.* Association of common genetic variants with lipid traits in the Indian population. **Plos One**, San Francisco, v. 9, n. 7, p. 1–8, 2014.
- WANG, W. C. *et al.* Effect of hydroxyurea on growth in children with sickle cell anemia : Results of the HUG-KIDS Study. **The Journal of Pediatrics**, New York, v. 140, n. 2, p. 225–9, 2002.
- WARE, R. E. *et al.* Sickle cell disease. **The Lancet**, London, v. 390, n. 10091, p. 311–323, 2017.
- WAZA, A. A. *et al.* A review on heme oxygenase-1 induction : is it a necessary evil. **Inflammation Research**, Berlin, v. 67, n. 7, p. 579–588, 2018.
- WEATHERALL, D. J.; CLEGG, J. B. **Inherited haemoglobin disorders: An increasing global health problem**. Bulletin of the World Health Organization, v. 79, n. 8, p. 704–712, 2001.
- WHO WORKING GROUP. **Hereditary anaemias: genetic basis, clinical features, diagnosis, and treatment**. Bulletin of the World Health Organization, v. 60, n. 5, p. 643–60, 1982.
- WIĘCH, P. *et al.* Bioelectrical impedance phase angle as an indicator of malnutrition in hospitalized children with diagnosed inflammatory bowel diseases—a case control study. **Nutrients**, Basel, v. 10, n. 499, p. 1–10, 2018.
- WILLER, C. J. *et al.* Discovery and refinement of loci associated with lipid levels. **Nature Genetics**, London, v. 45, n. 11, p. 1274–1283, 2013.
- WINTERS, A. C.; KETHMAN, W.; KANTER, J. Vitamin D insufficiency is a frequent finding in pediatric and adult patients with sickle cell disease and correlates with markers of cell turnover. **Nutritional Disorders & Therapy**, Connecticut, v. 4, n. 2, p. 1–5, 2014.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Software for assessing growth of the worlds children and adolescents**. Who Antro Plus for Personal Computers Manual. 2009.
- WYKES, C. *et al.* Vitamin D deficiency and its correction in children with sickle cell anaemia. **Annals of Hematology**, Hannover, v. 93, n. 12, p. 2051–2056, 2014.
- YAHOUÉDÉHO, S. C. M. A. *et al.* Hydroxyurea alters hematological, biochemical and

inflammatory biomarkers in Brazilian children with SCA: Investigating associations with  $\beta$ S haplotype and  $\alpha$ -thalassemia. **Plos One**, San Francisco, v. 14, n. 7, p. 1–13, 2019.

ZAMBERLAN, P. *et al.* Bioelectrical impedance phase angle and morbidity and mortality in critically ill children. **Nutrition in Clinical Practice**, Silver Spring, v. 34, n. 1, p. 163–171, 2019.

ZEMEL, B. S. *et al.* Effects of delayed pubertal development, nutritional status, and disease severity on longitudinal patterns of growth failure in children with sickle cell disease. **Pediatric Research**, London, v. 61, n. 5, p. 607–613, 2007.

ZHANG, G. *et al.* A bioelectrical impedance phase angle measuring system for assessment of nutritional status. **Bio-Medical Materials and Engineering**, Utrecht, v. 24, n. 6, p. 3657–3664, 2014.

ZHANG, R. The ANGPTL3-4-8 model, a molecular mechanism for triglyceride trafficking. **Open Biology**, London, v. 6, n. 4, p. 1–11, 2016.

ZHANG, X. *et al.* Genetic polymorphism of APOB is associated with diabetes mellitus in sickle cell disease. **Human Genetics**, Berlin, v. 134, n. 8, p. 895–904, 2015.

ZHENG, J. *et al.* Non-traditional lipid profiles associated with ischemic stroke not hemorrhagic stroke in hypertensive patients: Results from an 8.4 years follow-up study. **Lipids in Health and Disease**, v. 18, n. 1, p. 1–9, 2019.

ZHOU, J. *et al.* Hydroxycarbamide adherence and cumulative dose associated with hospital readmission in sickle cell disease: a 6-year population-based cohort study. **British Journal of Haematology**, New England, v. 182, n. 2, p. 259–270, 2018.

ZIVOT, A. *et al.* Body mass index and the association with vaso-occlusive crises in pediatric sickle cell disease. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, New York, v. 39, n. 4, p. 314–317, 2017.

ZORCA, S. *et al.* Lipid levels in sickle-cell disease associated with hemolytic severity, vascular dysfunction and pulmonary hypertension. **British Journal of Haematology**, New England, v. 149, n. 3, p. 436–445, 2010.

## APENDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Hemominas

### ***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

O menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “*Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos Hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba da Fundação Hemominas*”. O motivo que nos leva a desenvolver este projeto é que queremos saber se a quantidade de gorduras estão relacionadas à doença falciforme; se o paciente tem também a alfa-talassemia (uma outra forma de anemia hereditária) além da doença falciforme e se algum quadro clínico apresentado está relacionado a estes exames.

Para esta pesquisa nós precisamos de sua autorização para: 1.coletar seus dados pessoais, os resultados de exames laboratoriais e clínicos incluindo o de Doppler transcraniano e outras informações que o médico da Fundação Hemominas escreveu no prontuário; 2. Coletar sangue para fazer estudos em laboratório tais como exame genético, gorduras do sangue e outras substâncias; 3. realizar medidas do corpo tais como: peso, altura,quantidade da gordura do corpo, sendo gordura total além da gordura braço e das costas, 4.conhecer alimentação do menor; 5. coletar informações da situação social e econômica de sua família.Todas as avaliações serão feitas no Hemocentro de Governador Valadares da Fundação Hemominas no dia agendado da consulta médica.

Para estes objetivos nós adotaremos os seguintes procedimentos com o menor:

1. Coletaremos um tubo de 4,5mL de sangue para separar o material genético, o DNA, e fazer estudos genéticos relacionados a doença falciforme. Em outro momento será coletado um tubo de 4,5 mL para as análises de gorduras e outras substâncias tais como vitaminas e minerais. Se necessário será coletado um outro tubo de 4,5mL para complementar as análises. Cada análise será realizada somente uma vez. As coletas de sangue vão acontecer durante a coleta de exames de rotina por um profissional da Hemominas, sendo apenas um tubo por vez.
2. Pesagem em balança, medida da altura em um estadiômetro, medidas do seu braço utilizando uma fita métrica e avaliação da gordura do braço e das costas utilizando um aparelho chamado adipômetro. O menor deverá estar sem sapatos e levantar a blusa

para as medidas na sua presença. Também iremos realizar um exame chamado bioimpedância. Neste exame o menor deverá deitar em uma maca e serão ligados dois fios chamados eletrodos nos pés e dois nas mãos.

3. Avaliação da alimentação por entrevista com sua participação em três momentos diferentes, sendo sempre no dia das consultas médicas na Fundação Hemominas a pedido do médico que o acompanha. Para esta avaliação será utilizado um kit de medidas caseiras composto por copo, concha, colher e prato. Além disso, um livro ajudará a definir as porções consumidas através da apresentação de imagens com tamanhos diferentes de porções
4. Avaliação da situação socioeconômica da família feita por entrevista com você para obter informações relacionadas a quanto tempo de estudo tem o responsável pelo menor ou o chefe da família, quantos aparelhos domésticos eletroeletrônicos tem na casa dentre outras. Não será investigada a renda familiar.

Serão necessários em média vinte minutos para realizar cada procedimento descrito acima.

Para participar deste projeto, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado direito à indenização. Ele será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Você, como responsável pelo menor, poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento, mesmo assinando o presente termo. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador que irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade. O menor não será identificado em nenhuma publicação.

Este projeto apresenta poucos riscos para o menor e podemos citar: no exame de bioimpedância não há nenhum desconforto mas em caso de uso de marcapasso pode afetar sua atividade elétrica. Além disso, existem poucos estudos utilizando a bioimpedância em gestantes. Por esta razão esta avaliação não poderá ser realizada nestas duas situações, inclusive em casos de risco de gestação, mesmo se ainda não comprovada. Assim, você e o menor a partir de 12 anos deverão assinar uma declaração sobre esta situação no dia da avaliação. O risco de quebra de confidencialidade será diminuído com a utilização de códigos alfanuméricos para identificar as informações de sua avaliação, as quais serão incluídas no



banco de dados que estará em um único computador com acesso protegido por senha onde somente os pesquisadores terão acesso. Caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, você terá assegurado o direito à indenização.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: os resultados poderão ajudar o médico a tratar melhor a doença falciforme; pois pode trazer novos conhecimentos da doença. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizado. Se houver alterações significativas, você e o menor serão orientados a buscar ajuda profissional e receberão orientações através de material impresso. Orientações diretas com um dos membros da equipe também poderão ser solicitadas através dos contatos disponibilizados neste documento.

Os dados e os instrumentos utilizados no projeto ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento de duas páginas encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

### Declaração de consentimento

Eu, \_\_\_\_\_,  
portador(a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, **responsável pelo menor**  
\_\_\_\_\_, prontuário \_\_\_\_\_, residente no  
endereço (Rua/Av) \_\_\_\_\_ Nº. \_\_\_\_\_ complemento  
\_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_ (MG),  
fone de contato ( ) \_\_\_\_\_ fui informado(a) dos objetivos do presente estudo  
de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei  
solicitar novas informações e modificar a decisão do menor sob minha responsabilidade de  
participar, se assim o desejar. Declaro que concordo com a participação do menor. Recebi uma  
via original deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de  
ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local: Governador Valadares, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Nome e Assinatura do(a) Responsável

---

Nome e Assinatura do(a) Pesquisador(a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

**CEP - Comitê de Ética em Pesquisa/UFJF**

Campus Universitário da UFJF

Pró-Reitoria de Pesquisa

CEP: 36036-900

Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

**CEP-Comitê de Ética em Pesquisa/Hemominas**

Alameda Ezequiel Dias,321–Santa Efigênia–Belo Horizonte –Minas Gerais. CEP30130-110

Fone:(31)3768-4587

**Pesquisador Responsável:**CIBELE VELLOSO RODRIGUES

Endereço: Av. Dr. Raimundo Monteiro Rezende, 330-Centro, CEP: 35010-177 Governador Valadares/ MG, Fone: (33) 91506745,

E-mail: cibelevelloso@ufjf.edu.br

## APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Escolar



### ***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

O menor \_\_\_\_\_, sob sua responsabilidade, está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “ESTUDOS DE INDICADORES NUTRICIONAIS E BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E MOLECULARES EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME ACOMPANHADOS NO HEMOCENTRO DE GOVERNADOR VALADARES, MINAS GERAIS”. Nós estamos convidando o menor porque ele não possui a doença falciforme que pode acontecer em algumas crianças. Esta doença é objeto do nosso projeto e o menor será incluído nela para fazer parte do grupo controle.

O objetivo desta pesquisa é avaliar o estado nutricional de crianças e adolescentes com doença falciforme e comparar com os resultados de crianças que não tem a doença. O motivo que nos leva a pesquisar esse assunto é a necessidade de conhecer melhor os efeitos da doença falciforme para buscar um melhor tratamento que possa contribuir para o desenvolvimento adequado das crianças e adolescentes acometidos por ela.

Se você concordar na participação do menor no estudo, realizaremos na escola em que ele estuda os procedimentos abaixo, sendo necessário, em média, vinte minutos para cada procedimento.

1. medida da altura e do peso após retirar os sapatos.
2. medida do percentual de gordura corporal por um exame chamado bioimpedância. Para isto o menor deverá deitar-se numa maca e fios, chamados eletrodos, serão ligados nos pés e mãos para realizar o teste.
3. aplicação de um questionário para obter informações sobre a situação socioeconômica de sua família que será feita através de uma entrevista com você para obter informações relacionadas a quanto tempo de estudo tem responsável ou chefe da família, quantos aparelhos domésticos eletroeletrônicos tem na casa dentre outras. Não será investigada a renda familiar. Esta avaliação será feita na escola ou em local indicado por você ou ainda, se preferir, o questionário poderá ser encaminhado para ser respondido em casa.

Para participar desta pesquisa, o menor sob sua responsabilidade não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado o direito à indenização. Ele será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. O (A) Sr. (a), como responsável pelo menor, poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação dele a qualquer momento, mesmo assinando o presente termo. A participação dele é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a).

O pesquisador irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

O menor não será identificado em nenhuma publicação. Os riscos que podemos citar nos procedimentos desta pesquisa são: no exame de bioimpedância não há nenhum desconforto mas em caso de uso de marcapasso pode afetar sua atividade elétrica. Além disso, existem poucos estudos utilizando a bioimpedância em gestantes. Por esta razão esta avaliação não poderá ser realizada nestas duas situações, inclusive em casos de risco de gestação, mesmo se ainda não comprovada. Assim, você e o menor a partir de 12 anos deverão assinar uma declaração sobre esta situação no dia da avaliação. O risco de quebra de confidencialidade será diminuído com a utilização de códigos numéricos para identificar as informações de sua avaliação, as quais serão incluídas no banco de dados que estará em um único computador com acesso protegido por senha onde somente os pesquisadores terão acesso.

Em relação aos benefícios podemos citar: a pesquisa contribuirá para identificar um melhor tratamento da doença falciforme, pois pode trazer novos conhecimentos. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizado. Se houver alterações significativas, você e o menor serão orientados a buscar ajuda profissional e receberão orientações através de material impresso. Orientações diretas com um dos membros da equipe também poderão ser solicitadas através dos contatos disponibilizados neste documento.

O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5(cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Universidade Federal de Juiz de Fora, campus Governador Valadares e a outra será fornecida ao Sr. (a).

### Declaração de consentimento

Eu, \_\_\_\_\_,  
portador(a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_, responsável pelo **menor** \_\_\_\_\_, nascido em \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_ com idade de \_\_\_\_\_ anos\*, prontuário \_\_\_\_\_, residente no endereço (Rua/Av) \_\_\_\_\_ N.º \_\_\_\_\_ complemento \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_ (MG), fone de contato (\_\_\_\_\_) \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Declaro que concordo em participar dessa pesquisa, que recebi uma via deste termo de assentimento e que me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_ .

Nome	Assinatura do responsável pelo menor	Data
------	--------------------------------------	------

Nome	Assinatura pesquisador	Data
------	------------------------	------

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

**CEP - Comitê de Ética em Pesquisa/UFJF** - Campus Universitário da UFJF. Pró-Reitoria de Pesquisa. CEP: 36036-900. Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

**CEP-Comitê de Ética em Pesquisa/Hemominas** - Alameda Ezequiel Dias,321, Santa Efigênia–Belo Horizonte –Minas Gerais. CEP30130-110. Fone:(31)3768-4587

**Pesquisador Responsável em GOVERNADOR VALADARES:** CIBELE VELLOSO

RODRIGUES. Endereço: Av. Dr. Raimundo Monteiro Rezende, 330-Centro, CEP: 35010-177 – Governador Valadares/ MG. Fone: (33) 91506745 - E-mail: cibele.velloso@ufjf.edu.br

## APENDICE C - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido - Hemominas

### TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você.....está sendo convidado(a) como **voluntário(a)** a participar do projeto de pesquisa “*Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos Hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba da Fundação Hemominas*”.

Para esta pesquisa nós precisamos de sua autorização para: 1. coletar seus dados pessoais, os resultados de exames laboratoriais e clínicos incluindo o de Doppler transcraniano e outras informações que o médico que o atende na Fundação Hemominas escreveu no seu prontuário médico; 2. Coletar um pouco do seu sangue para fazer estudos em laboratório tais como gorduras do sangue e outras substâncias; 3. realizar medidas do seu corpo tais como: peso, altura, quantidade da gordura do corpo, sendo gordura total além da gordura braço e das costas, 4. conhecer sua alimentação; 5. coletar informações da situação social e econômica de sua família. Todas as avaliações serão feitas no Hemocentro de Governador Valadares da Fundação Hemominas no dia agendado de sua consulta médica.

Os procedimentos que serão realizados com sua participação serão:

1. Coleta de um tubo de 4,5 mL de sangue para separar o material genético, o DNA, e fazer estudos genéticos relacionados a doença falciforme. Em outro momento será coletado um tubo de 4,5 mL para as análises de gorduras e outras substâncias tais como vitaminas e minerais. Se necessário será coletado um outro tubo de 4,5mL para complementar as análises. Cada análise será realizada somente uma vez. As coletas de sangue vão acontecer durante a coleta de exames de rotina por um profissional da Hemominas, sendo apenas um tubo por vez.
2. Medidas do corpo: pesagem em balança, medida da sua altura em um estadiômetro, medidas do seu braço utilizando uma fita métrica e avaliação da gordura do braço e das costas utilizando um aparelho chamado adipômetro. Você deverá estar sem sapatos e levantar a blusa para as medidas na presença de seu responsável. Também iremos realizar um exame chamado bioimpedância. Neste exame você deverá deitar em uma maca e serão ligados dois fios chamados eletrodos nos seus pés e dois nas suas mãos.

3. Avaliação da alimentação através de entrevista com você e com o seu responsável em três momentos diferentes, sendo sempre no dia das consultas médicas na Fundação Hemominas a pedido do médico que o acompanha. Para esta avaliação será utilizado um kit de medidas caseiras composto por copo, concha, colher e prato. Além disso, um livro ajudará a definir as porções consumidas através da apresentação de imagens com tamanhos diferentes de porções.
4. Avaliação da situação socioeconômica de sua família feita por entrevista com o responsável por você para obter informações relacionadas a quanto tempo de estudo tem seu responsável ou chefe da família, quantos aparelhos domésticos eletroeletrônicos tem na casa dentre outras. Não será investigada a renda familiar.

Serão necessários em média vinte minutos para realizar cada procedimento descrito acima.

A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum gasto, nem receberá qualquer dinheiro. Você será esclarecido(a) de qualquer coisa que desejar saber e pode aceitar participar ou não. Você e o seu responsável poderão retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento, mesmo assinando o presente termo. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Este projeto apresenta poucos riscos para você e podemos citar: dor no local da picada e formação de uma mancha roxa, o hematoma, no local da picada. O sangue será coletado por profissional experiente que atende na Fundação Hemominas durante a coleta de sangue para exames de rotina; a mancha roxa desaparece em alguns dias. O exame da bioimpedância não causa nenhum desconforto, mas em caso de uso de marcapasso pode afetar sua atividade elétrica e, em caso de gestantes, existem poucos estudos que utilizaram este aparelho. Por esta razão esta avaliação não poderá ser realizada nestas duas situações, inclusive em casos de risco de gestação, mesmo se ainda não comprovada. Assim, você e seu responsável deverão assinar uma declaração sobre esta situação no dia da avaliação. O risco de quebra de confidencialidade será diminuído com a utilização de códigos alfanuméricos para identificar as informações de sua avaliação, as quais serão incluídas no banco de dados que estará em um único computador com acesso protegido por senha onde somente os pesquisadores terão acesso. Caso sejam

identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, você terá assegurado o direito à indenização.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: os resultados poderão ajudar o seu médico a tratar melhor a doença falciforme; pois pode trazer novos conhecimentos da doença. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizado. Se houver alterações significativas, você e o seu responsável serão orientados a buscar ajuda profissional e receberão orientações através de material impresso. Orientações diretas com um dos membros da equipe também poderão ser solicitadas através dos contatos disponibilizados neste documento.

Os dados e instrumentos utilizados no projeto ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento de duas páginas encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

### **Declaração de consentimento**

Eu, \_\_\_\_\_,  
 portador (a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_ (se já tiver documento),  
 nascido em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ com idade de \_\_\_\_\_ anos, prontuário  
 \_\_\_\_\_, residente no endereço (Rua/Av) \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ Nº. \_\_\_\_\_ complemento  
 \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_ Cidade \_\_\_\_\_ (MG),  
 fone de contato ( ) \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos da presente  
 pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer  
 momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a  
 decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já  
 assinado, declaro que concordo em participar dessa pesquisa. Recebi uma cópia deste termo  
 de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.  
 Local: \_\_\_\_\_, data: \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 \_\_\_\_.



---

Assinatura do (a) menor

---

Assinatura do (a) pesquisador (a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

**CEP - Comitê de Ética em Pesquisa/UFJF**

Campus Universitário da UFJF

Pró-Reitoria de Pesquisa

CEP: 36036-900

Fone: (32) 2102- 3788 / E-mail: cep.propesq@ufjf.edu.br

**CEP-Comitê de Ética em Pesquisa/Hemominas**

Alameda Ezequiel Dias,321–Santa Efigênia–Belo Horizonte –Minas Gerais. CEP30130-110

Fone:(31)3768-4587

**Pesquisador Responsável em GOVERNADOR VALADARES: CIBELE VELLOSO**

RODRIGUES

Endereço: Av. Dr. Raimundo Monteiro Rezende, 330-Centro, CEP: 35010-177 –

Governador Valadares/ MG

Fone: (33) 91506745 - E-mail: cibele.velloso@ufjf.edu.br

**APÊNDICE D - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido –Escolar*****TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

Você \_\_\_\_\_, está *est* sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “*ESTUDOS DE INDICADORES NUTRICIONAIS E BIOMARCADORES BIOQUÍMICOS E MOLECULARES EM INDIVÍDUOS COM DOENÇA FALCIFORME ACOMPANHADOS NO HEMOCENTRO DE GOVERNADOR VALADARES, MINAS GERAIS*”. Nós estamos convidando você porque não possui a doença falciforme que pode acontecer em algumas crianças e adolescentes. Esta doença é objeto do nosso projeto e você poderá ser incluído nela para fazer parte do grupo controle.

O objetivo desta pesquisa é conhecer o estado nutricional, os hábitos alimentares e resultados de exames de sangue em crianças e adolescentes com doença falciforme e, posteriormente comparar alguns resultados com crianças que não tem doença falciforme. O motivo que nos leva a pesquisar esse assunto é a necessidade de conhecer melhor a doença para buscar um melhor tratamento que possa contribuir para o desenvolvimento adequado das crianças e adolescentes acometidos por ela.

Se você concordar em participação do estudo, realizaremos na escola em que você estuda os procedimentos abaixo, sendo necessário, em média, vinte minutos para cada procedimento.

1. medida da altura e do peso após retirar os sapatos.
2. medida do percentual de gordura corporal por um exame chamado bioimpedância. Para isto o menor deverá deitar-se numa maca e fios, chamados eletrodos, serão ligados nos pés e mãos para realizar o teste.
3. aplicação de um questionário para obter informações sobre a situação socioeconômica de sua família que será feita através de uma entrevista com você para obter informações relacionadas a quanto tempo de estudo tem responsável ou chefe da família, quantos aparelhos domésticos eletroeletrônicos tem na casa dentre outras. Não será investigada a renda familiar. Esta avaliação será feita na escola ou em local indicado por você ou

4. ainda, se preferir, o questionário poderá ser encaminhado para ser respondido em casa.

Para participar desta pesquisa, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, você tem assegurado o direito à indenização. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido (a).

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Os riscos envolvidos na pesquisa consistem em: no exame de bioimpedância não há nenhum desconforto mas em caso de uso de marcapasso pode afetar sua atividade. Além disso, existem poucos estudos utilizando a bioimpedância em gestantes. Por esta razão esta avaliação não poderá ser realizada nestas duas situações, inclusive em casos de risco de gestação, mesmo se ainda não comprovada. Assim, você e seu responsável deverão assinar uma declaração sobre esta situação no dia da avaliação. O risco de quebra de confidencialidade será diminuído com a utilização de códigos numéricos para identificar as informações de sua avaliação, as quais serão incluídas no banco de dados que estará em um único computador com acesso protegido por senha onde somente os pesquisadores terão acesso. Caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, você terá assegurado o direito à indenização.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar que os resultados poderão trazer novos conhecimentos sobre a doença falciforme que podem resultar em melhoria no tratamento. Para você haverá a possibilidade de conhecimento sobre seu estado nutricional, pois os resultados estarão à sua disposição e de seu responsável ao final do projeto. Se houver alterações significativas, você e seu responsável serão orientados a buscar ajuda de profissional e receberão orientações através de material impresso. Orientações diretas com um dos membros da equipe também poderão ser solicitadas através dos contatos disponibilizados neste documento.

O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável, por um período de 5(cinco) anos, e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resolução Nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Universidade Federal de Juiz de Fora, campus Governador Valadares e a outra será fornecida ao Sr. (a).

### Declaração de consentimento

Eu, \_\_\_\_\_,  
 portador (a) do documento de Identidade \_\_\_\_\_ (se já tiver documento),  
 nascido em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ com idade de \_\_\_\_\_ anos, prontuário  
 \_\_\_\_\_, residente no endereço (Rua/Av)  
 \_\_\_\_\_ Nº. \_\_\_\_\_  
 complemento \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_  
 Cidade \_\_\_\_\_ (MG), fone de contato ( ) \_\_\_\_\_ fui  
 informado (a) dos objetivos da presente pesquisa, de maneira clara e detalhada e esclareci  
 minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu  
 responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento  
 do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar dessa pesquisa. Recebi  
 uma via deste termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas  
 dúvidas.

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20 .

Nome Assinatura do menor Data

Nome Assinatura pesquisador

Data

Em caso de dúvidas, com respeito aos aspectos éticos desta pesquisa, você poderá consultar:

<b>Comitê de Ética em Pesquisa/UFJF</b>	<b>Comitê de Ética em Pesquisa/Hemominas</b>	<b>Pesquisadores Responsáveis em</b>
Campus Universitário da UFJF	Alameda Ezequiel Dias, 321 – Santa Efigênia – Belo Horizonte - Minas Gerais.	<b>GOVERNADOR VALADARES:</b>
Pró-Reitoria de Pesquisa CEP: 36036-900 Fone: (32) 2102- 3788 / E- mail: cep.propesq@ufjf.edu.br	CEP 30130-110 Fone:(31) 3768-4587	CIBELE VELLOSO RODRIGUES DOMÍCIO A. DA COSTA JÚNIOR

Endereço: Av. Dr. Raimundo  
Monteiros Rezende, 330-  
Centro CEP: 35010-177 –  
Governador Valadares/ MG  
Fone: (33) 91506745  
E-mail:  
naorigen@ufjf.edu.br

**APENDICE E - Questionário para coleta de dados clínicos**

Data da avaliação: \_\_\_\_\_

Paciente: \_\_\_\_\_

1. Ocorreram internações dentro de seis meses? Desde .....

Mês/ano	Dias internado	Motivo/sintomas

2. Teve algum problema sem internação dentro de 3 meses?

Desde .....

Mês/ano	Medicamento usado	Motivo/sintomas

Transusão: \_\_\_\_\_ Se sim, quando? \_\_\_\_\_

Uso de HU: \_\_\_\_\_

Outras medicações/suplementos: \_\_\_\_\_

Menarca? \_\_\_\_\_ Se sim, quando? \_\_\_\_\_

**APÊNDICE F - Tabela Suplementar 1: Correlação entre marcadores do estado nutricional e marcadores de gravidade na doença falciforme**

		VACM	BT	BD	BI	Ret	Hb	VCM	HCM	PLAQ	LT	LDH
EZ-IMCI	r	-0,133	-0,178	-0,184	-0,167	-0,132	0,354	-0,106	-0,070	-0,300	-0,272	-0,287
	p	0,282	<b>0,044</b>	<b>0,037</b>	0,059	0,147	<b>&lt;0,001</b>	0,237	0,433	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	<b>0,001</b>
	n	65	127	127	127	120	125	125	125	121	121	127
EZ-AI	r	-0,214	-0,071	-0,029	-0,074	-0,169	0,230	-0,027	0,001	-0,253	-0,079	-0,168
	p	0,082	0,421	0,743	0,407	0,063	<b>0,009</b>	0,761	0,996	<b>0,005</b>	0,387	0,057
	n	65	127	127	127	120	125	125	125	121	121	127
CB	r	-0,359	-0,095	-0,096	-0,090	-0,137	0,362	0,067	0,093	-0,202	-0,115	-0,341
	p	<b>0,004</b>	0,288	0,283	0,316	0,136	<b>&lt;0,001</b>	0,456	0,303	<b>0,027</b>	0,212	<b>&lt;0,001</b>
	n	62	124	124	124	118	123	123	123	118	118	124
ΣDC	r	0,039	-0,073	-0,051	-0,072	-0,061	0,167	-0,057	-0,090	-0,143	-0,049	-0,209
	p	0,760	0,418	0,568	0,421	0,505	0,063	0,527	0,320	0,119	0,596	<b>0,019</b>
	n	62	124	124	124	118	123	123	123	118	118	124
AMB	r	-0,381	-0,079	-0,094	-0,072	-0,144	0,331	0,057	0,106	-0,153	-0,081	-0,280
	p	<b>0,002</b>	0,380	0,294	0,425	0,117	<b>&lt;0,001</b>	0,530	0,239	0,096	0,379	<b>0,001</b>
	n	62	124	124	124	118	123	123	123	118	118	124
GC	r	-0,075	-0,131	-0,059	-0,134	-0,093	0,301	0,004	0,030	-0,104	-0,100	-0,255
	p	0,591	0,162	0,531	0,153	0,337	<b>0,001</b>	0,970	0,754	0,281	0,300	<b>0,006</b>
	n	52	114	114	114	107	112	112	112	108	108	114
Vitamina A	r	0,167	-0,093	-0,167	-0,078	-0,228	0,406	<0,001	-0,015	-0,291	-0,176	-0,442
	p	0,197	0,302	0,062	0,383	<b>0,015</b>	<b>&lt;0,001</b>	0,998	0,868	<b>0,002</b>	0,058	<b>&lt;0,001</b>
	n	59	124	124	124	112	117	117	117	114	114	124
Vitamina D	r	0,242	-0,324	-0,205	-0,323	-0,189	0,256	-0,247	-0,252	-0,318	-0,238	-0,284
	p	0,060	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,021</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,043</b>	<b>0,005</b>	<b>0,007</b>	<b>0,006</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,010</b>	<b>0,001</b>
	n	59	126	126	126	113	118	118	118	115	115	126

**Tabela Suplementar 1:** Correlação entre marcadores do estado nutricional e marcadores de gravidade na doença falciforme (continuação)

		VACM	BT	BD	BI	Ret	Hb	VCM	HCM	PLAQ	LT	LDH
APOA1	r	0,090	-0,242	-0,145	-0,242	-0,168	0,198	-0,152	-0,181	-0,071	-0,235	-0,187
	p	0,474	<b>0,006</b>	0,101	<b>0,006</b>	0,067	<b>0,027</b>	0,091	<b>0,044</b>	0,439	<b>0,010</b>	<b>0,033</b>
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127
Não HDL-C	r	0,009	0,081	0,131	0,067	0,244	-0,089	0,061	0,019	0,165	0,065	0,126
	p	0,941	0,363	0,138	0,451	<b>0,007</b>	0,324	0,499	0,836	0,071	0,480	0,156
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127
HDL-C	r	-0,037	-0,211	-0,133	-0,211	-0,239	0,200	-0,018	-0,036	-0,068	-0,262	-0,132
	p	0,768	<b>0,016</b>	0,132	<b>0,017</b>	<b>0,009</b>	<b>0,026</b>	0,846	0,694	0,461	<b>0,004</b>	0,136
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127
TG	r	0,107	0,288	0,245	0,280	0,290	-0,316	0,001	-0,016	0,217	0,319	0,300
	p	0,396	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,000</b>	0,991	0,859	<b>0,017</b>	<b>0,000</b>	<b>0,001</b>
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127
TG/HDL	r	-0,062	0,191	0,178	0,181	0,315	-0,181	0,044	0,043	0,227	0,243	0,193
	p	0,623	<b>0,030</b>	<b>0,044</b>	<b>0,040</b>	<b>0,000</b>	<b>0,044</b>	0,631	0,635	<b>0,013</b>	<b>0,008</b>	<b>0,029</b>
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127
AIP	r	0,088	0,295	0,244	0,287	0,292	-0,274	0,048	0,035	0,186	0,312	0,288
	p	0,487	<b>0,001</b>	<b>0,005</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>	<b>0,002</b>	0,593	0,700	<b>0,042</b>	<b>0,001</b>	<b>0,001</b>
	n	63	127	127	127	117	122	122	122	118	118	127

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: EZ-IMCI, escore Z do índice de massa corporal por idade; EZ-AI, escore Z do índice altura por idade. CB, circunferência braquial;  $\Sigma$ DC, soma das dobras cutâneas tricípital e subescapular; GC, gordura corporal; AMB, área muscular do braço; apoA1, apolipoproteína A1; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.



**APÊNDICE G - Tabela Suplementar 2:** Associação entre estado nutricional e marcadores de gravidade na doença SC em análise de regressão linear múltipla

Variável	$\hat{\beta}$	IC	P
Reticulócitos (%) - R <sup>2</sup> = 0,24; p <0,001			
Constante	-0,025	-0,685; 0,635	-
TG	0,017	0,009; 0,025	<b>&lt;0,001</b>
Hemoglobina (g/dL) - R <sup>2</sup> = 0,08; p = 0,032			
Constante	11,445	11,180; 11,710	-
EZ-IMCI	0,239	0,021; 0,456	<b>0,032</b>
Leucócitos (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) - R <sup>2</sup> = 0,09; p = 0,027			
Constante	3,56	0,41; 6,71	-
Vitamina A	9,73	1,15; 18,31	<b>0,027</b>
LDH (U/L) - R <sup>2</sup> = 0,20; p = 0,011			
Constante	276,677	187,136; 366,218	-
TG	1,393	0,535; 2,251	<b>0,002</b>
Vitamina A	-278,247	-490,991; -65,504	<b>0,011</b>

Fonte: próprio autor.

Nota:  $\hat{\beta}$ , coeficiente de regressão; IC, intervalo de confiança; EZ-IMCI, escore Z do índice de massa corporal; TG, triglicerídios; LDH, lactato desidrogenase. Variáveis que entraram em cada análise - reticulócitos: triglicerídios, não-HDL-C; hemoglobina: EZ-IMCI; leucócitos: vitamina A; LDH: vitamina A, colesterol total, triglicerídios; bilirrubina total: triglicerídios e somatório de dobras cutâneas; plaquetas: EZ-IMCI. Hidroxiureia, idade e sexo foram incluídos em todas as análises. <sup>1</sup>Os níveis de bilirrubina total passaram por transformação logarítmica. Foi utilizado o método *stepwise*. Resultados significativos (p<0,05) das variáveis analisadas destacados em negrito.

**APÊNDICE H - Tabela Suplementar 3: Dados antropométricos, clínicos e laboratoriais de acordo com o sexo na anemia falciforme**

Variáveis	n	Meninos %	n	Meninas %	p
Freq. hosp.					
0	31	77,50	25	73,53	0,901
1-2	9	22,50	9	26,47	
Freq. dor					
0	24	60,00	18	52,94	0,707
1-4	16	40,00	16	47,06	
		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	
EZ-IMCI	41	-0,91 (1,05)	34	-0,59 (1,03)	0,196
EZ-AI	41	-0,92 (0,98)	34	-1,13 (1,33)	0,457
Vitamina A	36	0,23 (0,20-0,29)	32	0,30 (0,26-0,40)	<b>0,002</b>
25OHD	36	20,53 (5,39)	33	21,30 (6,73)	0,603
ApoA1 mg/dL	40	104,00 (95,50-110,75)	33	104,00 (95,50-115,00)	0,765
ApoB mg/dL	40	58,57 (15,31)	33	72,00 (17,62)	<b>0,001</b>
CT mg/dL	40	113,50 (107,00-132,25)	33	131,00 (115,00-147,50)	<b>0,018</b>
LDL-C mg/dL	40	63,28 (16,97)	33	76,80 (21,60)	<b>0,005</b>
Não-HDL-C mg/dL	40	74,50 (68,00-93,25)	33	89,00 (74,00-109,50)	<b>0,010</b>
HDL-C mg/dL	40	37,00 (34,00-44,50)	33	35,00 (34,00-41,50)	0,494
TG mg/dL	40	70,50 (57,25-104,25)	33	83,00 (66,50-106,50)	0,579
TG/HDL-C	40	2,06 (1,56-2,71)	33	2,28 (2,04-2,95)	0,086
AIP	40	-0,07 -0,13-0,0075	33	-0,03 -0,09-0,01	0,625
VACM cm/s	39	114,00 (99,70-127,00)	29	114,00 (99,70-137,50)	0,464
VdACI cm/s	39	105,32 (19,98)	29	103,06 (15,52)	0,601
BT mg/dL	37	2,41 (1,54-3,41)	33	2,28 (1,27-3,12)	0,403
BD mg/dL	37	0,55 (0,18)	33	0,52 (0,17)	0,456
BI mg/dL	37	1,83 (1,02-3,01)	33	1,65 (0,82-2,46)	0,350
LDH U/L	37	581,00 (452,00-716,00)	33	460,00 (387,00-626,50)	<b>0,012</b>
Reticulócitos %	37	2,57 (1,44)	31	2,68 (1,29)	0,733
Hb g/dL	38	7,95 (6,50-9,12)	33	8,70 (8,00-9,70)	<b>0,007</b>
HbF%	24	8,60 (4,77-15,75)	20	16,15 (5,17-23,17)	0,109
VCM fL	38	95,42 (11,33)	33	95,00 (11,68)	0,878
HCM pg	38	31,09 (3,94)	33	31,08 (4,62)	0,990
LT x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	39	11,11 (3,57)	31	8,49 (4,36)	<b>0,009</b>
Plaquetas x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	39	490,00 (410,00-543,00)	31	443,00 (320,00-571,00)	0,219

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: n, número de participantes; EZ-IMCI, escore z do índice de massa corporal/idade; EZ-AI, escore z do índice altura/idade; ApoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C, razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma; Freq. hosp., frequência de hospitalizações no período de seis meses; Freq. dor., frequência de dor no período de três meses; VACM, velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias; VdACI, velocidade média máxima nas artérias carótidas internas; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, Lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (dp) e por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (Q1-Q3). Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson são apresentados em frequência absoluta e relativa. Resultados significativos (p<0,05) destacados em negrito.

**APÊNDICE I - Tabela Suplementar 4:** Co-herança de  $\alpha$ -talassemia na população de estudo de acordo com o genótipo da doença falciforme

Variáveis	DF	AF	HbSC	p
	(n = 135)	(n = 74)	(n = 61)	
	n (%)		n (%)	
<i>Genótipos da <math>\alpha</math>-tal n (%)</i>				
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	103 (76,30)	57 (77,03)	46 (75,41)	0,479
$\alpha\alpha/-\alpha^{3,7Kb}$	30 (22,22)	17 (22,97)	13 (21,31)	
$-\alpha^{3,7Kb}/-\alpha^{3,7Kb}$	1 (0,74)	0	1 (1,64)	
$\alpha\alpha/-\alpha^{4,2Kb}$	1 (0,74)	0	1 (1,64)	
Prevalência de $\alpha$ -tal	32 (23,70)	22,97	24,59	-

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: DF: doença falciforme. AF, anemia falciforme; HbSC, doença SC. Análise realizada por teste Qui-quadrado de Pearson.

**APÊNDICE J - Tabela Suplementar 5: Dados antropométricos, clínicos e laboratoriais de acordo com uso de Hidroxiureia na anemia falciforme**

Variáveis	n	AF	n	AF	p
		Sem Hidroxiureia (n= 34)		Hidroxiureia (n= 39)	
		%			
Hosp.					
0	30	85,71	26	66,67	0,065
1-2	5	14,28	13	33,33	
Freq. dor					
0	23	65,71	19	48,72	0,216
1-4	12	34,29	20	51,28	
		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)	Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)		
EZ-IMCI	36	-0,88 (0,96)	39	-0,66 (1,12)	0,365
EZ-AI	36	0,99 (1,09)	39	-1,03 (1,21)	0,876
CB cm	33	18,80 (17,00-22,20)	39	19,00 (17,00-21,00)	0,977
∑DC mm	33	14,36 (12,05-18,38)	39	15,53 (11,60-19,16)	0,591
AMB cm	33	24,32 (17,73-28,71)	39	21,15 (17,18-26,34)	0,363
GC %	31	12,58 (9,76-17,83)	31	15,08 (12,17-20,00)	0,328
Vitamina A mg/L	31	0,24 (0,20-0,30)	37	0,29 (0,24-0,35)	0,065
25OHD ng/mL	32	20,70 (15,72-23,67)	37	20,20 (17,80-22,60)	0,787
ApoA1 mg/dL	34	99,50 (94,00-107,00)	39	107,00 (97,00-116,00)	<b>0,041</b>
ApoB mg/dL	34	59,67 (15,95)	39	68,97 (18,04)	<b>0,022</b>
CT mg/dL	34	113,00 (103,75 135,00)	39	124,00 (114,00-148,00)	<b>0,017</b>
LDL-C mg/dL	34	57,10 (49,40-77,45)	39	71,20 (58,80-86,40)	<b>0,016</b>
Não-HDL-C mg/dL	34	74,50 (68,00-101,00)	39	86,00 (73,00-106,00)	0,127
HDL-C mg/dL	34	35,00 (32,00-41,00)	39	38,00 (35,00-46,00)	<b>0,013</b>
TG mg/dL (todos)	34	79,50 (62,25-110,75)	39	70,00 (59,00-102,00)	0,394
< 10 anos	34	60,00 (53,00-80,00)	39	74,50 (55,00-94,50)	0,403
≥ 10 anos	34	96,00 (71,00-130,00)	39	70,00 (62,00-106,50)	0,107
TG/HDL-C	34	2,19 (1,80-2,56)	39	2,14 (1,90-2,89)	0,965
AIP	34	-0,04 (-0,12 - -0,02)	39	-0,07 (-0,12 -0,00)	0,425
VACM cm/s	30	115,00 (99,65-124,00)	38	114,00 (99,70-141,00)	0,834
VdACI cm/s	30	106,64	38	102,55	0,349
BT mg/dL	33	2,99 (2,51-4,05)	37	1,53 (1,11-2,41)	<b>&lt;0,001</b>
BD mg/dL	33	0,62 (0,15)	37	0,46 (0,16)	<b>&lt;0,001</b>
BI mg/dL	33	2,30 (1,80-3,35)	37	1,03 (0,70-1,80)	<b>&lt;0,001</b>
LDH U/L	33	634,15 (190,09)	37	478,24 (157,35)	<b>&lt;0,001</b>
Reticulócitos %	31	2,82 (1,47)	37	2,45 (1,26)	0,279
Hb g/dL	33	7,60 (6,50-8,80)	38	8,75 (8,17-9,70)	<b>0,001</b>
HbF %	12	5,40 (3,80-8,65)	32	15,55 (8,62-21,42)	<b>0,003</b>
VCM fL	33	89,21 (7,28)	38	100,44 (11,85)	<b>&lt;0,001</b>
HCM pg	33	29,16 (3,00)	38	32,75 (4,47)	<b>&lt;0,001</b>
LT 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	32	12,04 (2,96)	38	8,19 (4,18)	<b>&lt;0,001</b>
Plaq. x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	32	489,00 (434,50-557,25)	38	460,50 (357,25-551,00)	0,220

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: n, número de participantes; EZ-IMCI, escore z do índice de massa corporal/idade; EZ-AI, escore z do índice altura/idade; CB, circunferência braquial; ∑DC, soma das dobras cutâneas tricípital e subescapular; AMB, área muscular do braço; GC, percentual de gordura corporal; ApoA1, apolipoproteína A1; apoB, apolipoproteína B; CT, colesterol total; LDL-C, lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL-C; lipoproteínas não- lipoproteína de alta densidade; HDL-C, lipoproteína de alta densidade; TG, triglicerídios; TG/HDL-C,

razão de triglicerídeos para lipoproteína de alta densidade; AIP, índice aterogênico de plasma; Hosp., frequência de hospitalizações no período de seis meses; Freq. dor., frequência de dor no período de três meses; VACM, velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias; VdACI, velocidade média máxima nas artérias carótidas internas; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, Lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais;. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultados por teste Qui-Quadrado de Pearson são apresentados em frequência absoluta e relativa. Resultados significativos ( $p < 0,05$ ) destacados em negrito.

**APÊNDICE L - Tabela Suplementar 6:** Dados antropométricos, clínicos e laboratoriais de acordo com o nível de HDL-C na anemia falciforme

Variáveis	n	HDL-C		n	HDL-C		p
		≥ 40 mg/dL %			< 40 mg/dL %		
Hosp.							
0	18	69,23		36	78,26		0,571
1-2	8	30,77		10	21,74		
Freq. dor							
0	15	57,69		26	56,52		1,00
1-4	11	42,31		20	43,48		
		Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)			Média (dp) ou mediana (Q1-Q3)		
VACM cm/s	24	116,50 (98,87-141,75)		42	114,00 (99,92-122,00)		0,580
VdACI cm/s	24	100,89 (20,75)		42	106,60 (16,52)		0,255
BT mg/dL	25	1,88 (1,16-2,83)		45	2,47 (1,60-3,43)		0,072
BD mg/dL	25	0,48 (0,17)		45	0,56 (0,17)		0,057
BI mg/dL	25	1,37 (0,77-2,26)		45	1,92 (1,16-2,83)		0,125
LDH U/L	25	553,00 (432,50-647,50)		45	500,00 (412,00-662,50)		0,883
Reticulócitos %	24	2,18 (1,13)		42	2,95 (1,39)		<b>0,018</b>
Hb g/dL	25	9,18 (1,79)		44	8,12 (1,26)		<b>0,013</b>
HbF %	16	15,55 (8,32-24,15)		26	9,85 (5,55-18,07)		0,204
VCM fL	25	97,60 (12,22)		44	94,40 (10,87)		0,284
HCM pg	25	31,74 (4,36)		44	30,94 (4,12)		0,458
LT 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	25	8,90 (6,83-11,20)		43	11,50 (8,80-14,10)		<b>0,024</b>
Plaq. x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>	25	558,00 (370,50-516,00)		43	494,00 (403,00-562,00)		0,220

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: n, número de participantes; Hosp. Hospitalizações no período de seis meses; Freq. dor., frequência de dor no período de três meses; VACM, velocidade média máxima nas artérias cerebrais médias; VdACI, velocidade média máxima nas artérias carótidas internas; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, Lactato desidrogenase; Hb, hemoglobina; HbF, hemoglobina fetal; VCM, volume corpuscular médio; HCM, hemoglobina corpuscular média; LT, leucócitos totais; Plaq., plaquetas. Hemoglobina fetal não foi analisada devido número baixo (n= 3) em um dos grupos. Resultados das análises por teste T de *Student* são apresentados por média (desvio padrão), enquanto resultados por teste U de *Mann Whitney* são apresentados por mediana (primeiro e terceiro quartis). Resultado por teste Qui-Quadrado de Pearson é apresentado em frequência absoluta e relativa. Resultados significativos (p<0,05) destacados em negrito.

**APÊNDICE M - Tabela Suplementar 7:** Relação de subgrupos caso e controle dos níveis de HDL-C dos polimorfismos no gene *CETP* em comparação de dominância e níveis de hemoglobina em indivíduos com anemia falciforme

Variáveis	p	OR IC 95%	Variáveis	p	OR IC 95%
rs247616 e rs183130 CC	<b>0,017</b>	4,441 1,296; 13,230	rs3764261 CC	<b>0,024</b>	3,796 1.192; 12,090
Hemoglobina	<b>0,007</b>	0,553 0,361 - 0,847	Hemoglobina	<b>0,008</b>	0,569 0,375 - 0,865

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Nota: Modelo  $p < 0,05$ ,  $n = 69$  indivíduos. O grupo de referência para variável categórica da análise de comparação da dominância foi a presença do alelo de menor frequência para todos os SNPs. Caso: HDL-C  $< 40$  mg/dl e controle: HDL-C  $\geq 40$  mg/dL.

## ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP da UFJF



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos Hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba da Fundação Hemominas.

**Pesquisador:** Cibele Velloso Rodrigues

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

**Versão:** 8

**CAAE:** 36767114.1.0000.5147

**Instituição Proponente:** Universidade Federal de Juiz de Fora - ICB

**Patrocinador Principal:** FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 2.146.315

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de projeto de pesquisa visando estudo diagnóstico e avaliativo de dislipidemia em indivíduos com doença falciforme.

Este projeto foi anteriormente aprovado (3a. versão) e, depois, julgado pendente ao retornar com emenda em sua 4a. e 5a. versões. Aprovado na 6a. versão e 7a. versões com emendas exigidas pelo CEP da Fundação Hemominas, retorna em 8a. versão com emenda para incorporar novos membros à equipe. Apresentação do projeto esta clara, detalhada de forma objetiva, descreve as bases científicas que justificam o estudo, de acordo com as disposições da Resolução CNS 466/12 de 2012, item III.

#### Objetivo da Pesquisa:

Mantido o objetivo geral de projeto aprovado e atendidas as adequações especificadas em pareceres anteriores. O objetivo da pesquisa está bem delineado, apresenta clareza e compatibilidade com a proposta, tendo adequação da metodologia aos objetivos pretendidos, de acordo com o que prevê a Norma Operacional CNS 001 de 2013, item 3.4.1 - 4.

continuação do Parecer: 2.146.315

Ausência	TACONTROLEESCOLARadendo2.pdf	02/05/2017 18:06:23	Cibele Velloso Rodrigues	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto de pesquisa adendo2.pdf	02/05/2017 18:02:52	Cibele Velloso Rodrigues	Aceito
Folha de Rosto	Folha de rosto Projeto Estudos diagnostico e avaliativo.PDF	27/09/2014 16:30:58		Aceito

#### Situação do Parecer:

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

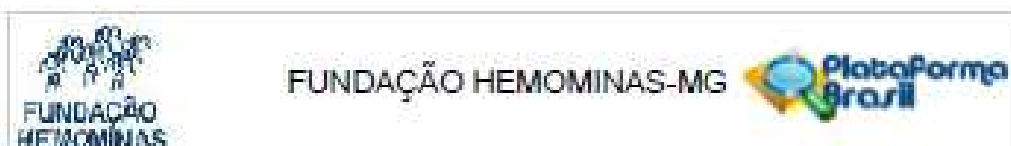
JUIZ DE FORA, 29 de Junho de 2017

Assinado por:  
Patricia Aparecida Fontes Vieira  
(Coordenador)

Endereço: JOSE LOURENCO KELMER S/N  
Bairro: SAO PEDRO CEP: 36.036-900  
UF: MG Município: JUIZ DE FORA  
Telefone: (32)2102-3788 Fax: (32)1102-3788 E-mail: cep.propesq@uff.edu.br



## ANEXO B - Parecer consubstanciado do CEP da Fundação Hemominas



FUNDAÇÃO HEMOMINAS-MG



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos Hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba/Fundação Hemominas.

**Pesquisador:** Cibele Velloso Rodrigues

**Área Temática:** Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

**Versão:** 2

**CAAE:** 82449917.7.3001.5118

**Instituição Proponente:** FUND. CENTRO HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE MINAS GERAIS

**Patrocinador Principal:** FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE MINAS GERAIS

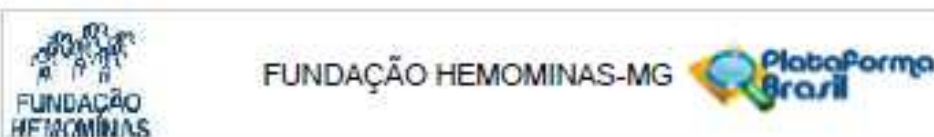
#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.556.803

#### Apresentação do Projeto:

As complicações clínicas em indivíduos com doença falciforme (DF), principalmente na anemia falciforme (HbSS), embora primariamente decorrentes de uma mutação única no gene da  $\beta$ -globina, são pleiotrópicas e acarretam uma significativa redução da qualidade e expectativa de vida. Além disso, geram aumento considerável de custo para o tratamento e acompanhamento ambulatorial dos acometidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Além do amplo espectro de manifestações clínicas, diferenças marcantes no nível de gravidade entre os indivíduos acometidos caracterizam a DF, pois genes modificadores e fatores não genéticos estão também implicados no fenótipo da doença. Vários marcadores clínicos, laboratoriais e genéticos já foram caracterizados na DF e o diagnóstico destes marcadores deve ser realizado e suas informações aplicadas em populações cuja correlação esteja significativamente associada ao prognóstico clínico da doença. Embora vários relatos confirmem que há um quadro de dislipidemia hipocolesterolemia e hipertrigliceridemia (HTG), prevalente nos pacientes com DF em diferentes populações e etnias, há poucos relatos de associação de polimorfismos de único nucleotídeo (SNPs) de genes relacionados ao metabolismo de lipídios. A HTG na DF foi fortemente correlacionada com marcadores de gravidade da hemólise intravascular, ativação endotelial, disfunção vascular e hipertensão pulmonar. A proposta contempla os diagnósticos laboratoriais e genéticos do

Endereço: Avenida Esqueleto, 321  
 Bairro: Santa Elzéria CEP: 30130-110  
 UF: MG Município: BELO HORIZONTE  
 Telefone: (31)3756-4629 Fax: (31)3756-4600 E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br



Contribuição do Parecer: 3.556.803

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_PACIENTE_HEMOMINAS_adendo2GV.pdf	21/12/2017 07:22:17	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CONTROLADO_ESCOLAR_adendo2GV.pdf	21/12/2017 07:21:45	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Biorepositorio_responsavel_pelo_menor.pdf	21/12/2017 07:21:28	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TA_PACIENTE_adendo2GV.pdf	21/12/2017 07:20:01	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TA_CONTROLADO_ESCOLAR_adendo2GV.pdf	21/12/2017 07:19:35	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
Outros	Folha_rosto.PDF	21/12/2017 07:18:11	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
Parecer Anterior	PARECER_CEPUFJF.pdf	21/12/2017 07:15:07	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
Parecer Anterior	Parecer_CEPHemominas_Emenda3.pdf	21/12/2017 07:14:52	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_adendo2.pdf	21/12/2017 07:09:53	Nicemar Rodrigues Carvalho Cruz	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BELO HORIZONTE, 05 de Setembro de 2019

Assinado por:  
Daniel Gonçalves Chaves  
(Coordenador(a))

Endereço: Alameda Esquelel 02a. 321  
Bairro: Santa Elégia CEP: 30.130-110  
UF: MG Município: BELO HORIZONTE  
Telefone: (31)3755-4523 Fax: (31)3755-4500 E-mail: cep@hemominas.mg.gov.br

## ANEXO C - Formulário de Classificação Econômica Brasil

### AVALIAÇÃO SOCIOECONÔMICA

Prezado responsável pelo menor \_\_\_\_\_ participante da pesquisa, “Estudos diagnóstico e avaliativo de biomarcadores de dislipidemias em indivíduos com doença falciforme (genótipos HbSS e HbSC) acompanhados nos Hemocentros de Governador Valadares e de Uberaba da Fundação Hemominas”. Iremos fazer algumas perguntas sobre itens do domicílio para efeito de classificação econômica. Todos os itens de eletroeletrônicos que vou citar devem estar funcionando, incluindo os que estão guardados. Caso não estejam funcionando, considere apenas se tiver intenção de consertar ou repor nos próximos seis meses.

**INSTRUÇÃO: Responder cada item. Se a resposta for SIM, então anote a quantidade que possui.**

**1 ° ) No domicílio tem \_\_\_\_ (LEIA CADA ITEM). 2°) Quantos?**

Na casa tem:	Sim Não	QUANTIDADE			
		1	2	3	4+
Automóvel de passeio exclusivamente para uso particular.					
Empregado mensalista, considerando apenas o que trabalha pelo menos cinco dias por semana.					
Máquinas de lavar roupa. Não considerar tanquinho.					
Banheiro					
DVD, incluindo qualquer dispositivo que leia DVD. Desconsiderando					
Geladeira					
Freezer independente ou parte da geladeira duplex.					
Computador, considerando computadores de mesa, laptops, notebooks e netbooks. Desconsiderando tablets, palms ou smartphones.					
Lavadora de louças					
Forno de micro-ondas					
Motocicleta, desconsiderando as usadas exclusivamente para uso profissional					
Máquina secadora de roupas, considerando a máquina que lava e seca.					

<b>A água utilizada neste domicílio é proveniente de?</b>	
1	Rede geral de distribuição
2	Poço ou nascente
3	Outro meio
<b>Considerando o trecho da rua do seu domicílio, você diria que a rua é:</b>	
1	Asfaltada/Pavimentada
2	Terra/Cascalho

**Qual é a escolaridade do chefe/responsável da família? Considere como chefe da família a pessoa que contribui com a maior parte da renda do domicílio.**

<b>Grau de instrução</b>	<b>X</b>
Analfabeto / Fundamental I incompleto	
Fundamental I completo / Fundamental II incompleto	
Fundamental completo/Médio incompleto	
Médio completo/Superior incompleto	
Superior completo	