

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

Domício Antônio da Costa Júnior

Avaliação do crescimento de indivíduos com anemia falciforme: aspectos
endócrinos, bioquímicos e moleculares

Governador Valadares

2019

Domício Antônio da Costa Júnior

**Avaliação do crescimento de indivíduos com anemia falciforme: aspectos
endócrinos, bioquímicos e moleculares**

Dissertação de mestrado 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 Mestre em Bioquímica e Biologia Molecular.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cibele Velloso Rodrigues.

Governador Valadares

2019

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

Costa Júnior, Domício Antônio.

Avaliação do crescimento de indivíduos com anemia falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares / Domício Antônio Costa Júnior. -- 2019.

146 f. : il.

Orientadora: Cibele Velloso Rodrigues

Dissertação (mestrado acadêmico) - 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, 2019.

1. Anemia falciforme. 2. Crescimento. 3. Hormônio do crescimento. 4. Hidroxiureia. I. Velloso Rodrigues, Cibele, orient. II. Título.

Domício Antônio da Costa Júnior

**AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DE INDIVÍDUOS COM ANEMIA
FALCIFORME: ASPECTOS ENDÓCRINOS, BIOQUÍMICOS E
MOLECULARES**

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

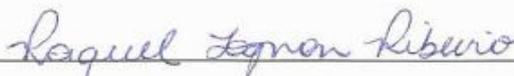
Aprovada em 01/11/2019

BANCA EXAMINADORA



Dr. André Rolim Belisário

Fundação Hemominas – Belo Horizonte - MG



Prof.ª. Dr.ª. Raquel Tognon Ribeiro

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) – *Campus* Governador Valadares



Prof.ª. Dr.ª. Cibele Velloso Rodrigues

Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF) – *Campus* Governador Valadares

AGRADECIMENTO

A Deus pelo dom da vida, pela saúde e pela energia para superar os obstáculos.

Aos pacientes com anemia falciforme e seus responsáveis, por aceitarem participar da pesquisa.

Aos meus pais, Domício Costa e Margarida Porto Costa, pelo constante incentivo.

Aos meus irmãos, amigos e demais familiares que me incentivaram durante a caminhada.

À minha noiva, Gisele Queiroz, pelo amor, compreensão e auxílio em várias etapas do trabalho.

À Cibele Velloso Rodrigues como coordenadora do Programa Multicêntrico, pelo zelo constante em cada detalhe do curso, sejam eles relativos à suas normas, à visibilidade da instituição, à qualidade do corpo docente e disciplinas ofertadas, ou ao aproveitamento acadêmico dos alunos. Também agradeço ao privilégio de ter a Prof^a Cibele como orientadora, tendo me assistido com esmero e me inspirado na árdua tarefa de dedicar à pesquisa.

Aos professores do programa pelas aulas que ficaram eternamente marcadas em minha memória. Imagino o quanto de dedicação foi empregada em cada uma dessas aulas, sendo que serei sempre grato a vocês.

Ao Hemocentro Regional de Governador Valadares (HRGV) pela acolhida, em especial à coordenadora, Myriene Brasileiro Vilar, pelo constante apoio.

À Célia Maria da Silva pelos ensinamentos e opiniões estratégicas.

Agradeço aos demais funcionários do HRGV pelo auxílio direto em várias etapas do trabalho, em especial: aos médicos Ana Paula Pinho Santos, André Barreto Amaral e Maysa Maria Dias de Vasconcellos Cunha, aos auxiliares administrativos Juliano Cruz Gusmão e Denisson Brasileiro Bastos, entre outros profissionais de saúde, como Maria do Perpétuo Socorro Spínola e Mirna Mara Miguel.

Aos colegas do NAOriGeN (Núcleo de Apoio e orientação em Genética e Nutrição) Antônio Frederico de Freitas Gomides, Cibele Velloso Rodrigues, Maria

Anete Santana Valente, Nilcemar Rodrigues Carvalho Cruz e Thaisa Netto Souza Valente Frossard, pelas mais diversas contribuições ao trabalho.

Aos alunos dos projetos institucionais Iara Teixeira da Silva, Rafael Lauro Silva Lima e Luiza Horst Neto pela grande colaboração no trabalho. E à Brisa Machado Pereira, pelo auxílio em meus primeiros passos no laboratório de pesquisa.

Aos bioquímicos Fabrício José Porto Costa, do Laboratório Unimed São João Del Rei, Thiago Mourão de Miranda, do Instituto Carlos Chagas, e Wismar Fernandes Mourão, do Laboratório Laborval, pela assessoria técnica relativa aos exames laboratoriais.

Ao Laboratório Laborval, pela parceria e competência na realização dos exames laboratoriais.

Ao André Rolim Belisário e Tânia Maria Barreto Rodrigues pela valiosa contribuição dada ao Projeto durante o Exame de Qualificação do Mestrado.

À FAPEMIG/PPSUS MCT, CAPES, UFJF/Propp 2017 - 2018, Finep/CT-Infra 2013 e PROQUALI-UFJF pelo financiamento para aquisição dos insumos e/ou equipamentos utilizados no projeto e bolsas de estudo.

RESUMO

A anemia falciforme (AF) apresenta manifestações clínicas graves e multissistêmicas. As complicações da AF são inversamente proporcionais às concentrações de hemoglobina fetal (HbF), entre outros fatores modificadores, com destaque para a co-herança de deleção da alfa-talassemia. Embora a AF não afete o crescimento embrionário, aos dois anos de idade pode-se notar um déficit no peso e estatura, que vai se acentuando progressivamente, com destaque maior na fase de adolescência, quando o atraso puberal faz acentuar a diferença entre o peso e altura das crianças comparadas aos controles saudáveis. O prejuízo no crescimento de crianças com AF inclui diversas causas, como a hipóxia tecidual, anemia, vasculopatia, desnutrição, infecções de repetição, hipogonadismo, deficiência na secreção do hormônio do crescimento (GH) ou alteração no eixo hormônio do crescimento/fator de crescimento semelhante à insulina (GH/IGF1). A terapia com hidroxiureia (HU) vem impactando na diminuição da morbimortalidade de adultos e crianças. Nesta pesquisa avaliou-se de forma longitudinal o perfil de crescimento, a eficácia da terapêutica com HU em atenuar os prejuízos no crescimento, o papel do eixo GH/IGF1 e a influência de fatores modificadores, como a HbF e alfa-talassemia, em crianças de 3 a 12 anos com AF. O estudo envolveu 39 pacientes cadastrados no Hemocentro de Governador Valadares da Fundação Hemominas com média de idade de $8,2 \pm 2,2$ anos, 51,3% (n = 20) do sexo masculino e 64,1% (n = 25) sob tratamento com HU. A prevalência de baixa estatura nas crianças foi de 10,3% (n = 4), embora entre os pais tenha sido de 14,4% (n = 11). O EZ da estatura das crianças foi $-0,75 \pm 1,1$, sendo que 15,4% (n = 6) delas apresentaram níveis séricos de IGF1 ajustados pela idade cronológica (IC) abaixo da normalidade. Avaliando a diferença entre o EZ/estatura dos pais e EZ/estatura das crianças, encontramos maior prejuízo na estatura das crianças em relação ao alvo genético naquelas mais baixas, com menor previsão de estatura final (PEF) calculada por meio da idade óssea (IO) e co-herança de alfa-talassemia. Por outro lado, avaliando-se o eixo GH/IGF1 pelo EZ/IGF1 e EZ/IGFBP3 ajustados para a IC ou IO, observaram-se maior comprometimento do eixo nas crianças com menor índice de massa corporal (IMC), maior atraso na IO em relação à IC, maiores níveis séricos do hormônio estimulante da tireoide (TSH), menor estatura, menor nível de HbF, co-herança de alfa-talassemia e com menos tempo de uso da HU. Em conclusão, embora

a estatura das crianças com AF não se mostrou prejudicada em relação à estatura dos pais, existe um grupo de crianças com maior comprometimento do seu potencial de crescimento. Entre os possíveis fatores associados ao comprometimento estatural nessa parcela das crianças com AF estão a co-herança de alfa-talassemia, menor proporção de HbF, maiores níveis de TSH, menor IMC, IO atrasada e o uso de HU por pouco tempo. Estes fatores mostraram associação com menor eficiência do eixo GH/IGF1.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Hidroxiureia. Hormônio do crescimento. Crescimento. Estatura.

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) has severe and multisystem clinical manifestations. The complications of SCA are inversely proportional to fetal hemoglobin (HbF) concentrations, among other modifying factors, with emphasis on co-inheritance of alpha-thalassemia. Although the SCA does not affect embryonic growth, at two years of age can be noted a deficit in weight and stature, which will gradually accentuate, with greater prominence for the adolescence stage, when the pubertal delay accentuates the difference between the weight and height of children with SCA compared to healthy controls. Growth impairment of children with SCA includes several causes such as tissue hypoxia, anemia, vaso-occlusion, malnutrition, recurrent infections, hypogonadism, growth hormone (GH) deficiency or abnormalities in the growth hormone/insuline-like growth factor 1 (GH/IGF1) axis. Hydroxyurea (HU) therapy has been affecting the reduction of adult and child morbidity and mortality. In this research, we longitudinally evaluated the growth profile, the effectiveness of HU therapy in attenuating growth impairment, the role of the GH/IGF1 axis, and the influence of modifying factors, such as HbF and alpha-thalassemia, in children from 3 to 12 years with SCA. The study involved 39 patients registered in the unit blood center of Governador Valadares of the Hemominas Foundation with a mean age of 8.2 ± 2.2 years, 51.3% (n = 20) male and 64.1% (n = 25) under treatment with HU. The z-score of children's height was -0.75 ± 1.1 , and 15.4% (n = 6) of them had serum IGF1 levels adjusted by chronological age (CA) below normal. The prevalence of short stature in children was 10.3% (n = 4), although among parents it was 14.4% (n = 11). Evaluating the difference between z-score/height of parents and z-score/height of children, we found greater impairment in height of children in relation to the genetic target in those with shorter height, lower prediction of final height (PFH) calculated by bone age (BA) and alpha-thalassemia co-inheritance. On the other hand, when the GH/IGF1 axis was assessed by the z-score/IGF1 and z-score/IGFBP3, adjusted for CA or BA, there was a significant greater impairment of the axis in children with lower body mass index (BMI), greater delay in BA compared to CA, higher serum levels of thyroid stimulating hormone (TSH), shorter stature, lower HbF level, co-inheritance of alpha-thalassemia

and use of HU for a short period. In conclusion, although the height of children with SCA was not impaired in relation to the height of parents, there was a group of children with greater impairment of their growth potential. Among the possible factors associated with height impairment in this portion of children with AF are co-inheritance of alpha-thalassemia, lower HbF ratio, higher TSH levels, lower BMI, delayed BA, and use of UH for less than one year. These factors were associated with lower GH / IGF1 axis efficiency.

Keywords: Sickle cell anemia. Hydroxyurea. Growth hormone. Growth. Stature.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fisiopatogenia da doença falciforme.....	23
Figura 2 - Expectativa de vida na doença falciforme.....	25
Figura 3 – Ação do eixo GH/IGF1 no crescimento.....	32
Figura 4 - Potencial de crescimento utilizado pelo método BoneXpert.....	38
Figura 5 - Fluxograma da Pesquisa.....	47
Quadro 1- Relação dos exames laboratoriais coletados do prontuário médico.....	49
Quadro 2- Relação dos exames bioquímicos realizados pelos participantes da pesquisa.....	53
Figura 6 – Fluxograma das atividades e características da população estudada quanto ao uso ou não da hidroxiureia.....	57
Gráfico 1 – EZ do IGF1 ajustado para idade cronológica e o EZ da idade óssea dividido entre o grupo de crianças com EZ do IMC < -1 ou ≥ -1.....	62
Gráfico 2 – EZ do IGF1 ajustado para idade cronológica e diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e das crianças nos grupos de pacientes com EZ da estatura < -1 ou ≥ -1.....	63
Gráfico 3 – Diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e das crianças nos grupos de pacientes com EZ da PEF-IO < -1 e com EZ da PEF-IO ≥ -1.....	64
Gráfico 4 – Comparação do EZ do IGF1 ajustado para a idade óssea entre o grupo das crianças que utilizaram a hidroxiureia por < 1 ano (incluindo as que não utilizaram o medicamento) ou as que utilizaram por ≥ 1 ano.....	69
Gráfico 5 – Correlação entre o EZ da estatura com o EZ da IO e com a diferença entre a idade cronológica e a idade óssea.....	71
Gráfico 6 – Correlação entre o EZ do IGF1 ajustado para a idade óssea com o EZ da IO e com a diferença entre a idade cronológica e a idade óssea.....	71
Gráfico 7 – Diferença no EZ do IGF1 ajustado para a idade cronológica entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e com HbF ≥ 10%.....	75
Gráfico 8 – Diferenças nos valores médios de reticulócitos entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e com HbF ≥ 10%.....	76
Gráfico 9 – Diferenças nos valores médios da SpO2 entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e HbF ≥ 10%.....	77
Gráfico 10 – Diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças nos grupos com ou sem a co-herança de alfa-talassemia.....	78

Gráfico 11 – Diferença no EZ do IGF1 ajustado para a idade óssea das crianças nos grupos com ou sem co-herança de alfa-talassemia	79
Gráfico 12 – Comparação entre o EZ da PEF baseado na idade óssea e do EZ da idade óssea entre os sexos.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características das crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto às variáveis nominais	58
Tabela 2 – Características das 39 crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto aos eventos clínicos	58
Tabela 3 – Características das crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto às variáveis contínuas	59
Tabela 4 – Características antropométricas das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	59
Tabela 5 – Características relativas à velocidade crescimento de 13 crianças com anemia falciforme participantes do estudo	60
Tabela 6 – Classificação de Tanner para o desenvolvimento puberal das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	60
Tabela 7 – Dados relativos à idade óssea de 29 crianças com anemia falciforme participantes do estudo	61
Tabela 8 – Características antropométricas dos pais das crianças com anemia falciforme participantes do estudo.....	61
Tabela 9 – Resultados das análises bioquímicas das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	65
Tabela 10 – Descrição dos exames bioquímicos séricos fora da faixa de referência das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	66
Tabela 11 – Resultado da classificação do Doppler transcraniano nas crianças com anemia falciforme participantes do estudo	67
Tabela 12 – Velocidades obtidas no Doppler transcraniano e oximetria de pulso das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	67
Tabela 13 – Dados relativos ao uso de hidroxureia entre as crianças com anemia falciforme participantes do estudo.....	68
Tabela 14 – Dados relativos ao tipo de apresentação da hidroxureia e níveis de hemoglobina Fetal das crianças com anemia falciforme participantes do estudo	69
Tabela 15 – Correlações entre diversos parâmetros das crianças com anemia falciforme participantes do estudo.....	72
Tabela 16 – Características antropométricas ao nascimento das crianças com anemia falciforme participantes do estudo.....	74

Tabela 17 – Características das quatro crianças com histórico de baixo peso ao nascimento entre as participantes do estudo	74
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ACA	Artéria cerebral anterior
ACI	Artéria carótida interna
ACM	Artéria cerebral média
ACP	Artéria cerebral posterior
AF	Anemia falciforme
ALS	<i>Acid labile subunit</i> (subunidade ácido lábil)
AVE	Acidente vascular encefálico
BE	Baixa estatura
BEF	Baixa estatura familiar
BP	Bayley-Pinneau
BPN	Baixo peso ao nascimento
BX	BoneXpert
CAN	Contagem absoluta de neutrófilos
CaO ₂	Conteúdo arterial de oxigênio
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CI	Crescimento insuficiente
Cm	Centímetro
CN	Comprimento ao nascimento
CVO	Crise vaso-oclusiva
DCV	Doença cerebrovascular
DF	Doença falciforme

Dif. EZ Pais - Cç	Diferença entre a média do EZ da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças participantes
DNA	Ácido desorribonucleico
DP	Desvio padrão
DTC	Doppler transcraniano
EA	Estatura alvo
EZ	Escore Z
EZ-estatura-pais	EZ médio da estatura dos pais
EZ-IGF1-IC	EZ do IGF1 ajustado para a idade cronológica
EZ-IGF1-IO	EZ do IGF1 ajustado para a idade óssea
EZ-IGFBP3-IC	EZ do IGFBP3 ajustado para a idade cronológica
EZ-IGFBP3-IO	EZ do IGFBP3 ajustado para a idade óssea
FDA	<i>US Food and Drug Admnistration</i>
FEO	Fração de extração de oxigênio
FSC	Fluxo sanguíneo cerebral
GH	<i>Growth hormone</i> (hormônio do crescimento)
GHRH	<i>Growth hormone releasing hormone</i> (hormônio liberador do hormônio do crescimento)
GP	Greulich-Pyle
GWAS	<i>Genome-wide association study</i> (estudo de associação ampla do genoma)
Hb	Hemoglobina
HbF	Hemoglobina fetal
HCM	Hemoglobina corpuscular média
Hm	Hematimetria
HRGV	Hemocentro Regional de Governador Valadares

HTC	Hematócrito
HU	Hidroxiureia
HUSOFT	<i>Hydroxyurea Safety and Organ Toxicity</i>
IC	Idade cronológica
IGF1	<i>Insuline-like growth fator 1</i> (fator de crescimento semelhante à insulina 1)
IGF1R	Receptor de IGF1
IGFBP	IGF1 <i>binding proteins</i> (proteínas ligantes de IGF1)
IO	Idade óssea
ISO	<i>International Organization for Standardization</i> (Organização Internacional para Padronização)
NBR	Norma Brasileira
NM	Norma Mercosul
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PC	Potencial de crescimento
PEF	Previsão de estatura final
PEF-IO	Previsão de estatura final baseado na idade óssea
PETN-MG	Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais
PHHF	Persistência hereditária da HbF
PIG	Pequeno para a idade gestacional
QTL	<i>Quantitative trait loci</i> (<i>loci</i> de características quantitativas)
RC	Razão de chance
RCCP	Retardo constitucional do crescimento e puberdade
RCIU	Restrição do crescimento intrauterino
RNA	Ácido ribonucleico

RT	Regime de transfusão
RWT	Roche-Wainer-Thissen
SHR	<i>Sitting height ratio</i> (razão altura sentada/altura)
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> (polimorfismo de nucleotídeo único)
SpO2	Saturação periférica de oxigênio
STA	Síndrome torácica aguda
STOP	<i>Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia</i>
T4L	Tiroxina livre
TA	Termo de Assentimento
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TCTH	Transplante de células tronco hematopoiéticas
TGO	Transaminase oxalacética
TGP	Transaminase pirúvica
TWITCH	<i>Transcranial Doppler With Transfusions Changing to Hydroxyurea</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TCTH	Transplante de célula tronco hematopoiética
TSH	<i>Thyroid-stimulating hormone</i> (hormônio estimulante da tireoide)
TW	Tanner-Whitehouse
VC	Velocidade de crescimento
VCM	Volume corpuscular médio

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	ASPECTOS MOLECULARES DA ANEMIA FALCIFORME.....	21
1.2	EPIDEMIOLOGIA	22
1.3	FISIOPATOGENIA	22
1.4	APRESENTAÇÃO CLÍNICA	24
1.5	DOENÇA CEREBROVASCULAR E DOPPLER TRANSCRANIANO.....	24
1.6	FATORES MODIFICADORES GENÉTICOS	27
1.7	BIOMARCADORES	28
1.8	QUALIDADE DE VIDA NA DOENÇA FALCIFORME.....	29
1.9	CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO NA DOENÇA FALCIFORME	30
1.10	BAIXA ESTATURA NA POPULAÇÃO GERAL.....	31
1.11	EIXO GH/IGF1	31
1.12	BAIXA ESTATURA E EIXO GH/IGF1 NA DOENÇA FALCIFORME	33
1.13	ASPECTOS GENÉTICOS DA ALTURA HUMANA	34
1.14	MÉTODOS DE PREVISÃO DA ESTATURA ADULTA	36
1.15	OPÇÕES TERAPÊUTICAS NA ANEMIA FALCIFORME	39
1.16	TRATAMENTO COM HIDROXIUREIA.....	40
2	JUSTIFICATIVA	43
3	OBJETIVOS	45
3.1	OBJETIVO PRIMÁRIO.....	45
3.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	45
4	MATERIAL E MÉTODOS	46
4.1	DESENHO E LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO	46
4.2	POPULAÇÃO ESTUDADA E ASPECTOS ÉTICOS	48
4.3	COLETA DE DADOS DE PRONTUÁRIO E AVALIAÇÃO CLÍNICA.....	49
4.4	ANÁLISES BIOQUÍMICAS.....	51
4.5	ANÁLISES RADIOLÓGICAS E PREVISÃO DE ESTATURA FINAL	53
4.6	ANÁLISES MOLECULARES	54
4.7	GENOTIPAGEM DOS ALELOS DE DELEÇÃO DO GENE <i>HBA</i> PARA ALFA-TALASSEMIA	54
4.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA	54
5	RESULTADOS	56

5.1	DESCRIÇÃO DA POPULAÇÃO	56
5.2	AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA, DA PUBERDADE E DA MATURAÇÃO ÓSSEA	57
5.3	EXAMES BIOQUÍMICOS	64
5.4	DOPPLER TRANSCRANIANO E OXIMETRIA DE PULSO	66
5.5	USO DE HIDROXIUREIA.....	67
5.6	CORRELAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS.....	70
5.7	AVALIAÇÕES DOS EFEITOS DOS NÍVEIS DE HbF E CO-HERANÇA DE ALFA-TALASSEMIA	75
5.8	IMPACTO DO SEXO NA AVALIAÇÃO	79
6	DISCUSSÃO	82
6.1	INFLUÊNCIA DA TERAPIA COM HIDROXIUREIA NO CRESCIMENTO.....	84
6.2	IMPACTOS DO EIXO GH/IGF1 E DA HEMOGLOBINA FETAL NO CRESCIMENTO DAS CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME	89
6.3	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E SUAS INTERFERÊNCIAS NA ESTATURA	91
6.4	COMPARAÇÃO DA ESTATURA DAS CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME COM A ESTATURA DOS PAIS.....	92
6.5	EFEITO DA CO-HERANÇA DE ALFA-TALASSEMIA SOBRE A ESTATURA DAS CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME.....	93
6.6	MATURAÇÃO ÓSSEA NA ANEMIA FALCIFORME.....	93
6.7	LIMITAÇÕES DO ESTUDO	95
7	CONCLUSÃO.....	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	APENDICE 1 – BANCO DE DADOS LABORATORIAL.....	108
	APENDICE 2 – BANCO DE DADOS CLÍNICO.....	110
	APENDICE 3 – BANCO DE DADOS ENDOCRINOLÓGICO.....	116
	APENDICE 4 – EXAME CLÍNICO.....	119
	APENDICE 5 – QUESTIONÁRIO AVALIATIVO	123
	APENDICE 6 – RESULTADOS GERAIS.....	127
	APENDICE 7 –TERMO DE CONSENTIMENTO.....	129
	APENDICE 8 –TERMO DE ASSENTIMENTO.....	132
	APENDICE 9 –TERMO DE CONSENTIMENTO (BIORREPOSITÓRIO)....	133
	APENDICE 10 –TERMO DE ASSENTIMENTO (BIORREPOSITÓRIO).....	136
	ANEXO 1 – GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO EM MENINOS	138

ANEXO 2 – GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO EM MENINAS	139
ANEXO 3 – ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER EM MENINAS.....	140
ANEXO 4 – ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER EM MENINOS	141
ANEXO 5 – SEMANAS DE GESTAÇÃO E PESO AO NASCER PARA DEFINIÇÃO DE PIG	142
ANEXO 6 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA CÁLCULO DO SCORE Z DO IGF-1 E IGFBP-3	143
ANEXO 7 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	146

1 INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é a doença monogênica mais comum no mundo. Resulta de uma mutação pontual na cadeia β da hemoglobina (Hb) formando uma Hb anormal denominada HbS (derivado do inglês *sickle*). A HbS desoxigenada forma polímeros nas hemácias, que passam a adotar um formato de foice, que prejudica o fluxo sanguíneo por pequenos vasos e desencadeiam as crises vaso-oclusivas (CVO) e a disfunção endotelial mediada pela hemólise (HABARA e STEINBERG, 2016; LIU *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). O termo anemia falciforme (AF) se refere a uma forma de DF em que a mutação da HbS ocorre em homozigose, representando a forma mais comum, mais grave e mais estudada de todas. A combinação da mutação da HbS com outras variantes da Hb, como HbC, HbE e HbD, ou com diferentes mutações da β -talassemia, podem conduzir a mais de 15 genótipos diferentes para a DF (HABARA e STEINBERG, 2016; REES e GIBSON, 2012). As manifestações da DF podem incidir sobre quase todos os órgãos do corpo, podendo ser agudas ou crônicas. As CVO, por exemplo, cursam com lesão tecidual e dor, queixa frequente dos portadores de DF, sendo que nos casos mais graves pode levar a disfunção do órgão, como ocorre na síndrome torácica aguda (STA). Quanto às manifestações crônicas, elas podem estar relacionadas à vasculopatia, como a doença cerebrovascular (DCV), hipertensão pulmonar, priapismo e retinopatia, ou lesão isquêmica progressiva dos órgãos, levando à insuficiência renal, insuficiência hepática, hipoesplenismo e doenças ósseas (MEIER; FASANO; LEVETT, 2017; PIEL; STEINBERG; REES, 2017; BELISÁRIO *et al.*, 2020). A gravidade da AF é impactada por diversos fatores modificadores, como os níveis de hemoglobina fetal (HbF), que se traduzem na diminuição de diversas complicações da AF, ou a deleção de um ou mais genes alfa (*HBA*), que também está associada a modificações no fenótipo das crianças com AF (BELISÁRIO *et al.*, 2010b, 2015). Dentro do espectro de complicações crônicas está o prejuízo no crescimento estatural, que vai se acentuando progressivamente a partir dos 2 anos de idade e é agravado pelo atraso no início da puberdade (PHEBUS; GLONINGER; MACIAK, 1984; LUPORINI *et al.*, 2001). Estudos prévios associaram a baixa estatura (BE) de crianças com DF à deficiência do hormônio do crescimento (*growth hormone* - GH) secundário à isquemia ou infarto hipofisário, ao encontrar uma prevalência aumentada dessas crianças com

perfil hormonal e exames de imagem compatível com a condição (NUNLEE-BLAND *et al.*, 2004; SOLIMAN, ASHRAF T. *et al.*, 1997). A hidroxiureia (HU) é um medicamento cada vez mais utilizado em indivíduos com DF de todas as faixas etárias, sendo capaz de diminuir as CVO, atenuar a disfunção crônica dos órgãos e aumentar a sobrevida (NEVITT; JONES; HOWARD, 2017; TSHILOLO *et al.*, 2018). Estudos em crianças e adolescentes também têm mostrado a eficácia da HU em prevenir os prejuízos no crescimento e no desenvolvimento da puberdade (HANKINS *et al.*, 2005, 2014; RANA *et al.*, 2014). No entanto, tanto a resposta ao tratamento como a toxicidade ao medicamento é muito variável, podendo demandar outro tipo de estratégia terapêutica (MAIER-REDELSPERGER *et al.*, 1998; STROUSE, JOHN J *et al.*, 2008; ZHU *et al.*, 2017). Trabalhos prévios que avaliaram o crescimento e o desenvolvimento de crianças e adolescentes com anemia falciforme não abordaram o impacto do uso da HU sobre a secreção do GH, nem sobre os hormônios a ele associados, como o fator de crescimento semelhante à insulina 1 (*insuline-like growth factor 1* – IGF1) ou nas proteínas ligantes de IGF1 (*IGF1 binding proteins* – IGFBP). Hipotetizamos que a HU também é capaz de atenuar os prejuízos da AF sobre os hormônios hipofisários. Portanto, comparou-se a estatura das crianças participantes com os dados da população de referência (OMS, 2007) e com a estatura dos pais, e avaliaram-se o impacto do uso da terapia com HU e de fatores modificadores genéticos ou ambientais no eixo GH/IGF1 de indivíduos com AF atendidos no Hemocentro Regional de Governador Valadares (HRGV).

1.1 Aspectos moleculares da anemia falciforme

A DF, também denominada síndrome falciforme, foi a primeira doença hereditária monogênica humana a ser caracterizada em nível molecular (BANDEIRA *et al.*, 2004; HIGGS; WOOD, 2008). A DF é um tipo de hemoglobinopatia que compreende um grupo de doenças hereditárias com padrão autossômico recessivo em que a herança do alelo S (c.20A>T - NCBI *Reference Sequence*: NM_000518.4; SNP rs334; p.GLU6VAL) do gene *HBB* (loco 11p15.4; MIM 141900) em estado homocigoto (anemia falciforme [AF] MIM # 603903) ou em combinação com outra variante mutante, mais comumente o alelo da HbC (rs33930165; c.19G>A;

p.GLU6LIS) ou com um alelo β -talassêmico, resulta na presença de mais de 50% de concentração de HbS no sangue.

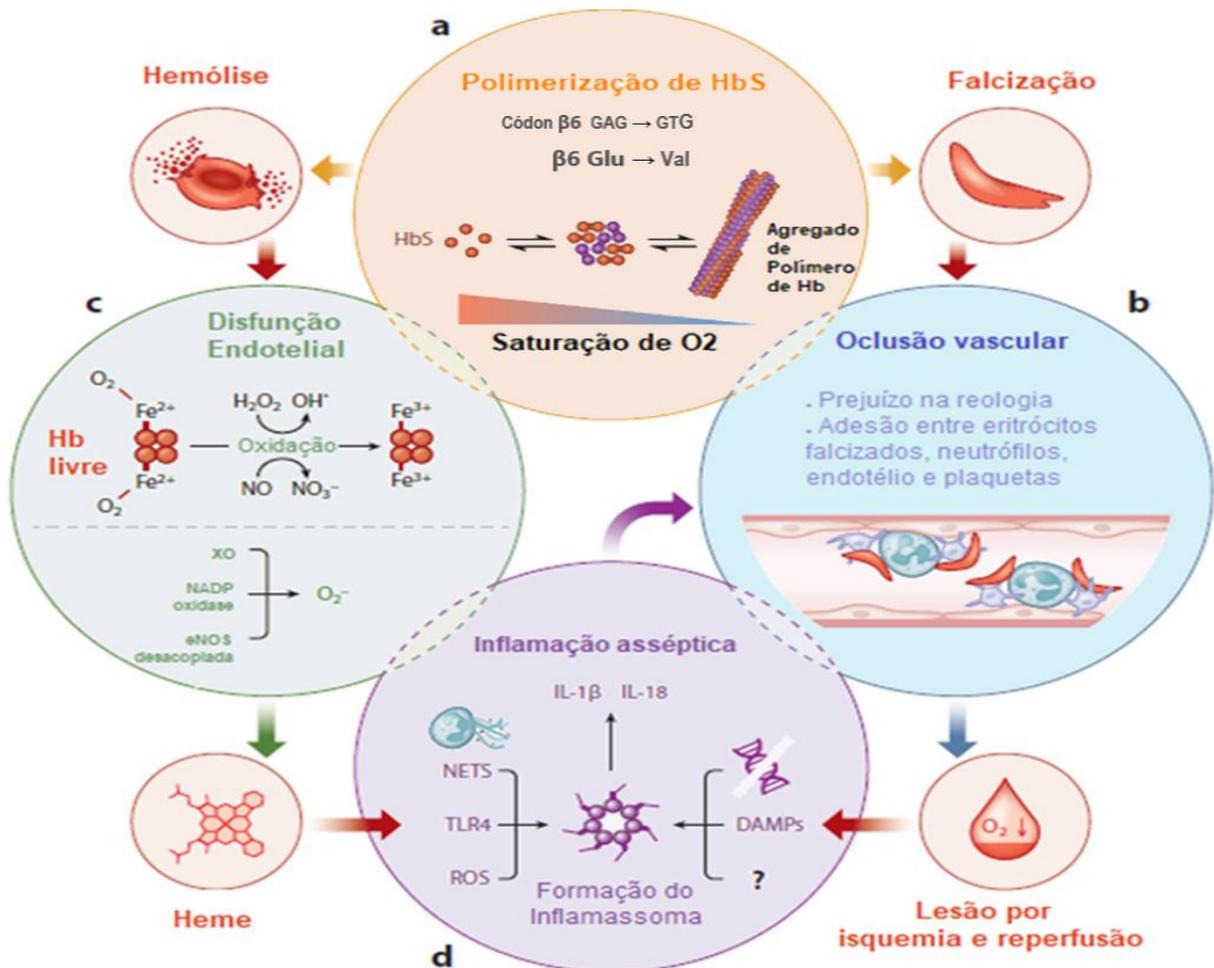
1.2 Epidemiologia

A DF representa a doença genética mais comum no mundo, ocorrendo o nascimento de aproximadamente 275.000 crianças acometidas por ano (GOMES *et al.*, 2017). A mutação que configura a DF teve uma de suas origens no continente africano, sendo uma doença que afeta principalmente a população negra (CANÇADO; JESUS, 2007). No Brasil a incidência de DF é de 1 para cada 1000 nascidos vivos, com uma variação nacional que passa pelo estado da Bahia com 1:650, seguido de Minas Gerais com 1:1400 e atingindo a menor frequência no Rio Grande do Sul, com incidência de 1:13.000 (FERNANDES *et al.*, 2010; LOBO *et al.*, 2014). Em relação aos genótipos específicos temos uma maior incidência para a forma homozigótica HbSS, que configura a anemia falciforme. Os dados epidemiológicos da AF no Estado de Minas Gerais variam de uma incidência de 1 caso para cada 2.581 crianças triadas em todo o estado de Minas Gerais (0,04%) a 1: 3000 (0,03%) das crianças triadas no município de Governador Valadares (JANUARIO, 2002).

1.3 Fisiopatogenia

A pequena modificação estrutural provocada pelo alelo HbS (derivado do inglês *sickle*) é responsável por alterações físico-químicas nas propriedades da Hb, que passa a apresentar uma tendência a se polimerizar sob situações de baixa tensão de oxigênio, o que pode levar a uma deformação da parede da hemácia, que se torna rígida e em forma de foice (falcização das hemácias) (STEINBERG; H., 2008; MCCAVIT, 2012; MUBEEN *et al.*, 2016). Os prejuízos às hemácias e à sua membrana estão relacionados com a polimerização da Hb e são os responsáveis por: sua sobrevivência mais curta, de 16 a 20 dias, comparados aos 120 dias do eritrócito normal; pela hemólise; e por vaso-oclusões (crises falcêmicas), que interrompem a perfusão sanguínea em diversos órgãos e são responsáveis pela maioria dos sinais e sintomas dos pacientes com DF (STEINBERG , 2008) (Figura 1).

Figura 1 - Fisiopatogenia da doença falciforme



Fonte: Adaptado de Sundd, Gladwin e Novelli, 2019.

Notas: Os eventos iniciam com um polimorfismo de um único nucleotídeo no gene da β -globina (a), que a leva substituição do ácido glutâmico pela valina na sexta posição da cadeia β da globina. Sob efeito da queda da saturação de oxigênio, a hemoglobina S (HbS) forma os polímeros, que determinam a falcização das hemácias (sentido horário). As hemácias falcizadas resultam em (b) oclusão vascular, devido a prejuízo na reologia do sangue e agregação de eritrócitos falcizados com neutrófilos, plaquetas e células endoteliais. Tudo isso também desencadeia um processo de lesão por isquemia e reperfusão. Voltando ao processo de formação dos polímeros (a), temos também outra consequência, que é o fenômeno da hemólise (sentido anti-horário), que libera hemoglobina (Hb) livre na circulação sanguínea. A Hb oxigenada (Fe^{2+}) promove disfunção endotelial por consumir a quantidade de óxido nítrico (NO) endotelial para formar nitrato (NO_3^-) e metahemoglobina (Fe^{3+}). A Hb também reage com a H_2O_2 para formar a hidroxila livre e a metahemoglobina. Ao mesmo tempo, também temos disfunção endotelial promovida por radicais livres de oxigênio (O_2^-), formado pela NADP oxidase, xantina oxidase (XO) e sintetase endotelial do óxido nítrico (eNOS) desacoplada. Seguindo no sentido anti-horário, visualizamos o processo de liberação de heme livre, que é o principal padrão molecular associado ao dano dos eritrócitos (eDAMP – *erythrocyte damage-associated molecular pattern*) pela degradação da metahemoglobina. (d) A inflamação asséptica gerada pela formação do inflamassoma libera $\text{IL-1}\beta$ e IL-18 . Ela tem como ponto de partida a liberação do heme livre e a lesão por isquemia e reperfusão, que produzem espécies reativas de oxigênio (ROS – *reactive oxygen species*), ativam os receptores Toll-like (TLR4 – *Toll-like receptor*), produzem armadilhas extracelulares de neutrófilo (NET – *neutrophil extracellular trap*), liberam DAMPs derivados de tecidos ou células, DNA e outros fatores desconhecidos. Finalmente, a inflamação asséptica promove novamente oclusão vascular pelo aumento da adesividade dos neutrófilos, plaquetas e células endoteliais (b).

1.4 Apresentação clínica

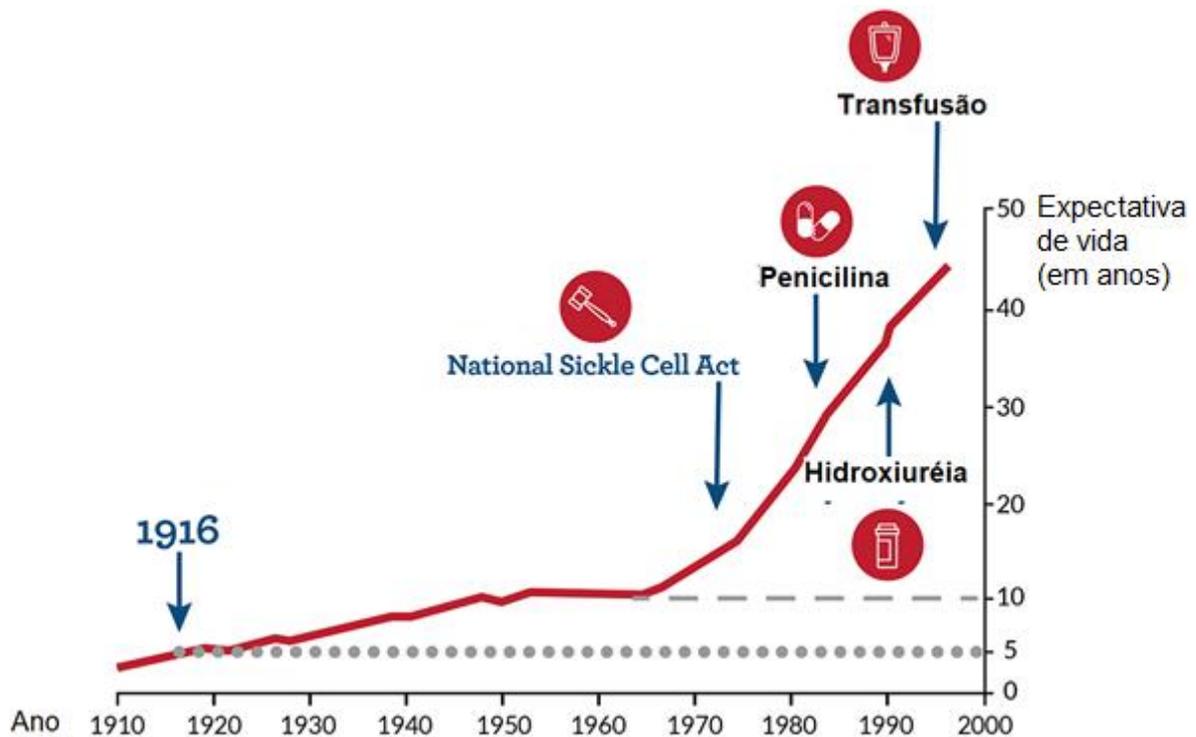
A apresentação clínica da AF é muito variável, sendo que as crianças costumam ser assintomáticas nos primeiros seis meses de vida em razão da proteção oferecida pela diminuição da falcização das hemácias proporcionada pela hemoglobina fetal (HbF), que representa até 80% da Hb total nessa faixa etária (SOARES *et al.*, 2014). Nos meses subsequentes, a HbF vai sendo substituída pela HbS, quando iniciam as manifestações clínicas, caracterizadas por anemia hemolítica, crises vaso-oclusivas, dactilite (inflamação dos dedos dos pés ou mãos), hipofunção esplênica ou sequestro esplênico e a grande suscetibilidade às infecções (em especial as causadas por espécies de *Salmonella* não tifoide, *Haemophilus influenzae* tipo B e *Streptococcus pneumoniae*), sendo que essas duas últimas manifestações são as principais causas de mortalidade na população pediátrica (FERNANDES *et al.*, 2010). A expectativa de vida é reduzida em todos os genótipos de DF, sendo que a AF apresenta um maior gravidade das manifestações, que incluem a STA, AVE, problemas cognitivos não associados ao AVE, priapismo e comprometimento de vários órgãos, como os rins, pulmões e olhos (BATTERSBY; KNOX-MACAULAY; CARROL, 2010).

Em relação às faixas etárias, há uma maior taxa de mortalidade nos primeiros 5 anos de vida, a qual vem sendo reduzida progressivamente com medidas como a triagem neonatal, o uso profilático de penicilina, imunização contra o *Haemophilus influenzae* tipo B e *Streptococcus pneumoniae*, melhora no suporte clínico às complicações e implementação de tratamentos que modificam a evolução da doença (IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016) (Figura 2).

1.5 Doença cerebrovascular e Doppler transcraniano

Com o objetivo de orientar a implementação de terapias, as pesquisas têm sido direcionadas no sentido de identificar preditores de gravidade na AF (PUFFER; SCHATZ; ROBERTS, 2014). Uma das principais complicações da AF na infância é o acidente vascular encefálico (AVE) desencadeado por estenose e oclusão de grandes vasos, sendo que os eventos subclínicos e o infarto silencioso são mais comuns que a lesão aguda sintomática, embora todas as formas de apresentação estejam associadas à disfunção cognitiva (STEINBERG; H., 2008; MCCAVIT, 2012). Estudos

Figura 2 - Expectativa de vida na doença falciforme



Fonte: Sickle Cell Disease | National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI).

Notas: As setas indicam marcos históricos relacionados ao aumento da expectativa de vida na doença falciforme. 1916: sobrevivência estimada da doença na primeira década de sua descrição. *National Sickle Cell Act*: Lei americana assinada em 1972 com objetivo de implementar o diagnóstico precoce, aconselhamento, educação e pesquisas relacionadas à doença falciforme. Penicilina: início da utilização da penicilina como profilaxia para infecções bacterianas na infância. Hidroxiuréia: descoberta da efetividade do uso do medicamento na doença falciforme. Transfusão: início da utilização de transfusões sanguíneas frequentes como prevenção de acidente vascular encefálico em crianças com alto risco para a complicação.

prévios à prática de transfusão sanguínea para prevenir AVE mostram risco de ter apresentado o primeiro evento aos 20 anos de 11%, sendo que aos 30 anos é de 15% e aos 45 anos de 24% (OHENE-FREMPONG *et al.*, 1998). A anemia promove aumento na velocidade do fluxo sanguíneo cerebral, enquanto as hemácias deformadas e a redução da disponibilidade do óxido nítrico (NO), consumido pela hemólise, lesam o endotélio e cursam com o dano vascular (STEINBERG; H., 2008). As pesquisas atuais têm orientado para a importância da taxa metabólica cerebral de utilização de oxigênio, que é o produto do fluxo sanguíneo cerebral (FSC), conteúdo arterial de oxigênio (CaO_2) e a fração de extração de oxigênio (FEO). O FSC e o CaO_2 representam o oxigênio liberado para o cérebro, enquanto a FEO representa a quantidade desse oxigênio disponibilizado que é utilizada. A isquemia ocorre quando a FEO é maior que a oferta, representada pelo FSC e CaO_2 . A diminuição no CaO_2 está presente em situações como anemia, hipóxia e prejuízos na liberação de oxigênio

pela HbS. No entanto, o CaO_2 não depende apenas dos níveis plasmáticos de Hb, mas também de sua saturação de oxigênio, também denominada saturação arterial de oxigênio (SaO_2), que pode ser medida pela oximetria de pulso, quando passa a ser denominada saturação periférica de oxigênio (SpO_2). Vários fatores concorrem para a diminuição da saturação de oxigênio na DF, como o desvio para a direita na curva de dissociação da oxiemoglobina, patologias pulmonares, síndrome da apnéia obstrutiva do sono (SAOS) e obstrução da via aérea superior por aumento da glândula adenoide (DEBAUN; KIRKHAM, 2016; GUILLIAMS; FIELDS; DOWLING, 2019).

O Doppler transcraniano (DTC) é o único instrumento de triagem para o AVE validado até hoje, pelo qual a identificação de aumento na velocidade do fluxo vascular orientam a indicação para transfusão sanguínea, que apresenta benefício comprovado na prevenção do AVE (KWIATKOWSKI *et al.*, 2011; GHAFURI *et al.*, 2017). O estudo STOP (*Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia*) foi realizado em crianças com AF classificadas como tendo alto risco de AVE, demonstrado pela identificação no DTC da maior velocidade de FSC médio nas artérias carótida interna (ACI) e cerebral média (ACM) maior que 200 cm/s, e mostrou que essas crianças tem um risco anual de desenvolver AVE de 10%, que pode ser reduzido para 1% com o regime de transfusão (RT), definido como transfusões sanguíneas a cada 3 a 6 semanas com o objetivo de manter os níveis máximos de HbS menores que 30% da Hb total (ADAMS *et al.*, 1998; DEBAUN; KIRKHAM, 2016; BELISÁRIO *et al.*, 2018). Por outro lado, o estudo TWITCH (*Transcranial Doppler With Transfusions Changing to Hydroxyurea*) mostrou que crianças que estavam sob RT por um ano devido ao resultado do DTC ter evidenciado alto risco, se mostraram igualmente protegidas de AVE quando modificaram a terapêutica para o uso da HU, quando comparadas às que mantiveram o RT (WARE *et al.*, 2016). O protocolo para utilização do DTC no estudo STOP se baseou na realização do DTC em crianças com genótipo HbSS e HbS β^0 de 2 a 16 anos de idade que não apresentavam história prévia de AVE. O protocolo documentou a maior velocidade do FSC médio obtido a cada 2 mm em três pontos da ACM, na porção distal da ACI, artéria cerebral anterior (ACA), artéria cerebral posterior (ACP) e na artéria basilar. Os resultados foram considerados normais se todas as velocidades obtidas estivessem abaixo de 170 cm/s e condicional se alguma velocidade estivesse entre 170 e 200 cm/s (ADAMS *et al.*, 1998).

1.6 Fatores modificadores genéticos

Adicionalmente, muitos estudos têm sido realizados para avaliar a relação entre variantes genéticas e a ocorrência de manifestações clínicas da doença, como o AVE. O efeito protetor da co-herança de alfa-talassemia contra o desenvolvimento de AVE tem sido relatado na maioria absoluta dos estudos (GILL *et al.*, 1995; OHENE-FREMPONG *et al.*, 1998; NEONATO *et al.*, 2000; COX *et al.*, 2014; DOMINGOS *et al.*, 2014), incluindo aqueles realizados na população de crianças com AF de Minas Gerais (BELISÁRIO *et al.*, 2010, 2015). Estima-se que no Brasil a prevalência do portador silencioso de alfa-talassemia, que se refere à deleção de apenas um dos quatro genes alfa, seja de 10 a 20% da população, sendo a deleção do tipo - $\alpha^{3.7}$ a mais frequente, seguido por valores percentuais ínfimos representados pela - $\alpha^{4.2}$ (BELISÁRIO *et al.*, 2012). Acredita-se que a redução na produção de cadeias de alfa globina reduza a concentração intracelular de Hb, o que conduziria à diminuição em sua polimerização na AF (BELISÁRIO *et al.*, 2018).

A taxa de polimerização está diretamente relacionada à concentração de HbS dentro do eritrócito, e é inversamente proporcional à quantidade de HbF, pois a HbF não participa do polímero. Dessa forma, na heterozigose composta para a HbS e a persistência hereditária da HbF (PHHF) onde o gene *HBB* está deletado, os níveis de HbF são geralmente superiores a 30% do total da Hb e estão homoganeamente distribuídos entre as hemácias. Tais pacientes costumam ser assintomáticos, apresentam níveis de hemoglobina normais e a HbS desoxigenada não costuma levar à formação de polímeros (BELISÁRIO *et al.*, 2016; PIEL; STEINBERG; REES, 2017). Nos últimos 50 anos, vários estudos clínicos mostraram a relação entre a elevação da HbF e diminuição nas complicações da DF, levando a propor que a HbF seja o principal fator modificador da doença (PULE *et al.*, 2015). Ao nascimento, por exemplo, a HbF representa aproximadamente 80 a 85% da Hb total, sejam os recém nascidos saudáveis (STEINBERG *et al.*, 2014) ou com AF, o que explica a ausência de sintomas da AF nessa fase da vida (SOARES *et al.*, 2014). Após o nascimento, a HbF vai reduzindo seus níveis progressivamente, podendo atingir os níveis da população adulta por volta de 2 anos de idade em indivíduos saudáveis (PAIKARI; SHEEHAN, 2018), enquanto em crianças com AF a estabilização acontece entre os 5 e 10 de idade (STEINBERG *et al.*, 2014). Na população adulta saudável, os níveis de HbF costumam ser < 2% da quantidade total de Hb, ao passo que indivíduos com

PHHF heterozigotos apresentam níveis superiores a 5%. No caso da associação de DF e PHHF, os níveis de HbF geralmente são mais elevados. Mapeamento de loci de características quantitativas (*quantitative trait loci* - QTL) regulando a produção de HbF é uma área de pesquisa promissora para o entendimento na variabilidade em seus níveis e na evolução da doença, pois, sabe-se por exemplo, que pacientes com AF que apresentam HbF $\geq 8,6\%$ sobrevivem mais que aqueles com HbF $< 8,6\%$, e que o principal fundamento para a eficácia da HU é sua capacidade em elevar os níveis de HbF (HIGGS; WOOD, 2008; BELISÁRIO *et al.*, 2010a; SOARES *et al.*, 2014; PULE *et al.*, 2015; HABARA; STEINBERG, 2016; CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017; AMLIE-LEFOND *et al.*, 2018).

1.7 Biomarcadores

Biomarcadores são definidos como indicadores de uma atividade biológica normal ou patológica, ou da resposta a um agente terapêutico. No entanto, o termo é mais utilizado para se referir às avaliações laboratoriais. Na DF, o biomarcador mais importante é a medida da Hb total, tratando-se de exame solicitado rotineiramente (REES; GIBSON, 2012). Pode-se extrapolar de um paciente com DF e anemia importante, que ele também tenha uma doença mais grave, que cursa com HbF baixa, que seu reticulócito esteja aumentado à custa de uma hemólise aumentada, que tenha atividade inflamatória aumentada, maior hipercoagulabilidade sanguínea, maior estresse oxidativo e maior disfunção endotelial. No entanto, acurácia das conclusões é baixa, e exames específicos são frequentemente empregados (BELISÁRIO *et al.*, 2018; REES; GIBSON, 2012). Isoladamente, a HbF baixa é considerada um dos maiores preditores de mortalidade na DF, sendo que seus níveis sofrem influência de fatores genéticos, dada a sua média herdabilidade, ou da resposta à HU, que é considerada um importante indutor da HbF (PULE *et al.*, 2015; CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017; ZHU *et al.*, 2017; AMLIE-LEFOND *et al.*, 2018). Os dados do hemograma, como os índices hematimétricos, leucometria e plaquetas, podem também trazer valor diagnóstico ou prognóstico. A co-herança de alfa-talassemia, que cursa com a diminuição na taxa de polimerização da Hb e diminuição na DCV, leva à diminuição na hemoglobina corpuscular média (HCM) e no volume corpuscular médio (VCM), aumento na Hb, no hematócrito (HTC) e na hematimetria (Hm) (BELISÁRIO

et al., 2018), enquanto a elevação dos leucócitos e plaquetas, de maneira geral, também se associam a um maior número de complicações na DF (REES; GIBSON, 2012). Por promover grande morbidade na DF, a DCV demanda diversos marcadores biológicos, como aconteceu com as descobertas relativas ao DTC, que agora vem sendo complementadas pelos reticulócitos, avaliação laboratorial que pode agregar valor a um exame sensível e inespecífico, dado que 60% dos pacientes com DTC alterado não desenvolverão AVE. Os reticulócitos tem um papel importante na patogênese da DCV, dado que eles são capazes de aderirem ao endotélio vascular e promover sua ativação, entre outros prejuízos, que vão culminar com a oclusão vascular (BELISÁRIO *et al.*, 2018). Dessa forma, a elevação dos reticulócitos vem sendo considerada o principal fator de risco para AVE, além sua associação com maior risco de hospitalização, sequestro esplênico e mortalidade (MEIER; FASANO; LEVETT, 2017; BELISÁRIO *et al.*, 2018).

Outra avaliação frequentemente utilizada na DF é a dosagem da ferritina, que estima o estoque de ferro no organismo, podendo estar baixa nos casos de deficiência do mineral, ou, mais frequentemente, estar elevada, o que pode significar sobrecarga de ferro, muito comum em pacientes submetidos a RT, ou processo inflamatório e infeccioso (KOPERDANOVA; CULLIS, 2015; PATEL *et al.*, 2016). Os órgãos endócrinos são os mais vulneráveis à sobrecarga de ferro, motivo pelo qual essa condição pode desencadear ou agravar o atraso no crescimento e na puberdade que ocorre na DF (FUNG *et al.*, 2006; OZEN *et al.*, 2013; SOLIMAN *et al.*, 2017).

1.8 Qualidade de vida na doença falciforme

Diante da perspectiva de redução progressiva da mortalidade e do aumento da expectativa de vida dos pacientes com DF (Figura 2), crescem as preocupações com assuntos como o prejuízo cognitivo, as alterações no crescimento e desenvolvimento e a qualidade de vida dos pacientes com DF, bem como os custos envolvidos em tais cuidados (SINGHAL *et al.*, 1994; VERISSIMO, 2007; DEBAUN; KIRKHAM, 2016). Puffer *et al.* (2009), avaliando crianças de 4 a 8 anos de idade que não sofreram de isquemia cerebral, encontraram associação de BE com piores índices relativos à cognição. Embora a velocidade de crescimento (VC) não tenha sido associada a diversas habilidades cognitivas, foi aventada a possibilidade de

mecanismos fisiopatológicos semelhantes para o atraso no crescimento e o desenvolvimento de alterações na cognição, que sabidamente tem um grande impacto na qualidade de vida das crianças com AF (PUFFER; SCHATZ; ROBERTS, 2014).

1.9 Crescimento e desenvolvimento na doença falciforme

Embora a DF não afete o crescimento embrionário, demonstrado pelo comprimento e peso ao nascimento dessas crianças, que é semelhante aos controles sem DF, pode-se perceber prejuízos no peso corpóreo aos 4 a 6 meses de idade, sendo que aos 2 anos de idade já se pode notar um déficit no peso e estatura, que vai se acentuando progressivamente, com destaque maior para a fase da adolescência, quando o atraso puberal faz acentuar a diferença entre o peso e altura das crianças com DF comparadas com controles sem a doença (PHEBUS; GLONINGER; MACIAK, 1984; LUPORINI *et al.*, 2001; ANDRADE; JEE; NILSSON, 2017; SOLIMAN *et al.*, 2017). Kazadi *et al.* (2017) descreveram recentemente uma prevalência de 7,8% de crianças com DF com idade inferior a 12 anos que apresentaram estatura abaixo do percentil 5, porém em outro relato essa prevalência atingiu até 54% (AL-SAQLADI; BIN-GADEEN; BRABIN, 2010). Os fatores envolvidos no atraso do crescimento de crianças com DF são multifatoriais, estando implicados a hipóxia tecidual com a anemia grave, efeitos agudos e crônicos da vaso-oclusão, desnutrição, deficiência de micronutrientes, como a deficiência de zinco, ácido fólico e vitamina A, distúrbios no metabolismo do cálcio, infecções de repetição, elevado requerimento energético relacionado ao aumento da eritropoiese e do trabalho cardíaco, hipogonadismo e disfunção endócrina, com destaque para a disfunção na secreção do GH ou alteração na produção do IGF1 ou nas IGFBP (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011; COLLETT-SOLBERG *et al.*, 2007; ESEZOBOR *et al.*, 2016; NUNLEE-BLAND *et al.*, 2004; PLATT; ROSENSTOCK; ESPELAND, 1984; SOLIMAN, A T *et al.*, 2017).

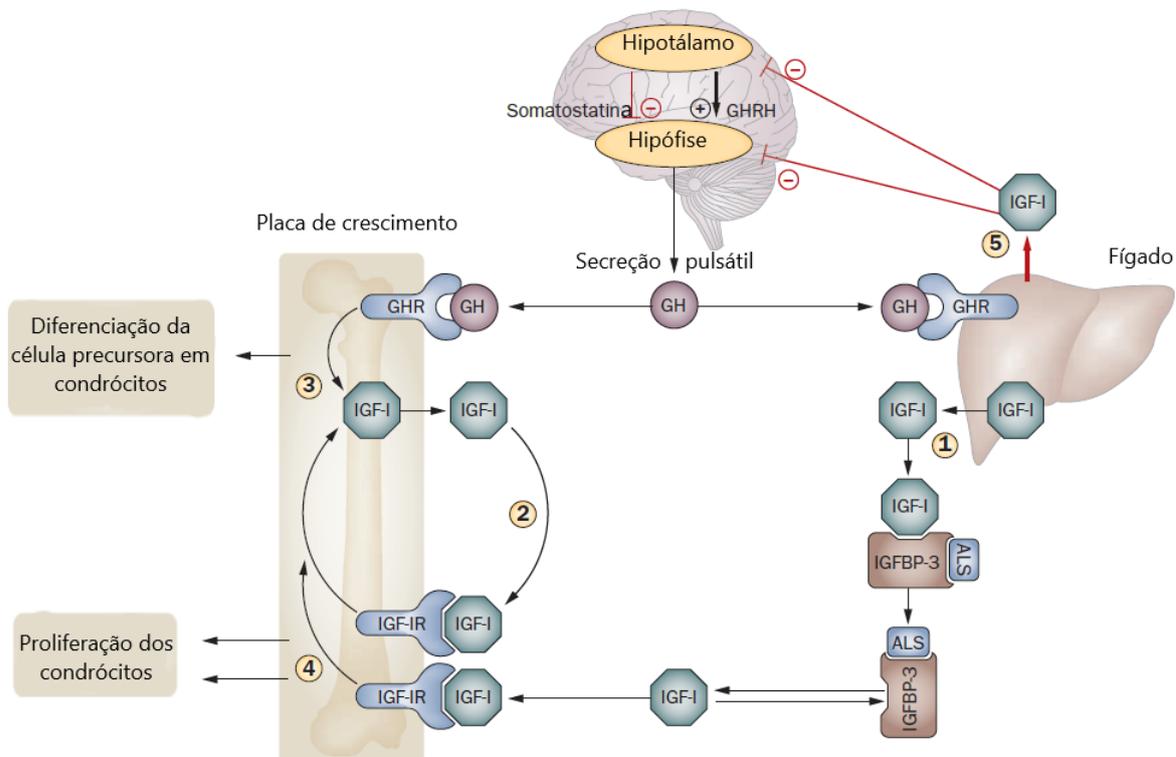
1.10 Baixa estatura na população geral

BE é definida como estatura inferior a 2 desvios padrões (DP) abaixo da média populacional para a idade e sexo. Este nível é aproximado para o terceiro percentil nos gráficos de crescimento da Organização Mundial de Saúde (OMS, 2007), embora alguns gráficos anteriores retratem esse nível como o quinto percentil (RAPAPORT; BOWLBY, 2004; ROGOL; HAYDEN, 2014). As causas de BE na população geral incluem uma infinidade de condições, entre elas: variantes do crescimento normal, que é a baixa estatura familiar (BEF) e o retardo constitucional do crescimento e puberdade (RCCP); a restrição do crescimento intrauterino (RCIU); doenças genéticas como as displasias esqueléticas, síndrome de Turner e Síndrome de Down; deficiências nutricionais; transtornos psicossociais; doenças do trato gastrointestinal como a doença celíaca, doenças inflamatórias intestinais e doença hepática crônica; doença renal crônica, como a acidose tubular renal; doenças osteometabólicas, como o pseudohipoparatiroidismo; outras hemoglobinopatias, como as talassemias; doenças respiratórias, como a asma e a fibrose cística; doenças cardíacas, como as cardiopatias congênitas; e doenças endócrinas, como o *diabetes mellitus* tipo 1, hipotireoidismo e deficiência de GH (RODRIGUES; SILVA, 2001; RAPAPORT; BOWLBY, 2004; OOSTDIJK *et al.*, 2009; ANDRADE; JEE; NILSSON, 2017).

1.11 Eixo GH/IGF1

A produção de IGF1 pelo fígado e outros tecidos sob estímulo do GH hipofisário tem um papel essencial na regulação da condrogênese da placa de crescimento das epífises ósseas e, conseqüentemente, no crescimento estatural pós-natal (Figura 3). Por outro lado, o GH também estimula a produção hepática de IGF1 e da subunidade ácido lábil (*acid labile subunit* - ALS), que desempenham um papel importante na ação do IGF1, que apresenta menos de 2% de seu quantitativo circulante na forma livre. Apesar da importância do IGF1 em estar na forma livre para exercer seus efeitos no crescimento, a dosagem do IGF1 total (somatório da fração livre e a ligada aos componentes do complexo formado pelo

Figura 3 – Ação do eixo GH/IGF1 no crescimento



Fonte: Adaptado de Walters; Griffiths (2009)

Notas: GH: *Growth hormone* (hormônio do crescimento); GHRH: *GH releasing hormone* (hormônio liberador do GH); GHR: receptor do GH; ALS: *Acid labile subunit* (subunidade ácido lábil); IGF1; *Insuline-like growth fator 1* (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: *IGF1 binding proteins* (proteínas ligantes de IGF1); IGF1R: receptor do IGF1. O hipotálamo secreta GHRH, que estimula a secreção pulsátil de GH pela hipófise, e a somatostatina, que apresenta efeito contrário. O GH estimula seus receptores, principalmente na placa de crescimento e fígado, resultando em maior síntese de IGF1, além de estimular o crescimento através da diferenciação de células precursoras na placa de crescimento em condrócitos. O IGF1 se liga a um composto ternário formado com a ALS e IGFBP3, sendo que ele na forma livre modula outras células de forma endócrina (1), autócrina ou parácrina (2). O IGF1 estimula a mitose dos condrócitos epifisários (4) e a contrarregulação do GH (5).

IGF1, IGFBP3 e ALS), bem como a dosagem do IGFBP3, são úteis em estimar a produção de GH, pois, ao contrário do GH, não são secretados episodicamente e tem uma meia vida prolongada (LUPORINI *et al.*, 2001; COLLETT-SOLBERG *et al.*, 2007; ANDRADE; JEE; NILSSON, 2017). A deficiência de GH tem uma incidência estimada na população geral de 1:4000 a 1:10.000 crianças. A complexidade de sua avaliação depende de testes confirmatórios de estímulo da secreção de GH com a administração de medicamentos e a realização de exame de imagem da região hipotálamo-hipofisária (PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008). Tais testes geralmente são indicados em crianças nas quais outras etiologias de prejuízo na estatura tenham sido excluídas e que apresentem: BE associada à diminuição na VC ou dos níveis plasmáticos de IGF1 e baixa estatura grave, definida como estatura inferior a 3 DP

abaixo da média populacional para idade (PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008; FERNANDES *et al.*, 2010; ROGOL; HAYDEN, 2014). Os testes de estímulo da secreção de GH são considerados demorados, onerosos, invasivos e de risco. Para tanto, espera-se que tais testes sejam solicitados com muito critério e outras formas de avaliação sejam priorizadas. Apesar das dosagens de IGF1 e IGFBP3 sofrerem influência de fatores diversos da deficiência de GH, como a influência da idade, de fatores nutricionais e estágio da puberdade, são considerados exames aceitáveis em termos de sensibilidade e especificidade para triagem da deficiência de GH. Como a especificidade do teste é muito maior que a sensibilidade, recomenda-se que não seja exigido o encontro de baixos níveis plasmáticos de IGF1 e IGFBP3 para solicitar os testes de estímulo para secreção de GH, embora os testes devam ser fortemente considerados diante de valores abaixo da referência laboratorial (SHEN *et al.*, 2015).

1.12 Baixa estatura e eixo GH/IGF1 na doença falciforme

Soliman *et al.* (1995) estudaram 15 crianças com DF e altura inferior a 2 DP da média populacional para idade e sexo sob esquema regular de transfusão sanguínea, mantendo concentração de Hb acima de 9 g/dl, e cujas outras causas de BE foram excluídas. Neste estudo compararam-se tais crianças com outras 15 saudáveis pareadas para idade e com variação normal da baixa estatura (BEF e RCCP). A deficiência de GH foi avaliada e nas crianças com DF detectou-se uma diminuição significativa na concentração de IGF1 e na resposta do estímulo da secreção de GH com o uso de clonidina. Oito crianças com DF mostraram resposta inapropriada ao GH e a presença de sela túrcica vazia ou parcialmente vazia na tomografia computadorizada da região hipotálamo-hipofisária. Diante de tais resultados, foi proposto que o atraso no crescimento de crianças com DF estaria relacionado com deficiência na secreção de GH e, conseqüentemente, na produção de IGF1 secundários à isquemia ou infarto da glândula hipofisária durante um ou mais episódios de CVO (SOLIMAN *et al.*, 2017). Nunlee-Bland *et al.* (2004) avaliaram retrospectivamente a presença de crescimento insuficiente (CI), definida como altura e VC inferiores a 2 DP da média populacional para idade e sexo, em 79 crianças com DF. Os autores encontraram critérios para CI em 21,7% das crianças com AF, que foram subsequentemente avaliadas para a possibilidade de deficiência de GH com

teste de estímulo. Surpreendentemente, todas as crianças classificadas como CI receberam o diagnóstico de deficiência de GH nos testes de estímulo e foram, então, tratadas com GH recombinante. O tratamento foi considerado efetivo tendo a altura final das crianças tratadas não diferida de controles com DF e crescimento normal.

Luporini *et al.* (2001) em um estudo brasileiro, avaliaram 41 crianças com AF comparadas com mesmo número de controles saudáveis pareados para sexo e idade e encontraram diferença significativa entre o escore Z (EZ) do IGF1 e o EZ do IGFBP3 entre os grupos, embora não tenha encontrado correlação significativa desses parâmetros com os dados antropométricos e nem identificado paciente com deficiência de GH quando avaliados por testes provocativos.

Embora a deficiência de GH e o atraso no início da puberdade das crianças com DF possam estar associados à disfunção hipofisária secundária à isquemia (LUPORINI *et al.*, 2001; OZEN *et al.*, 2013), outros autores têm sugerido que a maior parte desses pacientes apresentem apenas RCCP (PLATT; ROSENSTOCK; ESPELAND, 1984). A puberdade em pacientes com AF se encontra frequentemente atrasada em um a dois anos, no entanto, quando se ajusta o desenvolvimento sexual para a idade óssea não é encontrado anormalidade (AL-SAQLADI *et al.*, 2008). Dessa forma, o estirão de crescimento seria adiado, mas não prejudicado de forma significativa, e a maioria das crianças atingiriam uma altura final normal (SINGHAL *et al.*, 1994; CIPOLOTTI *et al.*, 2000).

1.13 Aspectos genéticos da altura humana

A altura humana é uma característica complexa de alta herdabilidade (que pode atingir 90%) e poligênica (SILVENTOINEN *et al.*, 2003; VISSCHER *et al.*, 2007). Estudos de associação ampla do genoma (*genome-wide association study* - GWAS) têm permitido identificar a contribuição das variações comuns e raras da sequência de DNA para as diferenças interindividuais na altura do adulto. Essa abordagem identificou 180 variantes comuns de polimorfismos de único nucleotídeo (*single nucleotide polymorphisms* - SNPs) associados à estatura na população geral em estudo de Lango Allen *et al.* (2010), sendo que essa associação preditiva individual dos efeitos dos SNPs foi confirmada também quando se avaliou os extremos das distribuições de altura (muito alta ou muito baixa estatura). No entanto, ao avaliar a

parcela da população extremamente baixa, representado pelo percentil da estatura inferior a 0,25%, não se confirmou a associação dos SNPs previamente definidos para a estatura em duas coortes de Chan *et al.* (2011).

Wood *et al.*, (2014) também mostraram por GWAS que 697 variantes independentes localizadas em 423 loci que, em conjunto, explicam aproximadamente 20% da herdabilidade da altura. Chan *et al.*, 2015 concluíram que das 670 variantes comuns relacionadas à altura, 130 loci estão associados à razão altura sentada/altura (*sitting height ratio* - SHR) ($p = 5 \times 10^{-40}$) para aumento (71 loci) ou diminuição (59 loci) da SHR. Outro estudo de associação mais recente avaliou quase 200.000 variantes em regiões codificadoras de genes em 711.428 indivíduos de diferentes ancestralidades e identificou 32 variáveis codificadoras raras e 51 de baixa frequência associadas à altura do adulto (MAROULI *et al.*, 2017). Além disso, nestes estudos os autores descobriram 10 genes que abrigam muitas variantes raras de baixa frequência associadas à altura, incluindo três genes (*CSAD*, *NOX4*, *UGGT2*) em loci que não estavam previamente envolvidos em altura. As variantes codificadoras raras e de baixa frequência explicaram 1,7% da variação hereditária na altura do adulto. Neste estudo ao validar todas as variantes raras associadas à altura, variantes de baixa frequência e comuns, em população de ancestralidade europeia, concluiu-se que estas podem explicar 27,4% da herdabilidade da característica. Ainda neste estudo, usando associação ExomeChip para altura, oito variantes dentro de cinco loci foram encontradas para as quais a associação genética com a altura é principalmente conduzida por indivíduos de ascendência africana. A frequência do alelo menor destas variantes foi <1% (ou monomórfico) em todas as ascendências, exceto em indivíduos de ascendência africana, mas nos indivíduos de ascendência africana, as variantes apresentavam frequências de alelos entre 9 e 40%. Uma destas variantes foi a rs151263636 no gene *GH1*: c.116C>T (p.Ala39Val). Como ponderaram Marouli *et al.* (2017), embora raras, as variantes gênicas de grande efeito podem não explicar a maior parte do risco de doença hereditária ao nível da população, mas elas são importantes para prever o risco de desenvolver distúrbio relacionado à BE em indivíduos que as portam. Embora a gravidade dos efeitos fisiopatológicos das doenças crônicas possa refletir em BE, é importante investigar a hipótese de que outras causas de variação genética estejam também contribuindo no resultado da altura final do indivíduo afetado, como na AF. As análises devem envolver variantes comuns e raras ou de baixa frequência que tenham grande efeito sobre a

característica e que expliquem parte da variação da altura, principalmente nos indivíduos com extrema baixa estatura.

1.14 Métodos de previsão da estatura adulta

Os métodos de previsão da estatura adulta, também denominada previsão da estatura final (PEF), são utilizados há mais de 40 anos na endocrinologia pediátrica e em pesquisas científicas com objetivos de avaliar o prognóstico estatural de crianças com BE e testar o possível impacto de alguma terapêutica empregada para a BE (ROCHE; WAINER; THISSEN, 1975; BRÄMSWIG *et al.*, 1990; ROEMMICH *et al.*, 1997; MAURAS *et al.*, 2008, 2016; THODBERG *et al.*, 2009; TOPOR *et al.*, 2010). Os métodos surgiram da necessidade de prever a estatura adulta em crianças tratadas com hormônios ou outras substâncias que pudessem interferir no crescimento e na maturação óssea, bem como do antigo conceito de que a combinação da estatura com a idade óssea (IO) seriam capazes de tal predição (ROCHE; WAINER; THISSEN, 1975). Dessa forma, a estatura definida pelos métodos de previsão passaram a definir o sucesso terapêutico de diversos medicamentos, dispensando muitas vezes a necessidade de esperar os participantes da pesquisa atingirem a idade adulta para nova aferição da estatura (BRÄMSWIG *et al.*, 1990; MAURAS *et al.*, 2016).

Os métodos mais comuns para avaliar a IO são os de Tanner-Whitehouse (TW) e de Greulich-Pyle (GP) (GREULICH; PYLE, 1959; TANNER, J. M., 2001). Ambos utilizam a radiografia de mão e punho esquerdo na avaliação, sendo que o método de TW leva em consideração a soma de uma pontuação individual para 13 ossos diferentes, enquanto o GP tradicionalmente utiliza de forma rápida a comparação das imagens obtidas com padrões radiológicos conhecidos, estabelecendo assim a melhor combinação (GREULICH; PYLE, 1959; BRÄMSWIG *et al.*, 1990; SANCTIS *et al.*, 2014; SATOH, 2015). Não estão estabelecidos todos fatores capazes de influenciar o grau de maturação óssea, estimada pela IO, e que a fazem estar em desacordo com a idade cronológica (IC), definida pela data de nascimento, mas sabe-se que fatores genéticos, nutricionais, metabólicos, sociais, emocionais, ambientais e hormonais são importantes. Sabe-se que o GH e os hormônios tireoidianos e sexuais são capazes de aumentar a proliferação e transformação na placa de crescimento, acelerando a maturação óssea, enquanto o

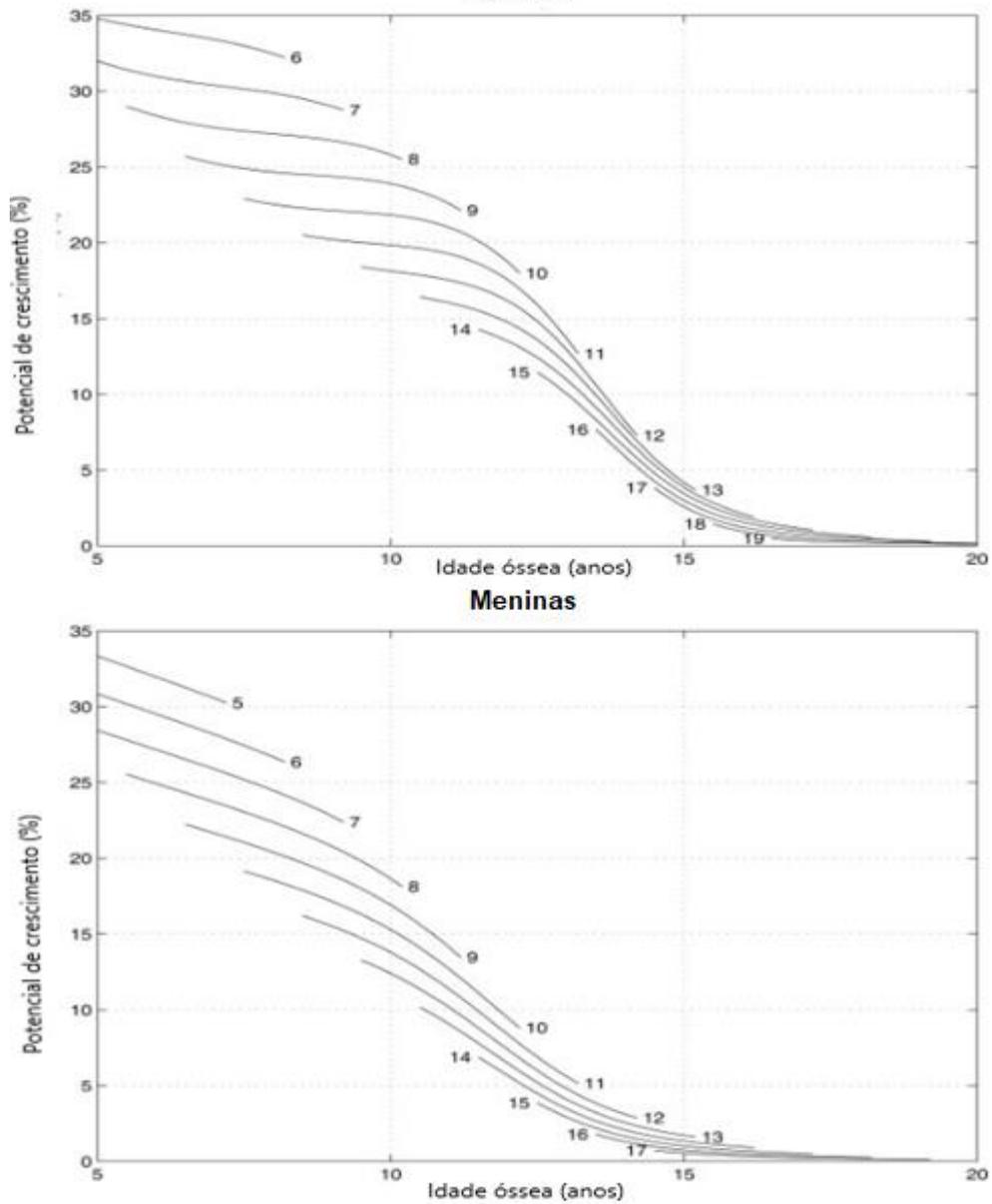
excesso de corticosteroide tem efeito antagônico. Dessa forma, é bem conhecida a associação entre as condições que aumentam a IO com aquelas que também adiantam a idade no início da puberdade, ou o contrário, onde o atraso no início da puberdade está atrelado a fatores que diminuem a IO (SANCTIS *et al.*, 2014). O atraso na puberdade e maturação óssea é muito frequente na AF, sendo que alguns autores identificaram que a puberdade estaria apropriada para a idade caso a IO fosse utilizada no lugar da IC (LUBAN; LEIKIN; AUGUST, 1982).

Os métodos mais comuns de avaliação da PEF baseado na IO (PEF-IO) são os de Bayley-Pinneau (BP) (BAYLEY; PINNEAU, 1952) e o de Roche-Wainer-Thissen (RWT) (WAINER; ROCHE; BELL, 1978), sendo que ambos utilizam o método de GP para a determinação da IO. Todos os métodos conhecidos se baseiam na estimativa do potencial de crescimento (PC), que representa o quanto da estatura adulta ainda falta para ser atingido. O método de BP se baseia na divisão da estatura atual do paciente por uma fração decimal, que retrata o quanto da altura adulta prevista já foi atingida. A fração decimal extraída de tabelas padronizadas varia de acordo com a IO, sexo e com a diferença entre a IO e IC. Comparando a IO com a IC, teremos três faixas de valores, que são variações menores que um ano, atraso da IO maior que um ano ou avanço da IO maior que um ano (POST; RICHMAN, 1981; TOPOR *et al.*, 2010). O método de RWT calcula a PEF-IO pela combinação linear que usa o comprimento em decúbito ou estatura, peso, IO, estatura dos pais e coeficientes específicos para cada gênero. A comparação entre os métodos de BP e RWT só é possível para meninos maiores que 7 anos e meninas maiores que 6 anos, pois o método de BP não é aplicável a crianças mais novas (ROCHE; WAINER; THISSEN, 1975; TOPOR *et al.*, 2010).

Como descrito, tanto o método de BP como o de RWT utilizam um modelo de regressão linear para o cálculo da PEF-IO, não levando em consideração a grande variabilidade na VC durante o desenvolvimento puberal (BRÄMSWIG *et al.*, 1990; THODBERG *et al.*, 2009). Thodberg *et al.* (2009) por meio de estimativas não lineares do cálculo do PC utilizando as variáveis IO e IC (Figura 4), e levando-se em consideração a possibilidade do uso atual de modelos computacionais, descreveu um novo método de PEF-IO denominado BoneXpert (BX). O cálculo da PEF pelo BX utiliza a IO determinada por um método automatizado que também é denominado BoneXpert ou por modelo comparativo tradicional de GP. O modelo citado é descrito como mais adequado para amostras que apresentam IO muito atrasada ou muito

adiantada, com destaque especial para pessoas com baixa estatura idiopática, alta estatura e RCCP (KHAMIS; ROCHE, 1994; MARTIN; SCHITTENHELM; THODBERG, 2016).

Figura 4 - Potencial de crescimento utilizado pelo método BoneXpert



Fonte: Thodberg *et al.*, 2009.

Nota: Potencial de crescimento para meninos (acima) e meninas (abaixo) de acordo com a idade. A idade é indicada próxima a cada curva.

1.15 Opções terapêuticas na anemia falciforme

Nas últimas décadas houve grande avanço nos cuidados com os portadores de DF, em especial com as crianças. Os programas de triagem neonatal, o início precoce da profilaxia com penicilina, bem como o tratamento precoce das infecções têm aumentado muito a sobrevivência das crianças (QUINN *et al.*, 2010; TSHILOLO *et al.*, 2018). Associado a isso, temos as medidas que também podem trazer benefícios ao crescimento dessas crianças, como o suporte nutricional, as transfusões sanguíneas, a reposição de GH nas crianças com deficiência e a terapia com HU (IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016; PIEL; STEINBERG; REES, 2017).

Pacientes com DF são geralmente adaptados à anemia crônica e raramente utilizam transfusão para esse fim. As transfusões sanguíneas na DF se fundamentam na correção da anemia e diluição das hemácias que contém HbS, o que reduziria a tendência para as CVO. No entanto, as transfusões também podem trazer prejuízos, como o aumento da viscosidade sanguínea secundária ao aumento do hematócrito, a aloimunização, risco de transmissão de doenças infecciosas e sobrecarga de ferro, em especial para aqueles que receberam mais de 20 transfusões e não fazem transfusão de troca (KOPERDANOVA; CULLIS, 2015; KAPOOR; LITTLE; PECKER, 2018; REES; ROBINSON; HOWARD, 2018). Em relação às evidências que suportam indicações de transfusão sanguínea, a mais robusta se refere à prevenção de complicações neurológicas, apesar de também ser indicado em algumas complicações agudas, como na condições que cursam com diminuição abrupta da Hb, no AVE, síndrome torácica aguda (STA), crises algicas, priapismo e no manejo perioperatório (REES; ROBINSON; HOWARD, 2018).

O transplante de células tronco hematopoiéticas (TCTH) é uma terapia potencialmente curativa, porém apresenta várias restrições, como o alto custo, toxicidade, dificuldades em se obter um doador compatível, rejeição imunológica e prognóstico incerto (PIEL; STEINBERG; REES, 2017; BRASIL, 2018; KAPOOR; LITTLE; PECKER, 2018).

Uma melhor compreensão dos aspectos celulares, moleculares e biofísicos da DF tem levado a busca de novas terapias para a doença. Com o objetivo de diminuir o estresse oxidativo, foi aprovado recentemente pelo *US Food and Drug Administration* (FDA) a L-glutamina para prevenir episódios de crise dolorosa aguda

em pacientes com DF maiores que 5 anos (KAPOOR; LITTLE; PECKER, 2018; SUNDD; GLADWIN; NOVELLI, 2019).

1.16 Tratamento com hidroxiureia

O uso da HU é considerado a terapia farmacológica de maior sucesso para a AF, uma vez que promove redução do número e da gravidade das crises falcêmicas (CHARACHE *et al.*, 1995), melhorando os parâmetros hematológicos (SANT'ANA *et al.*, 2017), reduzindo o número de internações e aumentando a sobrevida (STEINBERG; H., 2008; FUQUA *et al.*, 2012; ARDUINI; RODRIGUES; TROVÓ DE MARQUI, 2017). Vários estudos em culturas de tecidos, ratos e humanos comprovam que a HU é capaz de provocar inibição da síntese do ácido desoxirribonucleico (DNA), agindo como um inibidor da ribonucleotídeo redutase, sem interferir na síntese do ácido ribonucléico (RNA) ou da proteína (IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016). A HU foi aprovada pelo FDA em 1967 para tratamento de doenças neoplásicas e em 1998 passou a fazer parte do tratamento da DF, após ser comprovada sua capacidade de aumentar a síntese de cadeias gama-globinas e a síntese intraeritrocitária de HbF, reduzindo as complicações da AF (BRASIL., 2013). Estudos em adultos com acompanhamento de 17 anos ou mais têm mostrado a capacidade da HU de aumentar a concentração de Hb, o volume corpuscular médio (VCM) e o percentual de HbF, além de diminuir a produção de leucócitos e reticulócitos e a expressão de moléculas de adesão, atenuando a oclusão vascular (HANKINS *et al.*, 2014). Os principais ônus relacionados ao uso de HU seriam a leucopenia, neutropenia e plaquetopenia, porém esses efeitos são frequentemente discretos e também reversíveis com a suspensão ou redução da dose do medicamento (ZIMMERMAN *et al.*, 2004). Os bons resultados relativos ao uso de HU impactaram em uma redução de 40% na mortalidade da população adulta, o que incrementou o uso na população pediátrica, que, aos poucos, foi demonstrando resultados semelhantes (TSHILOLO *et al.*, 2018). No entanto, existem questionamentos sobre efeitos adversos do uso crônico de HU em crianças. Apesar da associação do uso de HU com aumento da incidência de mielodisplasia ou neoplasias malignas não terem sido comprovadas, há relatos de potenciais efeitos na fertilidade e teratogenicidade (HANKINS *et al.*, 2005; CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017). As indicações do uso da HU segundo a Portaria Conjunta nº 05, de 19 de

fevereiro de 2018, incluem crianças com mais de 2 anos de vida que apresentaram no último ano: histórico de três ou mais episódios de crises vaso-oclusivas com necessidade de atendimento médico; mais de um episódio de STA; alterações no exame de DTC; priapismo recorrente; anemia grave e persistente; necrose isquêmica óssea; retinopatia proliferativa; ou sinais de falência orgânica, como a renal. A mesma Portaria também introduz a possibilidade do uso em crianças maiores que 9 meses, porém destaca a necessidade de levar em conta os possíveis efeitos teratogênicos ou carcinogênicos. A dose inicial indicada é 15 mg/kg/dia e pode atingir 35 mg/kg/dia, caso não se identifique toxicidade hematológica (BRASIL, 2018).

No entanto, diante dos potenciais benefícios da HU em evitar a lesão permanente em diversos órgãos e aumentar a sobrevida, seu uso tem sido discutido recentemente para todas as crianças a partir dos 9 meses de vida que apresentem AF, independente da gravidade da doença, enquanto outros autores têm aventando a possibilidade do uso mais precoce, imaginando que o uso da HU antes da queda na Hb e na HbF, que ocorre nos primeiros meses de vida, poderia levar a melhores resultados (IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016; SCHUCHARD *et al.*, 2019).

No Brasil, somente está disponível para comercialização a apresentação em cápsulas de 500 mg. Para o uso em crianças o conteúdo da cápsula é diluído em água com conseqüente administração da dose proporcional, o que pode possibilitar erros na dose administrada devido à dificuldade na metodologia de diluição (BRASIL., 2013). A extensão do estudo HUSOFT (*Hydroxyurea Safety and Organ Toxicity*), apesar de ter utilizado uma pequena coorte, comprovou os efeitos de uma apresentação líquida de HU em promover crescimento e desenvolvimento puberal dentro das faixas da normalidade em 21 crianças com AF (HANKINS *et al.*, 2005). Quanto ao BABY HUG, ensaio clínico multicêntrico, randomizado, duplo cego e controlado com placebo, avaliou por dois anos 193 crianças com genótipo HbSS e HbS β^0 de 9 a 18 meses de idade. Apesar de não ter identificado diferença nos dados antropométricos entre os usuários ou não de HU, encontrou correlação negativa entre a estatura e a concentração absoluta de neutrófilos (CAN) em ambos os grupos, tendo tais resultados sido potencialmente associados à inflamação, que aumenta em proporções idênticas a CAN e as complicações da DF (RANA *et al.*, 2014).

A capacidade da HU em reduzir a mortalidade, bem como seus principais benefícios clínicos, está frequentemente associada a sua capacidade em aumentar a HbF (STEINBERG *et al.*, 2003; PULE *et al.*, 2015). Porém, a resposta da HbF ao uso

de HU é muito variável, com valores de HbF girando em torno de 10% e atingindo níveis superiores a 30% (MAIER-REDELSPERGER *et al.*, 1998; PULE *et al.*, 2015). Maier-Redelsperger *et al.* (1998) descreveram a evolução da HbF durante o tempo de uso de HU, onde os valores máximos de HbF foram atingidos na maior parte dos pacientes após 12 meses do início do tratamento. O objetivo do tratamento com HU abrange a diminuição das crises álgicas e melhora do bem estar, aumento da HbF para 15%-20%, aumento nos níveis de Hb e uma mielotoxicidade aceitável (CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017). Entretanto, aproximadamente 30% dos pacientes com AF são considerados não respondedores à elevação da HbF sob utilização de HU, definida como valores de HbF menores que 10% após o início do tratamento (MAIER-REDELSPERGER *et al.*, 1998; ZHU *et al.*, 2017). Como reflexo da ineficácia da HU em alguns grupos, muitos pacientes com AF permanecem sintomáticos, o que demanda a necessidade da associação medicamentosa ou de outras possibilidades terapêuticas (CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017). Apesar da suposição de que o efeito da HU na DF estar relacionado com vias diferentes da indução da HbF, como o aumento da hematopoiese, liberação de NO endotelial e redução na contagem de leucócitos, sua variabilidade na resposta ao tratamento ainda não é completamente entendida. Especula-se que uma melhor compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos na elevação da HbF pela HU, bem como suas interações farmacogenômicas possam propiciar o desenvolvimento de drogas menos tóxicas ou melhorar a aplicabilidade da HU (PULE *et al.*, 2015). Por outro lado, pesquisas clínicas também trazem avanços ao tratamento com HU. Schuchard *et al.* (2019) mostraram maior eficácia da HU quando iniciada na faixa etária de 5 a 12 meses, comparada ao início em pacientes de maior idade, sugerindo uma janela de oportunidades para o uso do medicamento em idades mais tenras, com o objetivo de evitar a diminuição da HbF que ocorre progressivamente após o nascimento.

2 JUSTIFICATIVA

A anemia falciforme, apesar de ainda ser uma doença que cursa com diminuição na expectativa de vida, vem sofrendo modificações positivas nesses índices em decorrência de medidas que visam: prevenir as complicações infecciosas, como o uso de antibiótico profilático e as imunizações; evitar o grande número de eventos isquêmicos cerebrais, pelas transfusões sanguíneas seriadas e uso de HU; diminuir o número de crises vaso-oclusivas, pelo uso de HU; ou dar suporte clínico durante as diversas formas de complicações (MCCAVIT, 2012; IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016).

Somado a esse fato, crescem as preocupações com a qualidade de vida do paciente com AF, onde os prejuízos no crescimento e no desenvolvimento da puberdade representam aspectos importantes (VERISSIMO, 2007; OZEN *et al.*, 2013). Entre as diversas causas para as alterações no crescimento de crianças e adolescentes com AF está a deficiência de GH e as alterações no eixo GH/IGF1, que são supostamente associadas à isquemia hipofisária (SOLIMAN *et al.*, 1997; NUNLEE-BLAND *et al.*, 2004). A experiência clínica com o uso da HU em crianças vem crescendo paulatinamente e as evidências apontam para o benefício no crescimento estatural, apesar de alterações no crescimento não figurarem em protocolos médicos como justificativa para o início da terapia em crianças ou adolescentes (RANA *et al.*, 2014; WONG *et al.*, 2014; IUGHETTI; BIGI; VENTURELLI, 2016).

Diante desse cenário de indefinições em relação ao crescimento e ao desenvolvimento, a determinação da prevalência de prejuízo estatural proporcionado pela AF em nosso meio e o papel protetivo da HU nesses casos seria importante, pois poderia dar suporte científico aos critérios utilizados para a indicação terapêutica da HU em crianças com AF.

Outro mecanismo fisiopatológico a ser esclarecido é a participação do eixo GH/IGF1 no crescimento desses indivíduos, suas associações com parâmetros bioquímicos e moleculares bem como a influência que a HU poderia proporcionar. A literatura não quantifica a parcela de contribuição que os aspectos hormonais exercem na estatura de crianças com AF. Isso cria uma lacuna de indefinição na fisiopatologia

e, conseqüentemente, nos protocolos de atendimento dessas crianças, principalmente no que tange à necessidade de encaminhamento para um médico especialista, a realização de exames onerosos, como os que avaliam a deficiência de GH, ou as possibilidades terapêuticas relacionadas à abordagem do eixo GH/IGF1.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo primário

Avaliar os fatores endócrinos, bioquímicos e moleculares implicados no crescimento de crianças com anemia falciforme, estimando a importância do eixo GH/IGF1, do uso de HU e dos genótipos de deleção de alfa-talassemia no desfecho estatural da população estudada.

3.2 Objetivos secundários

1. Comparar a estatura da população do estudo com os gráficos de crescimento da OMS, visando avaliar a existência de prejuízo no crescimento.
2. Identificar a prevalência de BE na população estudada e relacionar tal prevalência com o uso de HU.
3. Avaliar associação entre as medidas antropométricas e os dados bioquímicos e hematológicos com a dose de HU utilizada.
4. Verificar se há diferença significativa entre o EZ da estatura, EZ do IGF1, EZ do IGFBP3 e EZ da PEF-IO de crianças ou adolescentes com AF que utilizam ou não a HU, além de, adicionalmente, incluir aqueles que utilizam o medicamento por período menor que um ano entre os que não utilizam.
5. Verificar se a previsão de estatura adulta das crianças e adolescentes avaliados está prejudicada em relação à média populacional.
6. Identificar associação dos dados antropométricos, laboratoriais e clínicos com parâmetros de gravidade, como nível de HbF, velocidade do fluxo no DTC aumentado, contagem de reticulócitos no sangue periférico e genótipos de deleção de alfa-talassemia.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Desenho e local de realização do estudo

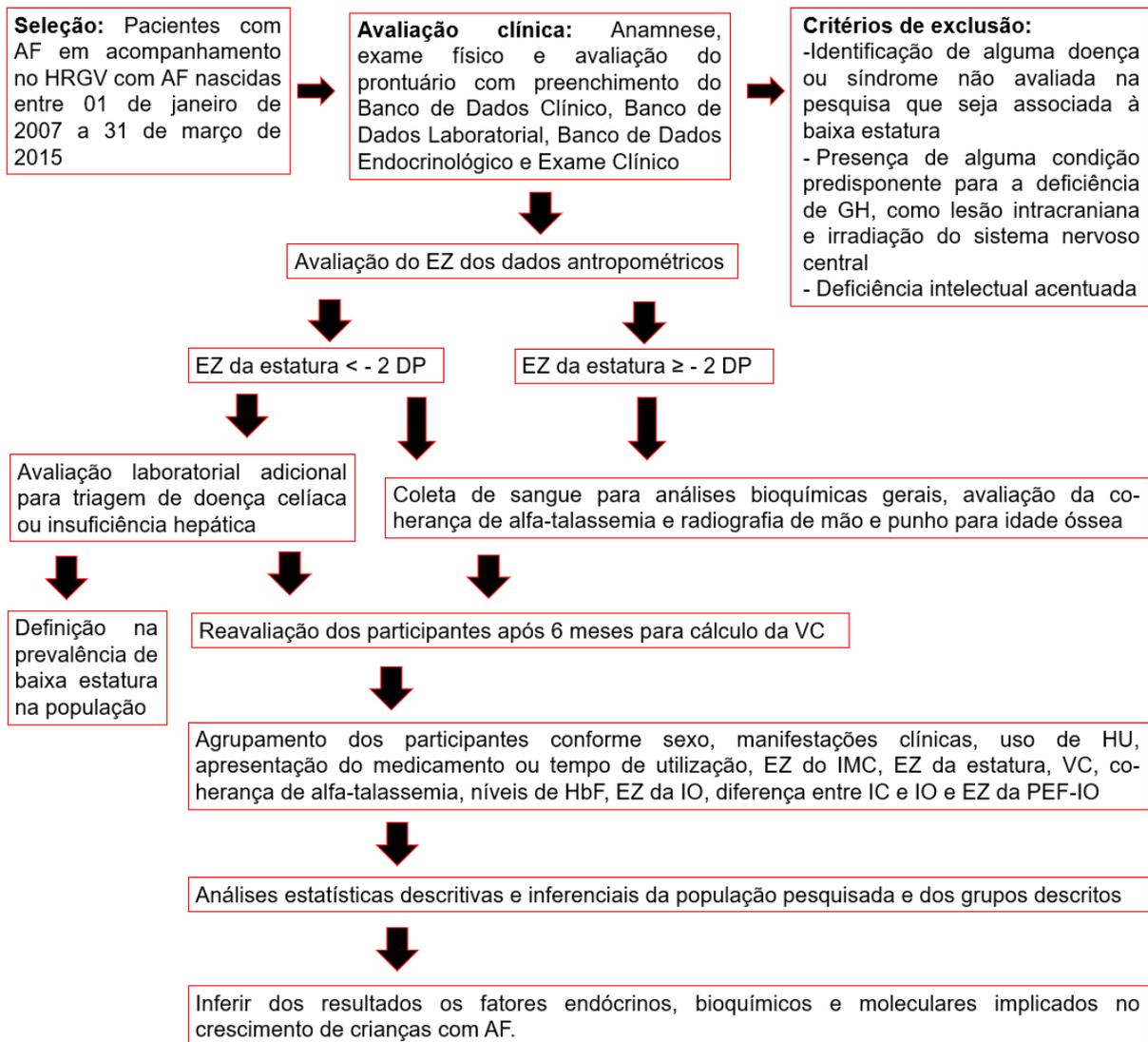
O estudo se estendeu de agosto de 2018 a julho de 2019 e consistiu de uma coorte retrospectiva e prospectiva, com análise de prontuários e com acompanhamento por ao menos seis meses de pacientes com AF (genótipo HbSS). Os participantes de ambos os sexos estavam cadastrados no HRGV da Fundação Hemominas, e com idade variando de 3 a 12 anos, portanto, nascidas entre 01 de janeiro de 2007 a 31 de março de 2015. O HRGV atende crianças acometidas pela AF e outras hemoglobinopatias residentes nas regiões dos Vales do Aço, Rio Doce, Mucuri, Jequitinhonha e parte da Zona da Mata mineira. A escolha da faixa etária mínima envolvida na pesquisa teve o objetivo de compreender as crianças aptas a utilizar HU, já que o protocolo vigente no momento da elaboração do projeto não permitia o uso de HU em crianças menores que 3 anos (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). Quanto à faixa etária máxima a ser enquadrada na pesquisa, optou-se por excluir as crianças com mais de 12 anos, devido aos efeitos dos esteroides sexuais relacionados ao início da puberdade sobre o crescimento se iniciarem nessa faixa estaria (LUKUSA KAZADI *et al.*, 2017). O diagnóstico da AF nos participantes foi obtido dos registros médicos, sendo baseado principalmente na eletroforese de Hb, que é realizada pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PETN-MG).

Dois grupos de comparação foram criados para análise dos dados: (I) tratados e (II) não tratados com HU. A análise dos dados também foi feita incluindo no grupo II os pacientes que fizeram uso do medicamento por menos que um ano.

Foram avaliados padrões de crescimento e de desenvolvimento e associação de tais padrões ao uso regular de HU, aos resultados de exames bioquímicos que retratam o eixo GH/IGF1, ao genótipo de alfa-talassemia, a dados clínicos e hematológicos extraídos de prontuários, conforme fluxograma da pesquisa (Figura 5). A aderência terapêutica foi estimada a partir da quantidade de dias no mês que a medicação era omitida, assim os pacientes foram classificados como; não aderentes, caso utilizassem o medicamento por menos de 24 dias no mês; aderentes, aqueles que usavam o medicamento por 24 a 29 dias no mês; e completamente

aderentes, os que utilizavam o medicamento em todos os dias do mês (LEITE; VASCONCELLOS, 2003).

Figura 5 - Fluxograma da Pesquisa



Fonte: próprio autor. Nota: HRGV: Hemocentro Regional de Governador Valadares; AF: anemia falciforme; EZ: escore Z; VC: velocidade de crescimento; GH: growth hormone (hormônio do crescimento); HU: hidroxureia; HbF: hemoglobina fetal; IO: idade óssea; IC: idade cronológica; PEF-IO: previsão de estatura final por meio da IO; IMC: índice de massa corporal; DP: desvio padrão.

Os participantes do estudo também foram comparados pela PEF-IO pelo método de previsão denominado BoneXpert (BX) (disponibilizado em www.BoneXpert.com/ahp). Este método se contrapõe ao modelo tradicional, que é o Bayley-Pinneau (BP), trazendo vantagens em relação a uma PEF mais próxima da

realidade em crianças com atraso da puberdade e da maturação óssea, frequentemente observada na AF. O método também permite avaliar a PEF-IO em crianças com valores de IO a partir de 4 anos de idade, enquanto o BP necessita de valores de IO a partir de 6 anos para estimar a PEF-IO (THODBERG *et al.*, 2009).

4.2 População estudada e aspectos éticos

Este estudo foi aprovado no Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Juiz de Fora sob número de CAAE 78011417.4.0000.5147 e no Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas (parecer nº 2.666.921; CAAE 78011417.4.3001.5118). Todos os pacientes com consultas agendadas no HRGV eram avaliados previamente para a possibilidade de apresentarem diagnóstico de AF (HbSS) e para a faixa etária envolvida na pesquisa. Enquanto aguardavam suas consultas de rotina no HRGV, os pacientes e seus responsáveis eram convidados a participar do estudo e assinar os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) ou os Termos de Assentimento (TA), conforme cada caso. Mediante a aceitação em participar do estudo, foi realizada a avaliação clínica para a busca de critérios de exclusão, antes de se prosseguir com a coleta de sangue para exames laboratoriais e moleculares. Os critérios de exclusão definidos foram:

- Identificação de alguma doença ou síndrome não avaliada na pesquisa que seja associada à BE, como as displasias esqueléticas, síndrome de Turner ou doenças crônicas não relacionadas à AF (BRASIL, 2018).
- Presença de alguma condição predisponente para a deficiência de GH, como lesão intracraniana e irradiação do sistema nervoso central.
- Deficiência intelectual acentuada, definida por limitação intelectual que curse com prejuízo significativo da independência pessoal esperada para a faixa etária (MATA, 2018), conforme informado pelos responsáveis no momento da avaliação clínica.

Se incluído na pesquisa, o participante era encaminhado para a realização da radiografia de mão e punho para a IO, que foi realizada no prazo de três meses da avaliação inicial.

4.3 Coleta de dados de prontuário e avaliação clínica

A partir da inclusão no estudo, todos os participantes tiveram o prontuário institucional avaliado a fim de colher informações relevantes ao estudo, como os dados hematológicos mais recentes, entre eles, a dosagem de HbF, reticulócitos e índices hematimétricos (APÊNDICE 1 e Quadro 1) e a classificação do DTC conforme o estudo STOP (ADAMS *et al.*, 1998) e o resultado do FSC em cada vaso (APÊNDICE 2). Os dados laboratoriais extraídos do prontuário ou o resultado do DTC só foram utilizados na condição de terem sido realizadas em menos de um ano da avaliação.

Quadro 1- Relação dos exames laboratoriais coletados do prontuário médico

DADOS LABORATORIAIS	MÉTODO	JUSTIFICATIVAS
Ferro sérico	Espectrofotometria	Deficiência de ferro
Ferritina	Turbidimetria	Deficiência ou sobrecarga de Ferro
Índice de saturação da transferrina (IST)	Cálculo baseado na razão entre o ferro sérico e a capacidade total de ligação do ferro.	Deficiência ou sobrecarga de Ferro
HbF	Cromatografia líquida de alta eficiência	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
Hb	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
VCM	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
HCM	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
Leucócitos globais	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
Neutrófilos	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
Monócitos	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da Hu

Plaquetas	Tecnologia de impedância e fotometria	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU
Reticulócitos	Coloração com azul de cresil brilhante a 1%	Gravidade da anemia falciforme e efeitos colaterais da HU

Fonte: próprio autor. Nota: HU: hidroxureia; HbF: hemoglobina fetal; Hb: hemoglobina; VCM: volume corpuscular médio; HCM; hemoglobina corpuscular média.

A avaliação clínica de todos os participantes ocorreu nas dependências do HRGV e incluiu entrevista e exame físico com avaliação antropométrica e do estágio puberal. Durante a avaliação clínica foram utilizados formulários previamente elaborados, denominados Banco de Dados Clínico (APÊNDICE 2) e Banco de Dados Endocrinológico (APÊNDICE 3), com o objetivo de investigar doenças associadas à AF, critérios de exclusão à participação no estudo e condições clínicas que poderiam cursar com BE. Esses dados foram confrontados com aqueles coletados no registro médico. Todos os dados coletados dos prontuários e dos formulários foram compilados em um Banco de dados no SPSS® versão 22.0 para análises estatísticas.

Para a avaliação antropométrica foram aferidos peso e estatura. As medidas foram determinadas de acordo com técnicas padrão (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011) utilizando balança digital da marca Líder® (modelo P-200 M) e estadiômetro portátil vertical, de piso, com paquímetro deslizador da marca Alturaexata®.

O peso foi aferido com roupa leve, sem sapatos, utilizando balança com precisão de pelo menos 0,1 kg. A estatura foi determinada com precisão de 1,0 mm. Posteriormente, foi calculado o índice de massa corporal [IMC= peso(kg)/altura²(cm)] e a VC para as consultas subsequentes, que ocorreram entre seis e 12 meses após a primeira. Os participantes foram classificados de acordo com o EZ da população saudável de referência (OMS, 2007) para os dados antropométricos (DE ONIS *et al.*, 2007) e de acordo com o EZ da população americana para a VC (BAUMGARTNER; ROCHE; HIMES, 1986; KELLY *et al.*, 2014). O cálculo dos EZ mencionados foram feitos utilizando-se o aplicativo *Child Metrics* (DEMIR *et al.*, 2017), como descrito no Apêndice 4.

O estágio puberal foi classificado de acordo com os critérios de Tanner (TANNER, 1975, 1981; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007), utilizando modelos comparativos para o sexo feminino (ANEXO 3) e masculino (ANEXO 4).

A avaliação clínica apresentada no Apêndice 4 também incluiu os dados de altura dos pais, com o objetivo de calcular a estatura alvo (EA), também referida como alvo genético (SIMONE *et al.*, 1997). A EA foi calculada pela média da altura do pai e da mãe do participante em centímetros (cm), adicionando ou subtraindo 6,5 cm para os meninos ou meninas, respectivamente. O cálculo do EZ da EA foi ajustado para o sexo e estatura aos 19 anos de idade de um banco de dados da OMS (2007) e utilizando o aplicativo *Child Metrics* (DEMIR *et al.*, 2017). A estatura do pai e da mãe foi obtida pela mesma técnica empregada para a altura dos participantes, ou, na impossibilidade, fez-se uma estimativa a partir das informações prestadas pelos pacientes e seus responsáveis (WAINER; ROCHE; BELL, 1978; HIMES; ROCHE, 1982; LIPMAN *et al.*, 2016). O cálculo do EZ da estatura dos pais foi realizado utilizando a mesma técnica apresentada para o cálculo do EZ da EA, sendo que a média do EZ da estatura dos pais também foi utilizada como variável.

O Apêndice 3 também traz dados relativos ao nascimento, sendo que o peso para a idade gestacional classificado como pequeno para a idade gestacional (PIG) foi obtido da entrevista e se baseou no peso ao nascimento ajustado para a idade gestacional inferior ao percentil 10 (MINISTÉRIO DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2014), conforme figura do Anexo 5.

4.4 Análises bioquímicas

Recomenda-se que crianças com BE sejam avaliadas clínica e laboratorialmente para exclusão de doenças crônicas e/ou genéticas (PAULA; CZEPIELEWSKI, 2008). Todas as análises bioquímicas (Quadro 2) foram realizadas com amostra de sangue venoso, coletada sem exigência de jejum, no dia da consulta ou em intervalo inferior a três meses da avaliação inicial. Foram coletados 4 mL de sangue venoso e acondicionado em tubo contendo gel separador e ativador de coágulo. O soro foi imediatamente separado por centrifugação, e as análises bioquímicas foram realizadas conforme metodologias e justificativas especificadas no Quadro 2. O laboratório de análises clínicas conveniado é acreditado com base nos requisitos estabelecidos na norma ABNT NBR NM ISO 15189.

Dentre os exames bioquímicos, foram realizadas as dosagens de IGF1 e IGFBP3 por meio de ensaio imunométrico quimioluminescente (sistema IMMULITE® 2000, Siemens Healthcare Diagnostics Products Ltd). Para o cálculo dos EZ do IGF1, foi utilizada a referência do kit laboratorial, que se baseou em uma população predominantemente alemã (ELMLINGER *et al.*, 2004). Para o cálculo do EZ do IGFBP3, o referencial foi baseado em uma amostra de população turca que trabalhou com o mesmo ensaio (GUVEN *et al.*, 2013), devido à insuficiência de dados necessários para o cálculo do EZ no kit laboratorial empregado. Diante das variáveis média e DP, apresentadas nas referências de IGF1 e IGFBP3 e categorizadas de acordo com sexo, IC e estágio da puberdade (ANEXO 6), foi calculado o EZ dos resultados laboratoriais mencionados. A fórmula para cálculo do EZ foi: $(X - \text{média}) / DP$. A categorização dos dados mencionados levou em consideração, além do sexo, a IC do participante ou estágio de maturação sexual por Tanner (APÊNDICE 6). Para o cálculo do EZ do IGF1 e IGFBP3 também foi empregada a IO, por sua elevada correlação com o desenvolvimento puberal em indivíduos com AF (LUBAN; LEIKIN; AUGUST, 1982), tendo assim a intensão de atenuar qualquer impacto deste aspecto na avaliação, como sugerido por Gupta *et al.* (2011). O estágio de maturação sexual empregado foi o genital, no caso do sexo masculino, ou o da mama, para o sexo feminino (MANDESE *et al.*, 2019).

Os participantes que apresentarem BE, definida com estatura inferior a 2 DP abaixo da média nos gráficos de crescimento da OMS, foram avaliados também para a associação com doença celíaca e doença hepática crônica, pelos seguintes exames: dosagem de IgA, anticorpo antitransglutaminase tecidual IgA, TGO (transaminase oxalacética), TGP (transaminase pirúvica), bilirrubina total e frações (Quadro 2). A dosagem de IgA acompanha a dosagem do anticorpo específico do tipo IgA, antitransglutaminase, na triagem da doença celíaca para garantir que a criança não tenha deficiência da imunoglobulina, o que comprometeria a avaliação de todas as imunoglobulinas do tipo A. À dosagem plasmática do cálcio total, foi acrescentado seu ajuste para a albumina plasmática usando a seguinte fórmula: Cálcio total ajustado = Cálcio sérico (mg/dl) + 0,8 [4,0 – albumina (g/dl)] (LIAN; ÅSBERG, 2018).

Quadro 2- Relação dos exames bioquímicos realizados pelos participantes da pesquisa.

EXAME BIOQUÍMICO	MÉTODO	JUSTIFICATIVAS para descartar doenças crônicas associadas à baixa estatura*
Glicose	Enzimático	Diabetes mellitus
Uréia	Enzimático UV	Doença renal crônica
Creatinina	Labtest	Doença renal crônica
Cálcio total	Colorimétrico	Doença osteometabólica
Fósforo	Cinético UV	Doença osteometabólica
Fosfatase alcalina	Bowers e Mc Comb modificado	Doença osteometabólica
Albumina	Colorimétrico	Desnutrição
TSH	Quimioluminescência	Disfunção tireoidiana
T4 Livre	Quimioluminescência	Disfunção tireoidiana
IGF1	Quimioluminescência	Deficiência de GH
IGFBP3	Quimioluminescência	Deficiência de GH
Dosagem IgA	Imunoturbidimetria	Doença celíaca
Anticorpo anti-transglutaminas e tecidual IgA	Fluoroimunoanálise	Doença celíaca
TGO	Cinético UV – IFCC	Doença hepática crônica
TGP	Cinético UV – IFCC	Doença hepática crônica
Bilirrubina total e frações	Sims/Horn	Doença hepática crônica

IFCC: *International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*; UV: ultravioleta.; TSH: *Thyroid-stimulating hormone* (hormônio estimulante da tireoide); T4: tiroxina; IGF1; *Insuline-like growth factor 1* (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 *binding proteins* (proteínas ligantes de IGF1), TGO: transaminase oxalacética; TGP: transaminase pirúvica.

*Fonte: (Brasil., [s.d.]; Rapaport e Bowlby, 2004; Rogol e Hayden, [s.d.]

4.5 Análises radiológicas e previsão de estatura final

Os participantes também foram encaminhados para a realização de radiografia de mão e punho esquerdo para a determinação da IO, que foi definida manualmente conforme descrita no atlas de Greulich e Pyle (1959). A análise das radiografias foi feita por um único endocrinologista, evitando as variações na forma de definir a IO, e ciente da IC do participante, que é a idade calculada por meio da data de nascimento (BERST *et al.*, 2001; SANCTIS *et al.*, 2014). A IO foi utilizada para o cálculo do EZ do IGF1, como complemento ao cálculo baseado na IC (COLLETT-SOLBERG *et al.*, 2007), e para o cálculo da PEF-IO optamos em escolher o método

denominado BoneXpert versão 2.20, que apresenta a vantagem de trazer uma previsibilidade maior em indivíduos com atraso da maturação óssea (THODBERG *et al.*, 2009), como é comum na AF. Os cálculos matemáticos do aplicativo BoneXpert (disponibilizado em www.BoneXpert.com/ahp) fornecem a PEF-IO e o EZ da IO, muito útil para quantificar o atraso na maturação óssea desses indivíduos (THODBERG *et al.*, 2009, 2010; MARTIN; SCHITTENHELM; THODBERG, 2016).

4.6 Análises moleculares

A extração do DNA genômico (gDNA), a partir de leucócitos do sangue periférico coletado em tubo contendo anticoagulante EDTA, foi realizada com o kit comercial QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN®), seguindo o protocolo do fabricante e armazenado a -20°C. O gDNA foi quantificado e seu grau de pureza determinado pela razão das densidades ópticas A260nm/A280nm em equipamento de espectrofotometria (Nanovue - GE®).

4.7 Genotipagem dos alelos de deleção do gene *HBA* para alfa-talassemia

A genotipagem nos genes *HBA* foi realizada para detectar a presença de deleções, tipos $-\alpha^{3.7}$ e $-\alpha^{4.2}$, mais frequentes na população de Minas Gerais que acarretam a alfa-talassemia. A reação foi realizada por meio de gap-PCR multiplex com o kit comercial de PCR Multiplex (Qiagen®), de acordo com o protocolo descrito previamente (TAN *et al.*, 2001), modificando-se a temperatura de anelamento dos *primers* para 62°C conforme descrito em Belisário *et al.*, 2015.

4.8 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa SPSS® versão 22.0. As variáveis contínuas foram descritas em média \pm DP e as nominais em porcentagens. Para a verificação da associação de variáveis nominais ou categóricas, como a presença de BE, uso de HU, aumento da velocidade do fluxo no DTC,

genótipos de deleção da alfa-talassemia, categorias de tempo de uso da HU e categorias de classificação do peso, entre outros, foi utilizado o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando necessário. Na sequência, a razão de chance (RC) e o intervalo de confiança de 95% foi calculada para as variáveis nominais citadas acima. Para a definição de normalidade das variáveis contínuas foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk, pois a população prevista para ser analisada é menor que 50 indivíduos. A análise de correlação entre as diversas variáveis contínuas, como o EZ dos dados antropométricos, EZ do IGF1, EZ do IGFBP3, EZ da PEF-IO, valores absolutos das velocidades do fluxo sanguíneo obtidos no DTC e os resultados dos diversos exames laboratoriais, após aplicação dos testes de normalidade, foi realizada pelo teste de Pearson ou Spearman. O valor da correlação menor que 0,39 foi considerado fraca, entre 0,4 e 0,69 moderado e acima de 0,7 forte. As variáveis contínuas citadas anteriormente também tiveram suas médias comparadas pelo do teste T de Student ou do teste de U de Mann-Whitney entre alguns grupos: como o dos pacientes que usavam ou não a HU; os que tinham ou não BE, os que são ou não respondedores ao uso de HU, sendo classificado como respondedores os que apresentam HbF > 10%, entre outros. A significância estatística foi estabelecida em $P < 0,05$.

5 RESULTADOS

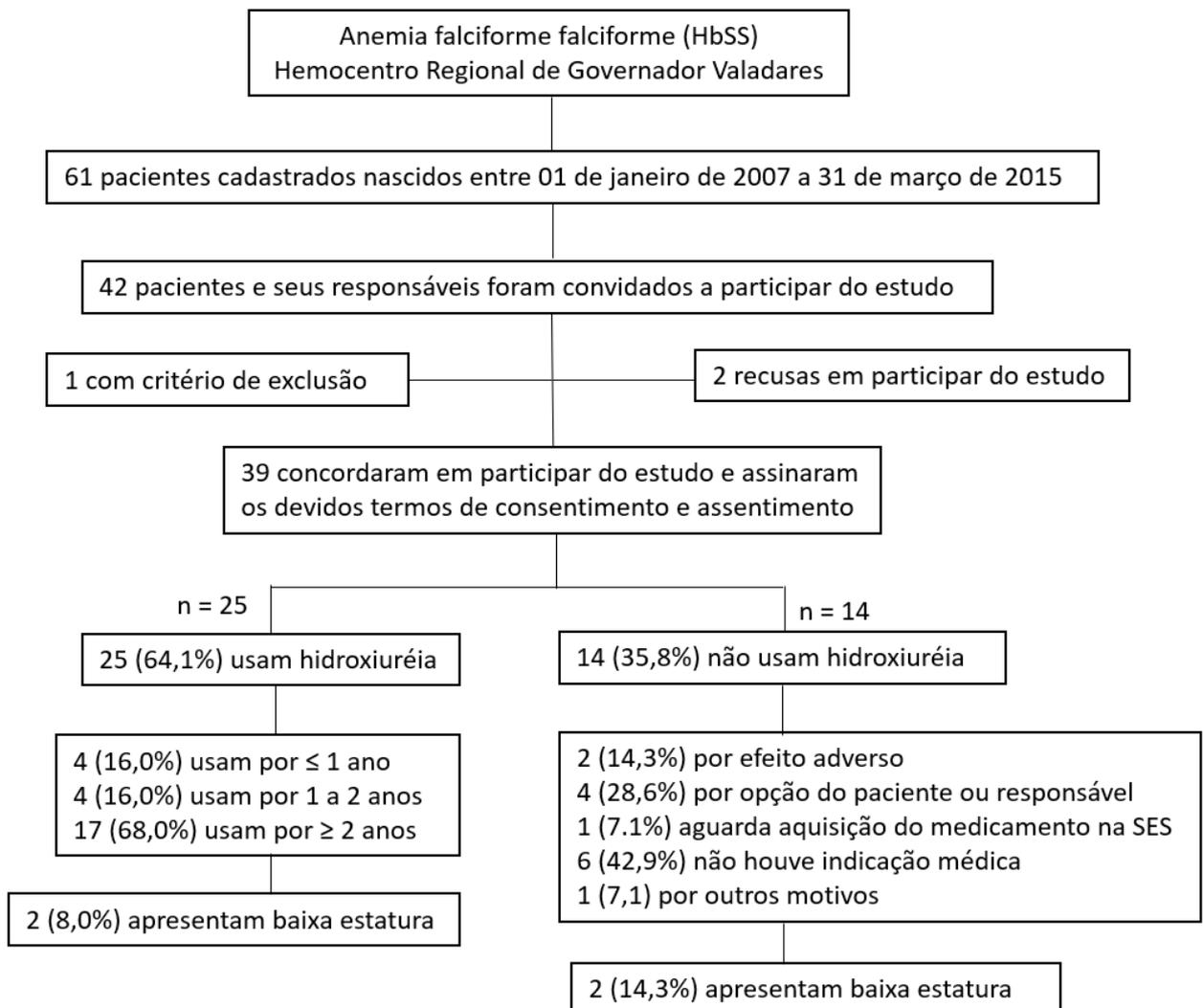
5.1 Descrição da população

No período de agosto de 2018 a julho de 2019 foram abordados e convidados a participar do estudo 42 pacientes com anemia falciforme com idade entre 3 e 12 anos de um total de 61 cadastrados e acompanhados no HRGV. Dois pacientes não aceitaram participar do estudo e um apresentou critério de exclusão, devido a deficiência intelectual acentuada. Concordaram em participar do estudo 39 pacientes. A média de idade dos participantes foi $8,29 \pm 2,26$ anos (variação de 3,73 a 11,92 anos), sendo 20 (51,3%) do sexo masculino. Em relação ao uso de HU, 25 (64,1%) usavam o medicamento, grupo em que se incluíram cinco (12,8%) pacientes que estavam em RT. Os motivos para os pacientes não utilizarem HU, bem como o tempo de uso do medicamento estão especificados na Figura 6.

As principais características das crianças com AF atendidas no HRGV quanto às variáveis nominais foram apresentadas na Tabela 1, quanto às complicações clínicas na Tabela 2 e quanto às variáveis quantitativas na Tabela 3.

Como nem todas as variáveis puderam ser avaliadas na totalidade das crianças ($n = 39$), o quantitativo da amostra sofreu variações, como em relação ao DTC, HbF, estatura dos pais, avaliação de alfa-talassemia, avaliação da IO, avaliação da VC e avaliação do peso e comprimento ao nascimento (CN), sendo que a estatura de um dos pais foi estimada em todas as crianças.

Figura 6 – Fluxograma das atividades e características da população estudada quanto ao uso ou não da hidroxiureia



Fonte: próprio autor. Nota: SES: Secretaria Estadual de Saúde.

5.2 Avaliação antropométrica, da puberdade e da maturação óssea

Entre os participantes da pesquisa, a prevalência de BE foi 10,3% (Tabela 2), sendo o EZ médio da estatura de $-0,75 \pm 0,30$ (variação de $-3,17$ a $2,67$). Quanto ao IMC, 89,7% das crianças foram classificadas como eutróficas, escore Z do IMC ≥ -2 DP e ≤ 1 DP e 5,1% como tendo sobrepeso, EZ do IMC > 1 DP e ≤ 2 DP. Nenhum participante foi classificado com obesidade, EZ do IMC ≥ 2 DP (Tabela 4).

Tabela 1 – Características das crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto às variáveis nominais

	Uso de hidroxiureia				n	Total	p
	n	Sim	n	Não			
	25		14		39		
Sexo							
Masculino	13	52,0 %	7	50,0 %	20	51,3 %	0,9 ^b
Feminino	12	48,0 %	7	50,0 %	19	48,7 %	
Deleção no gene <i>HBA</i>							
$\alpha\alpha/\alpha^{3,7}$	5	20,0 %	3	21,4 %	8	20,5 %	1,0 ^a
$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	20	80,0 %	11	78,6 %	31	79,4 %	
HbF							
> 10%	12	52,2 %	6	75,0 %	18	52,9 %	
≤ 10%	11	47,8 %	5	45,5 %	16	47,1 %	
Crise álgica no último ano	16	64,0 %	7	50,0 %	23	59,0 %	0,39 ^b

Fonte: próprio autor. Nota: *HBA*: gene da α -globina; HbF: hemoglobina fetal; ^a Teste exato de Fisher; ^b Teste qui-quadrado de Pearson; * p < 0,05 = significativo.

Tabela 2 – Características das 39 crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto aos eventos clínicos

Evento clínico	n	Frequência (%)
Crise álgica com atendimento hospitalar	32	82,1
Um evento no último ano	9	23,1
Dois eventos no último ano	2	5,1
Três eventos no último ano	5	12,8
Quatro eventos no último ano	0	0,0
Cinco eventos no último ano	2	5,1
Mais de 5 eventos no último ano	6	15,4
Qualquer quantidade de eventos no último ano	23	59,0
Qualquer quantidade de eventos há mais de um ano	9	23,1
Sequestro esplênico	10	25,6
STA	9	23,1
Colelitíase	7	17,9
Esplenectomia	7	17,9
Baixa estatura (EZ < -2)	4	10,3
Dactilite	3	7,0
AVE	2	5,1
Baixo IMC para idade (EZ < -2)	2	5,1
Sobrepeso/obesidade (EZ IMC ≥ 1)	2	5,1
Priapismo (n = 20 meninos)	1	5,0

Fonte: próprio autor. Nota: AVE: acidente vascular encefálico; STA: síndrome torácica aguda; IMC: índice de massa corporal; EZ: escore Z.

Tabela 3 – Características das crianças com anemia falciforme participantes do estudo quanto às variáveis contínuas

	Uso de hidroxiureia						p
	Sim n = 25		Não n = 14		Total n = 39		
	Média ± DP		Média ± DP		Média ± DP		
Idade (anos)	25	8,6 ± 2,21	14	7,6 ± 2,3	39	8,2 ± 2,2	0,19 ^a
DTC							
Maior FSC (cm/s)	21	145,5 ± 25,4	11	137,1 ± 24,5	33	142,7 ± 25,1	0,48 ^b
Laboratório							
LG (10 ⁹ /L)	25	10,64 ± 2,7	14	13,50 ± 3,4	39	11,67 ± 3,3	0,008 ^{a*}
VCM (fL)	25	94,4 ± 9,4	25	81,2 ± 22,2	39	89,7 ± 16,3	0,004 ^{b*}
Hb (g/dl)	25	8,04 ± 1,0	14	7,65 ± 2,3	39	7,87 ± 1,2	0,2 ^a
Plaquetas (10 ⁹ /L)	25	488 ± 113	14	492 ± 90	39	489 ± 104	0,9 ^a
HbF (%)	23	14,92 ± 14,9	11	12,88 ± 8,6	34	14,26 ± 13,1	0,26 ^b
Reticulócito (%)	25	5,9 ± 3,5	14	6,8 ± 4,1	39	11,67 ± 3,3	0,55 ^b
Albumina (g/dl)	25	4,53 ± 0,2	14	4,64 ± 0,3	39	4,64 ± 0,3	0,28 ^a
EZ-IGF1-IC	25	-0,81 ± 0,8	14	-0,99 ± 1,1	39	-0,88 ± 0,9	0,51 ^a
EZ-IGFBP3-IC	25	-0,68 ± 0,7	14	-0,70 ± 0,8	39	-0,69 ± 0,7	0,92 ^a
Antropometria							
EZ-estatura-IC	13	-0,61 ± 1,1	11	-0,90 ± 1,18	24	-0,75 ± 1,1	0,29 ^a
EZ VC	8	-0,66 ± 1,59	5	-0,17 ± 0,96	13	-0,48 ± 1,36	0,55 ^a
EZ-estatura-pais	23	-0,88 ± 0,7	14	-1,19 ± 0,7	37	-0,99 ± 0,7	0,23 ^a
EZ-PEF-IO	19	-0,88 ± 0,7	10	0,58 ± 2,2	29	0,42 ± 1,9	0,83 ^b

Fonte: próprio autor. Nota: HbF: hemoglobina fetal; DTC: Doppler transcraniano; Maior FSC: maior fluxo sanguíneo cerebral por meio das medidas nas artérias cerebrais médias e artérias carótidas internas; LG: leucometria global; VCM: volume corpuscular médio; Hb; hemoglobina; EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IGF1; Insuline-like growth factor 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 binding proteins (proteínas ligantes de IGF1); EZ-IGF1-IC: EZ do IGF1 ajustado para a IC; EZ-IGFBP3-IC: EZ do IGFBP3 ajustado para a IC; EZ-estatura-IC: EZ da estatura ajustado para IC; VC: velocidade de crescimento em cm/ano; EZ-estatura-pais: EZ médio da estatura dos pais; IO: idade óssea; EZ-PEF-IO: EZ da previsão de estatura final ajustado para a IO; ^a Teste T de Student; ^b Teste U de Mann-Whitney; * p < 0,05 = significativo.

Tabela 4 – Características antropométricas das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Antropometria	n	Frequência (%)
Classificação da estatura	39	100,0
EZ < - 3 DP	2	5,1
EZ ≥ - 3 e < -2 DP	2	5,1
EZ ≥ - 2 DP	35	89,5
Classificação do IMC para a idade	39	100,0
EZ < - 3 DP	1	2,6
EZ ≥ - 3 e < -2 DP	1	2,6
EZ ≥ - 2 DP e ≤ 1 DP	35	89,7
EZ > 1 DP e ≤ 2 DP	2	5,1

Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; DP: desvio padrão; IMC: índice de massa corporal.

Foi possível avaliar a VC em um período superior a seis meses em 13 crianças, e os dados se encontram detalhados na Tabela 5. Todas as crianças que foram avaliadas quanto à VC não apresentaram BE.

Tabela 5 – Características relativas à velocidade crescimento de 13 crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Velocidade de crescimento	Menor valor	Maior valor	Média	DP
Em cm/ano	-3,53	2,21	-0,48	1,36
Em EZ	2,05	8,81	5,53	1,78
	Frequência (%)			
Percentil < 25	46,2 (n = 6/13)			
EZ < -1	38,5 (n = 5/13)			

Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; DP: desvio padrão.

A respeito do início da puberdade, apenas quatro (10,24%) pacientes foram classificados como púberes, sendo três do sexo feminino, que apresentavam mama no segundo estágio de Tanner, e uma criança do sexo masculino, que se apresentava no terceiro estágio de Tanner para a genitália (Tabela 6).

Tabela 6 – Classificação de Tanner para o desenvolvimento puberal das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Estágio de Tanner	n	Frequência (%)
Sexo masculino: genitália	20	100,0
G1	17	89,5
G2	1	5,3
G3	1	5,3
Não avaliado	1	5,3
Sexo feminino: mama	19	100,0
M1	16	84,2
M2	3	15,8
Ambos os sexos: pelos	39	100,0
P1	36	92,3
P2	1	2,6
P3	1	2,6
Não avaliado	1	2,6

Fonte: próprio autor. Nota: G: genitália; M: mama; P: pelos.

A avaliação da IO foi realizada em 74,3% (n = 29) das crianças como forma de retratar a maturação óssea. A Tabela 7 apresenta os resultados da relação de IO com a IC, bem como o cálculo da PEF-IO pelo método de previsão BoneXpert (BX) e sua representação em EZ. Dividindo-se a população entre as crianças com menos ou ≥ 7 anos de idade, não houve diferença nos grupos em relação ao EZ da IO e aos EZs relativos ao eixo GH/IGF1 ou aos dados antropométricos.

Tabela 7 – Dados relativos à idade óssea de 29 crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Variável obtida	Média \pm DP
IO (em anos)	7,46 \pm 2,39
EZ IO	-1,19 \pm 1,46
IC – IO (em anos)	0,85 \pm 1,36
PEF-IO	166,43 \pm 9,97
EZ PEF-IO	0,42 \pm 1,94

Fonte: próprio autor. Nota: IO: idade óssea; EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IC – IO: idade IC menos a IO; PEF: previsão de estatura final; PEF-IO: PEF calculado por meio da IO; EZ PEF-IO: EZ da PEF-IO.

O cálculo do EZ da PEF-IO trouxe informações adicionais ao ser comparado ao EZ médio da estatura dos pais, como mostrado na Tabela 8. Pelo cálculo do EZ da estatura dos pais, também realizado utilizando o gráfico padronizado da OMS e ajustando a idade para 19 anos, estimou-se prevalência de BE entre os pais de 14,4% (n = 11). Da população avaliada, apenas 5,1% (n = 2/39) teve a diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças participantes (Dif. EZ Pais - Cç) superior 1 DP, sendo 2,5% (n = 1/39) maior que 2 DP.

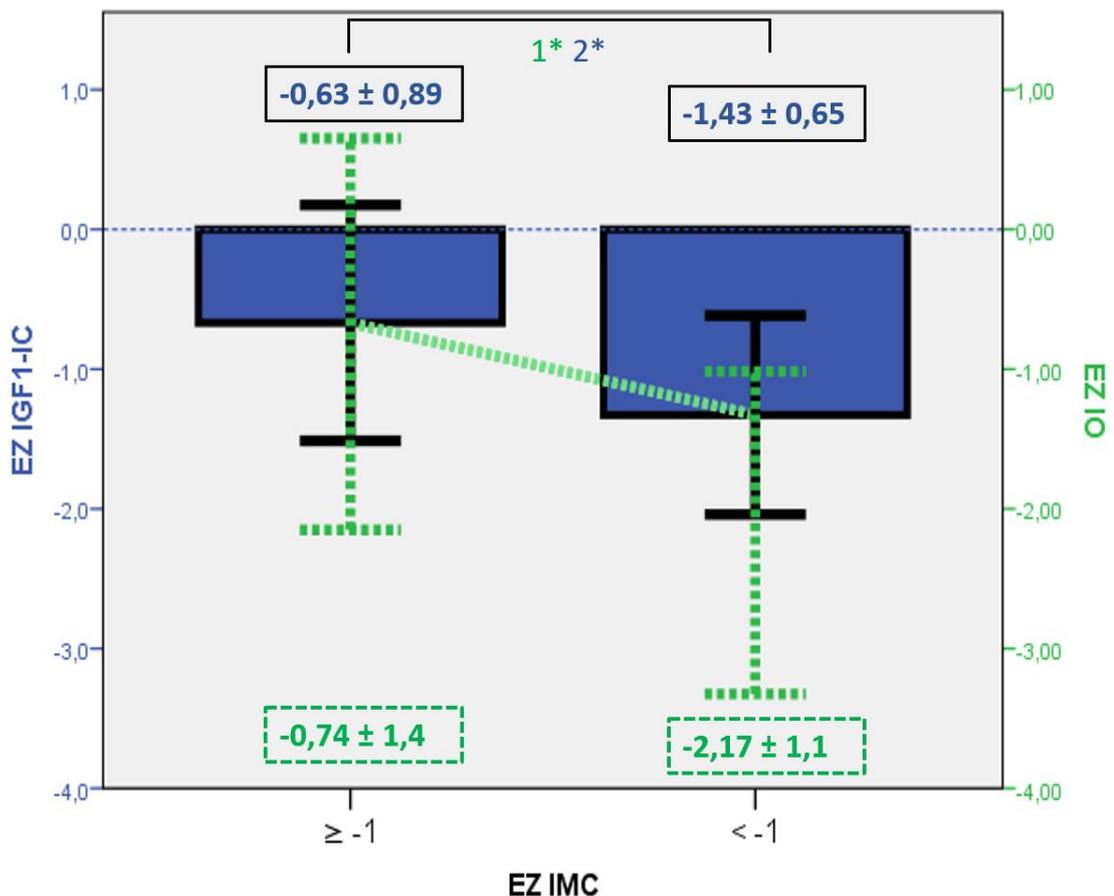
Tabela 8 – Características antropométricas dos pais das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Característica	n	Valor
EZ médio da estatura dos pais	37	-0,99 \pm 0,75 DP
Diferença entre EZ da estatura dos pais e dos filhos	37	-0,24 \pm 1,1 DP
Diferença entre EZ da estatura dos pais e o EZ da PEF-IO	37	-1,59 \pm 2,1 DP
Mãe com BE (EZ da estatura < - 2 DP) (n total = 38)	6	15,8 %
Pai com BE (EZ da estatura < - 2 DP) (n total = 38)	5	13,2 %
Somatório da prevalência de BE em pai e mãe (n total = 76)	11	14,4 %

Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; DP: desvio padrão; PEF: previsão de estatura final; IO: idade óssea; EZ PEF-IO: EZ PEF calculado com uso da IO; BE: baixa estatura

Ao agrupar aleatoriamente os pacientes conforme o EZ do IMC, ou seja, um grupo representado pelos pacientes com EZ do IMC < -1 ($n = 12$; 30,8%) e o outro pelos demais pacientes ($n = 27$; 69,2%), observou-se que a média do EZ da IO foi significativamente ($p = 0,013$) menor no grupo com menor IMC. Seguindo o mesmo padrão, o grupo com menor IMC também apresentou menor EZ do IGF1 ajustado para a IC (EZ IGF1-IC) (Gráfico 1) e EZ do IGFBP3 ajustado para a IC (EZ IGFBP3-IC) ($p = 0,009$). Descritivamente, o EZ IGFBP3-IC nas 12 crianças com menor IMC foi de $-0,48 \pm 0,75$ e $-1,15 \pm 0,54$ nas 27 restantes.

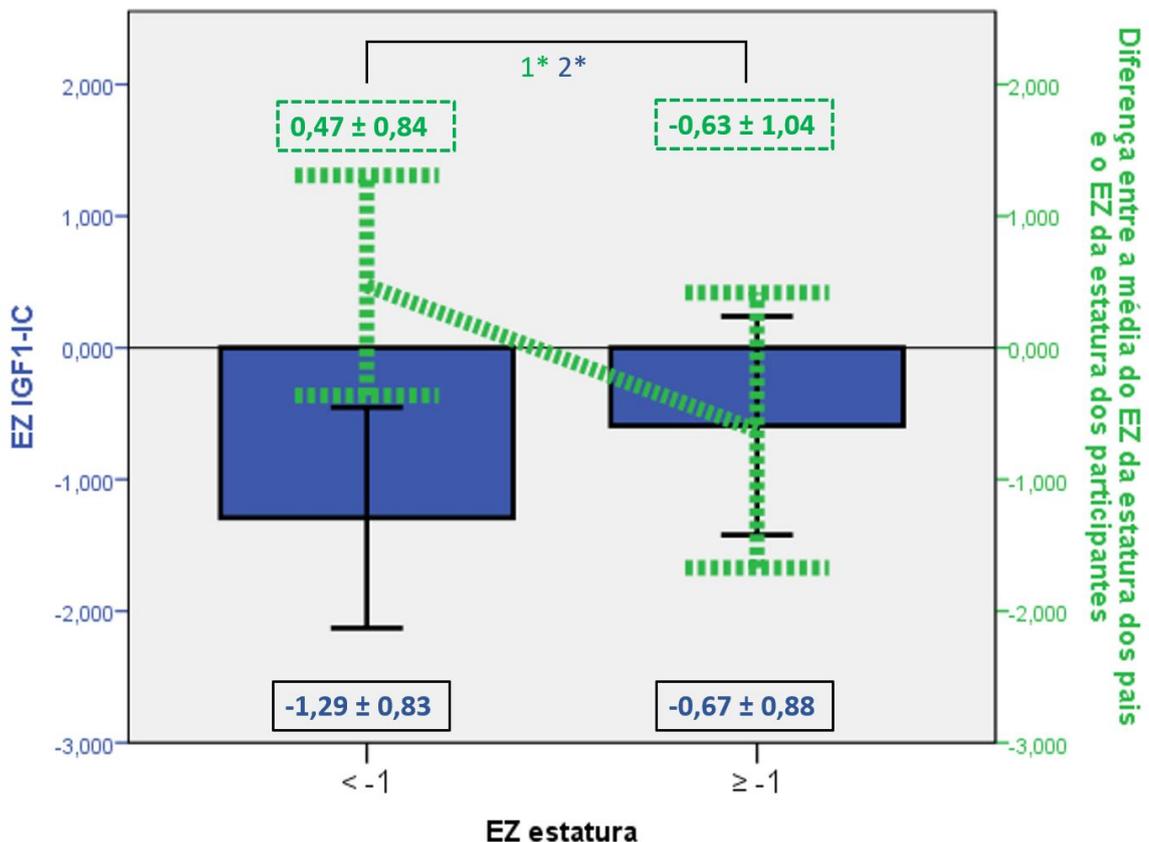
Gráfico 1 – EZ do IGF1 ajustado para idade cronológica e o EZ da idade óssea dividido entre o grupo de crianças com EZ do IMC < -1 ou ≥ -1



Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IO: idade óssea; IMC: índice de massa corporal; DP: desvio padrão; EZ IGF-IC: EZ do IGF1 ajustado para IC; as linhas contínuas se referem ao EZ IGF1-IC, enquanto as descontínuas representam o EZ IO; os valores abaixo (EZ IO) ou acima (EZ IGF1-IC) das barras estão em média \pm DP as barras estão em média \pm DP; 1* p significativo = 0,013 para o teste de T de Student (EZ IO); 2* p significativo = 0,009 para o teste T de Student (EZ IGF1-IC).

Agrupando-se os participantes entre aqueles com o EZ da estatura < -1 dos demais, identificou-se que o EZ IGF1-IC foi significativamente mais elevado naquelas com maior estatura. Quanto à Dif. EZ Pais - Cç nos mesmos grupos citados, foi significativamente mais elevada no grupo com menor estatura comparado ao de maior estatura (Gráfico 2).

Gráfico 2 – EZ do IGF1 ajustado para idade cronológica e diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e das crianças nos grupos de pacientes com EZ da estatura < -1 ou ≥ -1

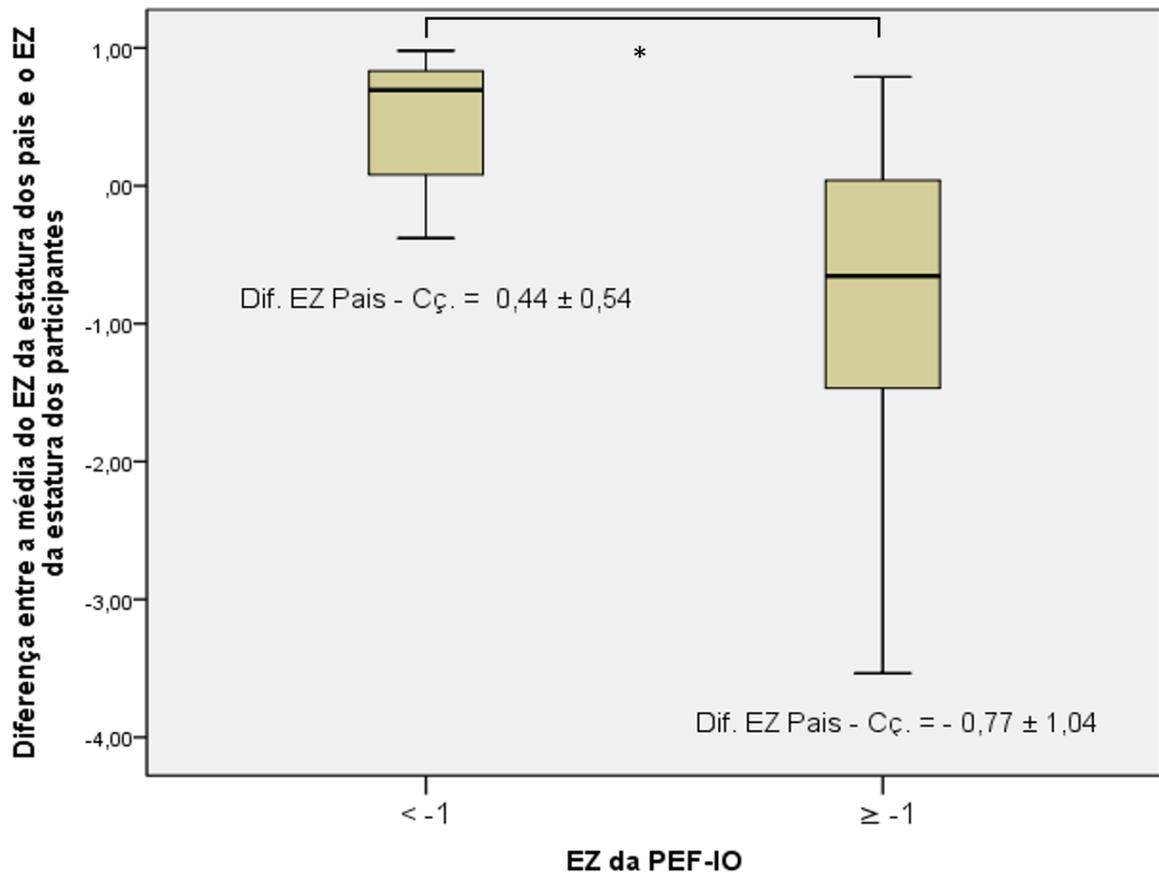


Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IC: idade cronológica; DP: desvio padrão; EZ IGF1-IC: EZ do IGF1 ajustado para IC; Dif. EZ Pais – Cç.: diferença entre a média do EZ da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças participantes; as linhas contínuas se referem ao EZ IGF1-IC, enquanto as descontínuas representam a Dif. EZ Pais – Cç; os valores abaixo (EZ IGF1-IC) ou acima (Dif. EZ Pais – Cç) das barras estão em média \pm DP; as barras estão em média \pm DP; 1^* p significativo = 0,007 para o teste de T de Student (Dif. EZ Pais – Cç); 2^* p significativo = 0,044 para o teste T de Student (EZ IGF1-IC).

Dicotomizando o EZ da PEF-IO dos pacientes em dois grupos, um representado pelos pacientes com EZ da PEF-IO < -1 ($n = 7$; 24,1%) e o outro pelos

demais pacientes (n = 22; 75,9%), notou-se que a Dif. EZ Pais - Cç foi significativamente maior no grupo com menor EZ da PEF-IO (p = 0,007) (Gráfico 3).

Gráfico 3 – Diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e das crianças nos grupos de pacientes com EZ da PEF-IO < -1 e com EZ da PEF-IO ≥ -1



Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IO: idade óssea; PEF-IO: previsão de estatura final baseado na IO; Dif. EZ Pais – Cç.: valor médio ± DP da diferença entre a média do EZ da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças participantes; * p significativo = 0,007 para o teste T de Student.

5.3 Exames bioquímicos

Foram realizados exames bioquímicos séricos nas crianças participantes do estudo (Quadro 2). Nas Tabelas 9 e 10 são apresentadas as variações dos valores encontrados e a quantificação os valores fora da faixa de referência, respectivamente. Quanto à glicemia plasmática, apenas um participante (2,5%) apresentou resultado de glicemia acima da referência laboratorial. No entanto, o resultado da glicemia não foi empregado nas avaliações estatísticas, dado que a amostra de sangue coletada não foi realizada em horários e estado de jejum comuns a todos os participantes.

Tabela 9 – Resultados das análises bioquímicas das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Exames	N	Menor valor	Maior valor	Média	DP
LG (10 ⁹ /L)	39	5,1	19,6	11,6	3,3
Segmentados (10 ⁹ /L)	39	0,6	11,7	6,2	2,7
Monócitos (10 ⁹ /L)	39	0,7	12,7	2,6	2,1
Plaquetas (10 ⁹ /L)	39	160,0	692,0	489,8	104,6
Hb (g/dl)	39	5,7	11,5	7,9	1,2
HTC (%)	39	17,3	35,8	24,2	3,9
VCM (fL)	39	71,0	112,0	89,7	16,3
HCM (pg)	39	22,0	35,9	29,8	3,5
HbF (%)	34	3,1	34,7	12,6	7,8
Reticulócitos (%)	39	0,5	18,2	6,3	3,8
Ferro (µg/dl)	38	23,0	155,0	79,8	35,7
Ferritina (ng/ml)	38	17,0	1950,0	330,7	420,1
IST (%)	36	13,0	70,0	35,3	17,0
Glicemia (mg/dl)	39	63,0	116,0	80,7	10,2
Cálcio (mg/dl)	39	8,8	10,5	9,3	0,3
Fósforo (mg/dl)	39	84,0	300,0	170,4	52,3
Uréia (mg/dl)	39	15,0	27,0	17,8	3,2
FA (U/L)	39	84,0	300	170,4	52,3
Creatinina (mg/dl)	39	0,3	0,6	0,4	0,1
T4L (ng/dl)	39	0,9	1,6	1,1	0,1
TSH (µU/ml)	39	0,8	5,0	2,3	1,1
Albumina (g/dl)	39	3,8	5,3	4,6	0,3
IGF1 (ng/ml)	39	33,0	199,0	95,4	38,7
EZ IGF1-IC	39	-2,5	0,7	-0,9	0,9
EZ IGF1-IO	29	-2,5	1,0	-0,8	0,9
EZ IGF1-Tanner	39	-3,0	1,0	-1,1	0,7
IGF-BP3 (µg/ml)	39	1,4	4,7	3,0	0,9
EZ IGFBP3-IC	39	-2,1	0,8	-0,7	0,8
EZ IGFBP3-IO	29	-1,7	0,8	-0,4	0,6
TGO (U/ml)	3	57,0	94,0	72,0	19,5
TGP (U/ml)	3	28,0	46,0	37,3	9,0
Bilirrubina I (mg/dl)	3	0,9	1,4	1,2	0,2
Bilirrubina T (mg/dl)	3	1,8	2,2	2,0	0,2
Bilirrubina D (mg/dl)	3	0,4	1,1	0,8	0,3

Fonte: próprio autor. Nota: DP: desvio padrão; LG: leucometria global; Hb: hemoglobina; HTC: hematócrito; VCM: volume corpuscular médio; HCM; hemoglobina corpuscular média; HbF: hemoglobina fetal; IST: índice de saturação da transferrina; FA: fosfatase alcalina; T4L: tiroxina livre; TSH: hormônio estimulante da tireoide; IGF1; *Insuline-like growth factor 1* (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 *binding proteins* (proteínas ligantes de IGF1); EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IO: idade óssea; EZ IGF1-IC: EZ do IGF1 ajustado para a IC; EZ IGF1-IO: EZ do IGF1 ajustado para a IO; EZ IGFBP3-IC: EZ do IGFBP3 ajustado para a IC; EZ IGFBP3-IO: EZ do IGFBP3 ajustado para a IO; TGO: transaminase oxalacética; TGP: transaminase pirúvica; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta.

Tabela 10 – Descrição dos exames bioquímicos séricos fora da faixa de referência das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Exames (amostra randômica)	n	Faixa de referência	Abaixo da referência		Acima da referência	
			n	%	n	%
Glicemia (mg/dl)	39	60,0 a 100,0*	0	0	1	2,6
Calcio (mg/dl)	39	9,0 a 11,0	9	23,1	0	0
Ca-ajust-alb (mg/dl)	39	9,0 a 11,0	30	76,9	0	0
Fósforo (mg/dl)	39	3,0 a 7,0	0	0	0	0
Ureia (mg/dl)	39	2 a 36	0	0	0	0
Fosfatase Alcalina (U/L)	39	75 a 390	0	0	0	0
Creatinina (mg/dl)	39	0,40 a 1,3	23	59	0	0
Tiroxina livre (ng/dl)	39	0,7 a 1,8	0	0	0	0
TSH (mcU/ml)	39	0,4 a 5,0	0	0	1	2,6
Albumina (g/dl)	39	3,5 a 5,0	0	0	4	10,3
EZ IGF1-IC (DP)	39	-2 a 2	6	15,4	0	0
EZ IGF1-IO (DP)	29	-2 a 2	4	10,3	0	0
EZ IGF1-Tanner (DP)	39	-2 a 2	1	2,6	0	0
EZ IGFBP3-IC (DP)	39	-2 a 2	1	2,6	0	0
EZ IGFBP3-IO (DP)	29	-2 a 2	0	0	0	0

Fonte: próprio autor. Nota: DP: desvio padrão; * a faixa de referência utilizada foi a fornecida pelo ensaio empregado e tendo o jejum como recomendação; Ca: cálcio; alb: albumina; Ca-ajust-alb: cálcio ajustado para o valor de albumina [equação = Ca + 0,8 (4 – alb)]; TSH: hormônio estimulante da tireoide; EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IO: idade óssea; IGF1; *Insuline-like growth fator 1* (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 *binding proteins* (proteínas ligantes de IGF1); EZ IGF1-IC: EZ do IGF1 ajustado para a IC; EZ IGF1-IO: EZ do IGF1 ajustado para a IO; EZ IGF1-Tanner: EZ do IGF ajustado para o estágio da puberdade de Tanner; EZ IGFBP3-IC: EZ do IGFBP3 ajustado para a IC; EZ IGFBP3-IO: EZ do IGFBP3 ajustado para a IO; TGO: transaminase oxalacética; TGP: transaminase pirúvica; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina direta; BI: bilirrubina indireta.

Como proposto para as crianças com BE, a avaliação para a presença de doença celíaca com a dosagem de IgA sérica e do anticorpo antritransglutaminase tecidual IgA foi realizada em apenas três crianças, sendo que a totalidade cursou com sorologia negativa e dosagem de IgA dentro da referência laboratorial.

5.4 Doppler transcraniano e oximetria de pulso

O DTC foi realizado em 88% (n = 33) das crianças, sendo que apenas uma foi classificada como tendo risco alto baseado no maior valor da velocidade do FSC e com uso das medidas nas ACM e ACI. A única criança classificada como sendo de alto risco no DTC não apresentava BE, sendo seu EZ da estatura -0,47. A Tabela 11 mostra a classificação do resultado do DTC nas crianças avaliadas. A Tabela 12 descreve as velocidades obtidas em cada artéria individualmente, além do resultado

da oximetria de pulso que foi realizada durante o DTC. Avaliando a velocidade obtida em cada vaso individualmente, da extração do vaso com maior velocidade ou da utilização da classificação do exame, não houve associação com dados antropométricos ou clínicos. Quanto aos dados laboratoriais, houve correlação negativa da velocidade na ACA com a Hb e positiva com os leucócitos (Tabela 15).

Tabela 11 – Resultado da classificação do Doppler transcraniano nas crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Classificação pelo FSC	n	Frequência (%)
Indeterminado*	1	3,0
Risco baixo (< 170 mm/s)	28	84,8
Condicional (170 a 199 mm/s)	3	9,1
Risco alto (≥ 200 mm/s)	1	3,0
Total	33	100,0

Fonte: próprio autor. Nota: * ausência de alguma das janelas avaliadas ou dificuldade técnica na realização do exame; FSC: maior fluxo sanguíneo cerebral com uso de medidas nas artérias cerebrais médias e artérias carótidas internas.

Tabela 12 – Velocidades obtidas no Doppler transcraniano e oximetria de pulso das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

	Maior FSC	ACM	ACA	ACP	ACI	Basilar	SpO2
N	33	33	33	33	33	32	30
Média	143	137	108	83	116	98	95
DP	25	20	17	13	27	13	3
Menor valor	96	96	53	66	81	65	89
Maior valor	233	183	156	123	233	124	99

Fonte: próprio autor. Nota: FSC: maior fluxo sanguíneo cerebral; ACA: FSC nas artérias cerebrais inferiores; ACM: FSC nas artérias cerebrais médias; ACP: FSC nas artérias cerebrais posteriores; ACI: FSC nas artérias carótidas internas distais; Basilar: FSC na artéria basilar; Maior FSC: maior valor entre ACM e ACI; SpO2: saturação periférica de oxigênio medida em oxímetro de pulso; DP: desvio padrão; a unidade de medida das velocidades no Doppler estão em cm/s e a SpO2 em %.

5.5 Uso de hidroxiureia

O uso de HU foi registrado entre 64,1% das crianças avaliadas (Figura 6). As Tabela 1 e 3 mostram dados dos grupos de pacientes que usa ou não HU e os compara baseando-se em variáveis nominais ou contínuas, respectivamente. Observou-se diferença significativa nos níveis de leucócitos globais e no VCM. Excluindo-se os pacientes que se encontravam sob RT (n = 5; 12,8%), manteve-se a significância estatística apenas para essa variável. Quanto aos demais exames

laboratoriais descritos na tabela 9 e não apresentados na tabela 3, não houve significância estatística para a diferença entre os grupos relativos ao uso de HU.

Como a quantidade de pacientes que utilizam a HU por menos que um ano ou por 1 a 2 anos foram restritas a apenas quatro pacientes em cada categoria (Tabela 13), optou-se por agrupar os pacientes entre os que utilizavam a HU por tempo inferior a um ano (incluindo os que não utilizavam) e os demais. A média do EZ do IGFBP3 ajustado para a IO (EZ IGFBP3-IO) por meio do teste T de Student foi significativamente ($p < 0,009$) maior no grupo com maior tempo de uso do medicamento (Gráfico 4). O mesmo padrão de significância se seguiu à divisão entre o grupo dos pacientes que não utilizava ou utilizava a HU por tempo < 2 anos e o grupo que utilizava por tempo ≥ 2 anos. Comparando-se os pacientes que utilizavam cápsula ou solução, a média de idade foi superior nos pacientes que usam o medicamento em cápsula, porém não houve diferença quanto à HbF ou dose de HU entre esses grupos (Tabela 14).

Tabela 13 – Dados relativos ao uso de hidroxiureia entre as crianças com anemia falciforme participantes do estudo

Variáveis	n	Valores
Dose de HU		
Dose em mg/kg/dia (média \pm DP)	25	18,98 \pm 6,03
Dose em mg/m ² (média \pm DP)	25	521,9 \pm 183,93
Tempo de uso em anos (média \pm DP)	25	1,77 \pm 1,58
< 1 ano	4	16 %
1 a 2 anos	4	16 %
> 2 anos	17	68 %
Apresentação		
Solução	12	48 %
Cápsula	13	52 %
Aderência terapêutica		
Aderente ^a	8	32 %
Completamente aderente ^b	17	68 %

Fonte: próprio autor. Nota: HU: hidroxiureia; DP: desvio padrão; ^a Definido como o paciente que utiliza a HU por 24 ou mais dias no mês, mas omite o uso ocasionalmente. ^b Definido como o paciente que não omite o uso da HU em nenhum dos dias do mês.

Dividindo a população entre os pacientes que utilizavam ou não a HU com o objetivo de avaliar o efeito da dose do medicamento entre os usuários, pode-se evidenciar correlação da dose em mg/kg/dia e os leucócitos totais ($r = -0,52$; $p = 0,023$) e com a ferritina ($r = 0,54$; $p = 0,006$). A correlação com a ferritina foi mantida após

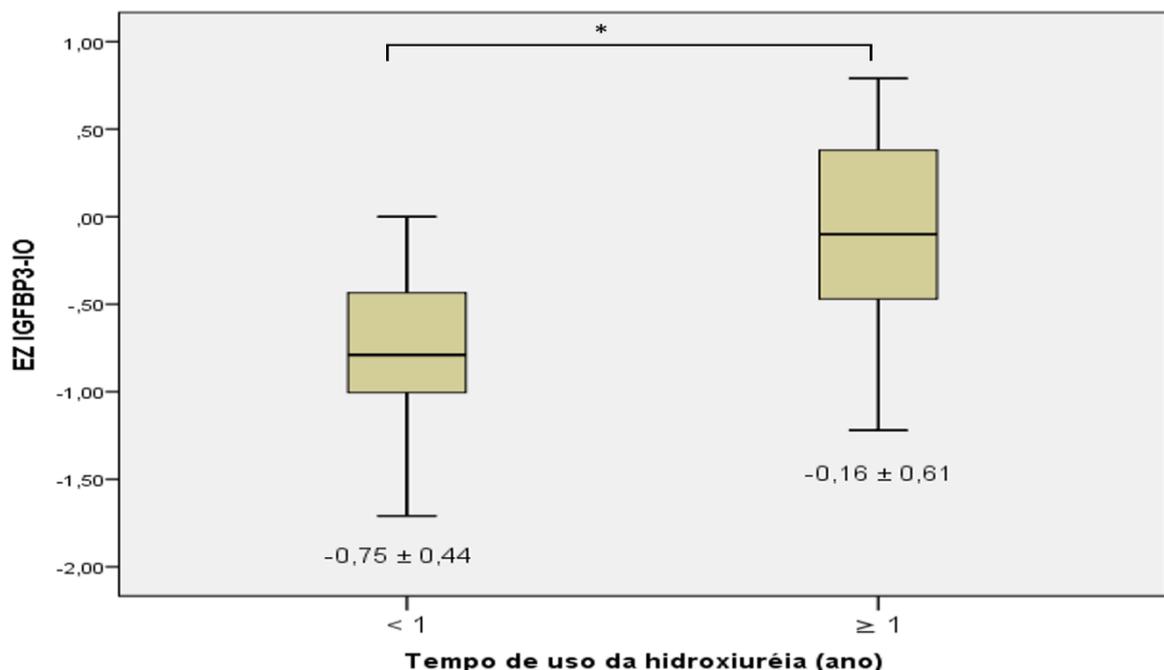
retirar do grupo os pacientes sob RT ($r = 0,59$; $p = 0,001$). No entanto, não houve correlação com o índice de saturação da transferrina (IST) nem com os leucócitos ($r = 0,28$; $p = 0,24$).

Tabela 14 – Dados relativos ao tipo de apresentação da hidroxiureia e níveis de hemoglobina Fetal das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

	Hidroxiureia						p
	n	Cápsula	n	Solução	n	Total	
Idade	13	$9,6 \pm 1,8$	12	$7,5 \pm 2,9$	25	$8,6 \pm 2,2$	0,013 ^{a*}
Dose HU		$20,6 \pm 5,3$		$17,2 \pm 6,4$		$18,98 \pm 6,03$	0,163 ^a
HbF (%)		$10,5 \pm 6,2$		$19,67 \pm 20,0$		$14,92 \pm 14,9$	0,169 ^b
HbF							
> 10%	5	41,7 %	7	63,6 %	12	52,2 %	
≤ 10%	7	58,3 %	4	36,4%	11	47,8 %	0,41 ^c

Fonte: próprio autor. Nota: variáveis contínuas em média \pm DP; Idade em anos e decimais; dose em mg/kg/dia; HU: hidroxiureia; DP: desvio padrão; ^a Teste T de Student; ^b Teste U de Mann-Whitney; ^c Teste Exato de Fisher; * $p < 0,05$ = significativo.

Gráfico 4 – Comparação do EZ do IGFBP3 ajustado para a idade óssea entre o grupo das crianças que utilizaram a hidroxiureia por < 1 ano (incluindo as que não utilizaram o medicamento) ou as que utilizaram por ≥ 1 ano



Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média \pm desvio padrão; EZ: escore Z; IO: idade óssea; IGF1; Insuline-like growth factor 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 binding proteins (proteínas ligantes de IGF1); EZ IGFBP3-IO: EZ IGFBP3 ajustado para a IO; * p significativo = 0,009 para o teste T de Student.

Quanto às crises álgicas no último ano (tabela 2), os pacientes foram divididos em grupos dos que apresentavam ou não os eventos e avaliados para a associação com o uso ou não de HU, bem como foi realizada a tentativa de incluir entre os não usuários de HU aqueles que utilizaram por menos de um ano ou menos de dois anos. As análises mostraram que não houve significância estatística em nenhuma das situações.

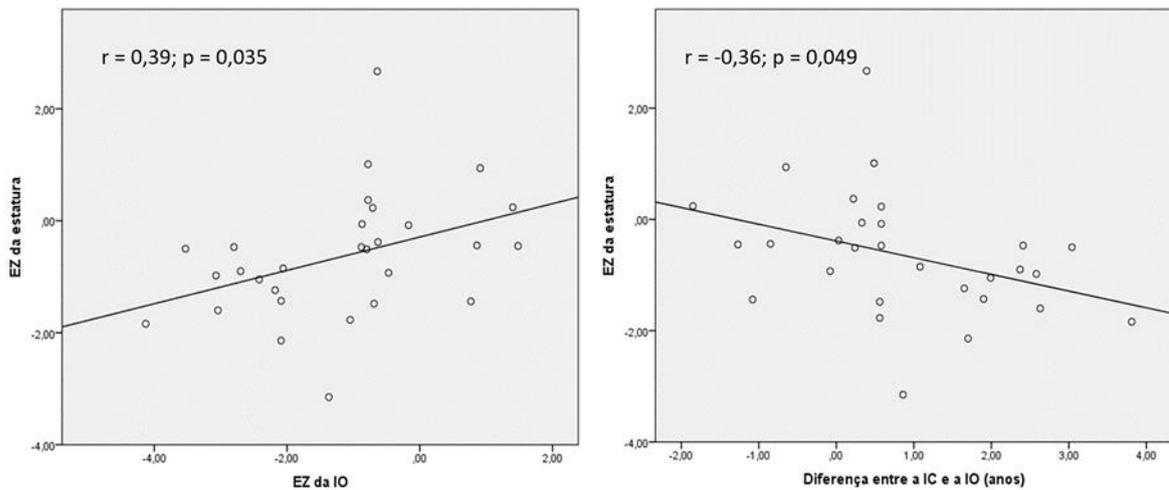
5.6 Correlação entre as variáveis

A Tabela 15 descreve as correlações de maior relevância encontradas no estudo, sejam elas avaliadas por testes paramétricos ou não paramétricos. Como pode-se observar, o CN apresentou correlação positiva e significativa ($r = 0,4$; $p = 0,024$) com o EZ da estatura. Uma compilação dos dados descritivos antropométricos relativos ao nascimento das crianças foi apresentada na Tabela 16, sendo que os dados daquelas com histórico de BPN é detalhado na Tabela 17. Quanto ao EZ médio da estatura dos pais, pode ser avaliado em 37 crianças, e apresentou correlação significativa com o EZ da estatura ($r = 0,37$; $p = 0,023$). Por sua vez, o EZ da estatura apresentou correlação significativa com o EZ da IO ($r = 0,39$; $p = 0,035$) e negativa com a diferença entre a IC e a IO (Gráfico 5). Já o EZ da IO, apresentou correlação positiva e significativa com o EZ IGFBP3-IC ($r = 0,49$; $p = 0,007$), enquanto a diferença entre a IC e a IO teve associação inversa com o EZ do IGFBP3 (Gráfico 6). Embora o EZ do IMC não tenha tido correlação com o EZ do IGFBP3 ajustado para IO ou IC, apresentou correlação significativa ($r = 0,34$; $p = 0,023$) com o EZ do IGF1. Tanto a avaliação da VC, quanto a representação em EZ não apresentaram correlação com nenhuma variável analisada, como os dados hematimétricos, bioquímicos ou antropométricos. Isso vale para os outros casos avaliados no DTC, como na ACM, ACI, ACP, artéria basilar e para a variável que selecionou o vaso com maior velocidade de FSC. Quanto à análise de correlação entre os resultados do DTC, houve associação significativa entre o FSC na ACA com a Hb e com o leucócito.

Embora o T4L (tiroxina livre) não tenha apresentado correlação significativa com nenhuma variável, o TSH (hormônio estimulante da tireoide, do inglês *Thyroid-stimulating hormone*) apresentou correlação negativa significativa com o EZ IGFBP3-

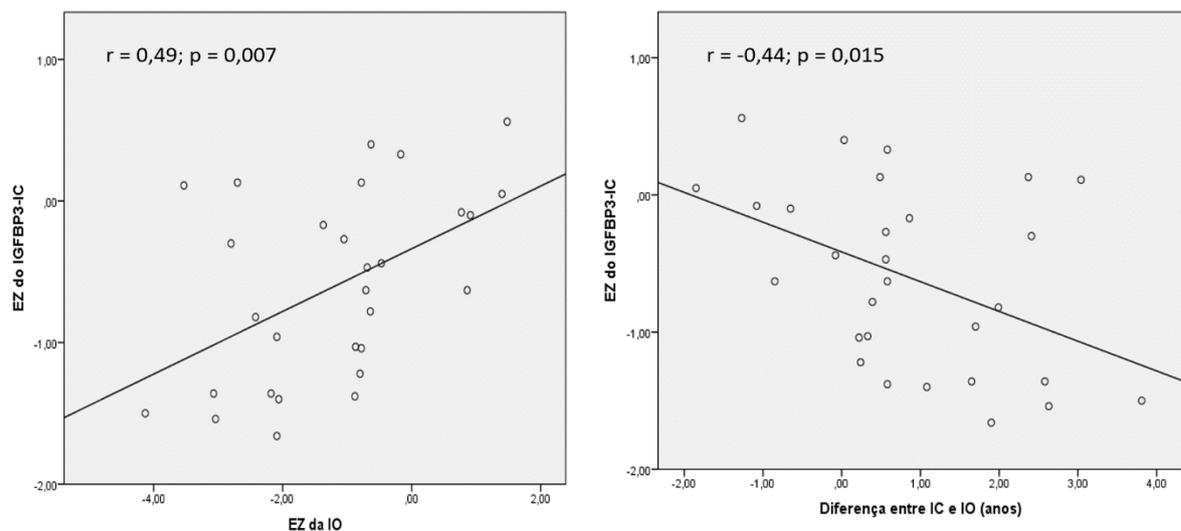
IO ($r = -0,48$; $p = 0,008$) e para a IC ($r = -0,41$; $p = 0,009$) e com o EZ do IGF1 ajustado para a IO (EZ IGF1-IO) ($r = -0,37$; $p = 0,041$).

Gráfico 5 – Correlação entre o EZ da estatura com o EZ da IO e com a diferença entre a idade cronológica e a idade óssea



Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IO: idade óssea; IC: idade cronológica; r: correlação pelo teste de Pearson, sendo que linha partindo do eixo Y expressa o ajuste dos valores; p significativo < 0,05.

Gráfico 6 – Correlação entre o EZ do IGFBP3-IC com o EZ da IO e com a diferença entre a idade cronológica e a idade óssea



Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IO: idade óssea; IC: idade cronológica; IGF1; Insuline-like growth factor 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 binding proteins (proteínas ligantes de IGF1); IGFBP3-IC: IGFBP3 ajustado para a IC; r: correlação pelo teste de Pearson, sendo que linha partindo do eixo Y expressa o ajuste dos valores; p significativo < 0,05.

Tabela 15 – Correlações entre diversos parâmetros das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

		Hb	Retic	HbF	LG	Seg	ACA	SpO2	EZ-E P - F	EZ estatura	EZ IGF1	EZ IGFBP3
Hb	R	1										
	p											
	n	39										
Retic	R	-0,30 ^b	1									
	p	0,06										
	n	39	39									
HbF	R	0,04 ^b	-0,47 ^b	1								
	p	0,018*	0,005*									
	n	34	34	34								
LG	R	-0,41 ^a	0,31 ^b	-0,51 ^b	1							
	p	0,008*	0,048*	0,002*								
	n	39	39	34	39							
Seg	R	-0,37 ^a	0,21 ^b	-0,44 ^b	0,848 ^a	1						
	p	0,019*	0,192	0,009*	0,000*							
	n	39	39	34	39	39						
ACA	R	-0,46 ^b	-0,002 ^b	0,24 ^b	0,39 ^b	0,28 ^b	1					
	p	0,006*	0,992	0,204	0,025*	0,107						
	n	33	33	28	33	33	33					
SpO2	R	0,316 ^a	-0,35 ^b	0,46 ^b	-0,06 ^a	-0,004 ^a	-0,20 ^b	1				
	p	0,089	0,530	0,020*	0,751	0,985	0,318					
	n	30	30	25	30	30	27	30				
EZ-E	R	0,08 ^b	0,04 ^b	-0,10 ^b	0,08 ^b	0,13 ^b	0,083 ^b	-0,167 ^b				
P - F	p	0,624	0,790	0,561	0,637	0,422	0,656	0,386				
	n	37	37	32	37	37	31	29				

Tabela 15 – continuação.

		Hb	Retic	HbF	LG	Seg	ACA	SpO2	EZ-E P - F	EZ estatura	EZ IGF1	EZ IGFBP3	IC-IO
EZ estatura	R	0,01 ^a	0,01 ^b	-0,09 ^b	-0,02 ^a	-0,04 ^a	0,02 ^b	0,08 ^a	-0,73 ^b	1			
	p	0,932	0,935	0,583	0,903	0,806	0,900	0,657	0,000*				
	n	39	39	34	39	39	33	30	37	39			
EZ IGF1	R	0,16 ^a	0,04 ^b	0,05 ^b	-0,13 ^a	-0,31 ^a	-0,02 ^b	0,13 ^a	-0,39 ^b	0,26 ^a	1		
	p	0,331	0,77	0,769	0,417	0,049*	0,904	0,471	0,016*	0,100			
	n	39	39	34	39	39	33	30	37	39	39		
EZ IGFBP3	R	0,19 ^a	0,03 ^b	0,05 ^b	-0,03 ^a	-0,03 ^a	-0,14 ^b	0,26 ^a	-0,38 ^b	0,24 ^a	0,44 ^a	1	
	p	0,244	0,816	0,769	0,848	0,848	0,425	0,165	0,020*	0,132	0,005*		
	n	39	39	34	39	39	33	30	37	39	39	39	
IC-IO	R	-0,28 ^a	0,10 ^b	-0,07 ^b	0,07 ^a	0,14 ^a	-0,01 ^b	0,39 ^a	0,43 ^b	-0,36 ^a	-0,26 ^a	-0,44 ^a	1
	p	0,131	0,54	0,714	0,715	0,462	0,877	0,070	0,023*	0,049*	0,169	0,015*	
	n	29	29	26	29	29	25	22	27	29	29	29	29
CN	R	-0,32 ^a	0,15 ^b	-0,18 ^b	-0,02 ^a	0,03 ^a	0,11 ^b	-0,26 ^a	-0,26 ^b	0,40 ^a	0,007 ^a	-0,56 ^a	0,03 ^a
	P	0,074	0,394	0,375	0,911	0,833	0,587	0,224	0,154	0,024*	0,970	0,765	0,876
	n	31	31	26	31	31	27	23	30	31	31	31	26
EZ VC	R	0,06 ^a	-0,08 ^b	0,06 ^b	0,01 ^a	0,07 ^a	0,13 ^b	-0,34 ^a	0,40 ^a	0,28 ^a	0,18 ^a	0,20 ^a	-0,23 ^a
	P	0,827	0,775	0,853	0,390	0,821	0,703	0,330	0,168	0,340	0,550	0,500	0,540
	n	13	3	11	13	13	11	10	13	13	13	13	9

Fonte: próprio autor. Nota: Hb: hemoglobina; Retic: reticulócito; HbF: hemoglobina fetal; LG: leucócitos globais; Seg: neutrófilos segmentados; ACA: velocidade do fluxo sanguíneo na artéria cerebral anterior medido pelo Doppler; SpO2: saturação periférica de oxigênio; EZ: escore Z; EZ-E P – F: subtração entre o EZ médio da estatura dos pais e o dos participantes; EZ estatura: EZ da estatura dos participantes; IGF1: Insuline-like growth fator 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 binding proteins (proteínas ligantes de IGF1); EZ IGF1: EZ do IGF-1 ajustado para a idade cronológica (IC); EZ IGFBP3: EZ do IGFBP-3 ajustado para a IC; IC – IO: diferença entre a IC e a idade óssea (IO); CN: comprimento nascimento; VC: velocidade de crescimento em cm/ano; R: resultado da correlação; ^a correlação medida pelo teste de Pearson; ^b correlação medida pelo teste de Spearman; p: significância estatística; n: número da amostra; * p < 0,05 (significativo).

Tabela 16 – Características antropométricas ao nascimento das crianças com anemia falciforme participantes do estudo

	Sexo					
	n	Masculino	n	Feminino	n	Total
BPN (n = 37)	1	5%	3	17%	4	11%
PIG (n = 29)	0	0	2	14%	2	7%
	Média ± DP		Média ± DP		Média ± DP	
PN (g)	20	3208 ± 463	17	2971 ± 570	37	3098 ± 521
CN (cm)	15	50 ± 2	16	46 ± 4	31	48 ± 4

Fonte: próprio autor. Nota: BPN: baixo peso ao nascimento; PIG: pequeno para a idade gestacional; PN: peso ao nascimento; CN: comprimento ao nascimento.

Tabela 17 – Características das quatro crianças com histórico de baixo peso ao nascimento entre as participantes do estudo

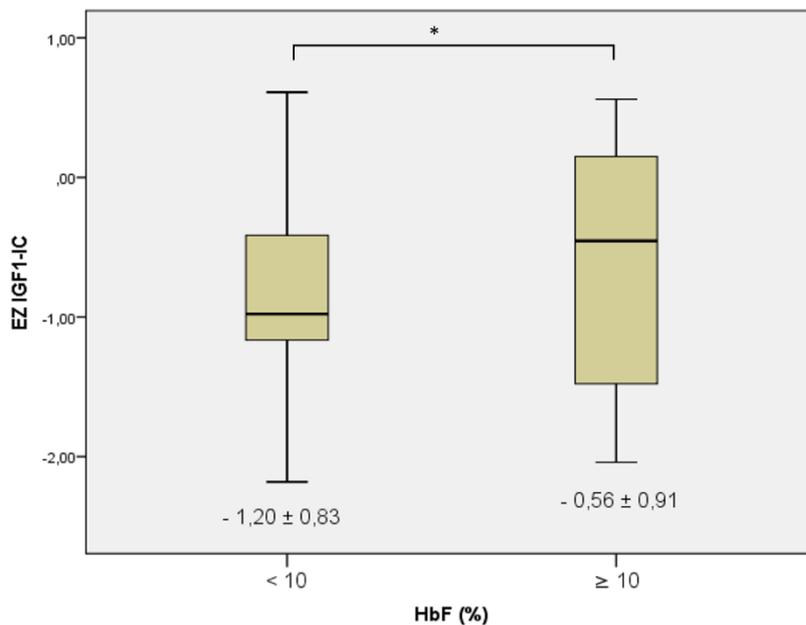
Paciente com BPN	1	2	3	4
Sexo	F	M	F	F
Uso de HU	não	sim	sim	não
PN	2480	1714	1560	2150
PIG	Não	Não	Sim	Sim
CN	47	Ø	35	39
EZ-estatura-pais	-1,73	Ø	-2,46	-0,65
EZ-estatura-IC	0,24	-0,85	-3,15	-3,17
EZ IMC	0,36	-0,3	-3,96	-0,2
IC (em anos)	10,15	6,08	9,69	8,59
Tanner (genitália ou mama)	2	1	1	1
IO (em anos)	12	5	8,83	Ø
EZ PEF-IO	3,94	-0,53	-2,81	Ø
EZ-IGF1-IC	-1,06	-0,92	-0,02	-2,23
EZ-IGF1-IO	-2,03	-0,92	-0,02	Ø
EZ-IGFBP3-IC	0,05	-1,4	-0,17	-1,06
EZ-IGFBP3-IO	-0,38	-1,71	0,41	Ø

Fonte: próprio autor. Nota: PN: peso ao nascimento; BPN: baixo peso ao nascimento, definido como PN menor que 2500 g; F: menino; M: masculino; HU: hidroxureia; PIG: pequeno para a idade gestacional; CN: comprimento ao nascimento; Ø: não avaliado ou não aplicável por ausência de dados; EZ: escore Z; IC: idade cronológica; IO: idade óssea; IMC: índice de massa corporal; EZ-estatura-pais: EZ médio da estatura dos pais; IGF1; Insuline-like growth fator 1 (fator de crescimento semelhante à insulina 1); IGFBP: IGF1 binding proteins (proteínas ligantes de IGF1); EZ-IGF1-IC: EZ do IGF1 ajustado para a IC; EZ-IGFBP3-IC: EZ do IGFBP3 ajustado para a IC; EZ-estatura-IC: EZ da estatura ajustado para IC; EZ-PEF-IO: EZ da previsão de estatura final ajustado para a IO.

5.7 Avaliações dos efeitos dos níveis de HbF e co-herança de alfa-talassemia

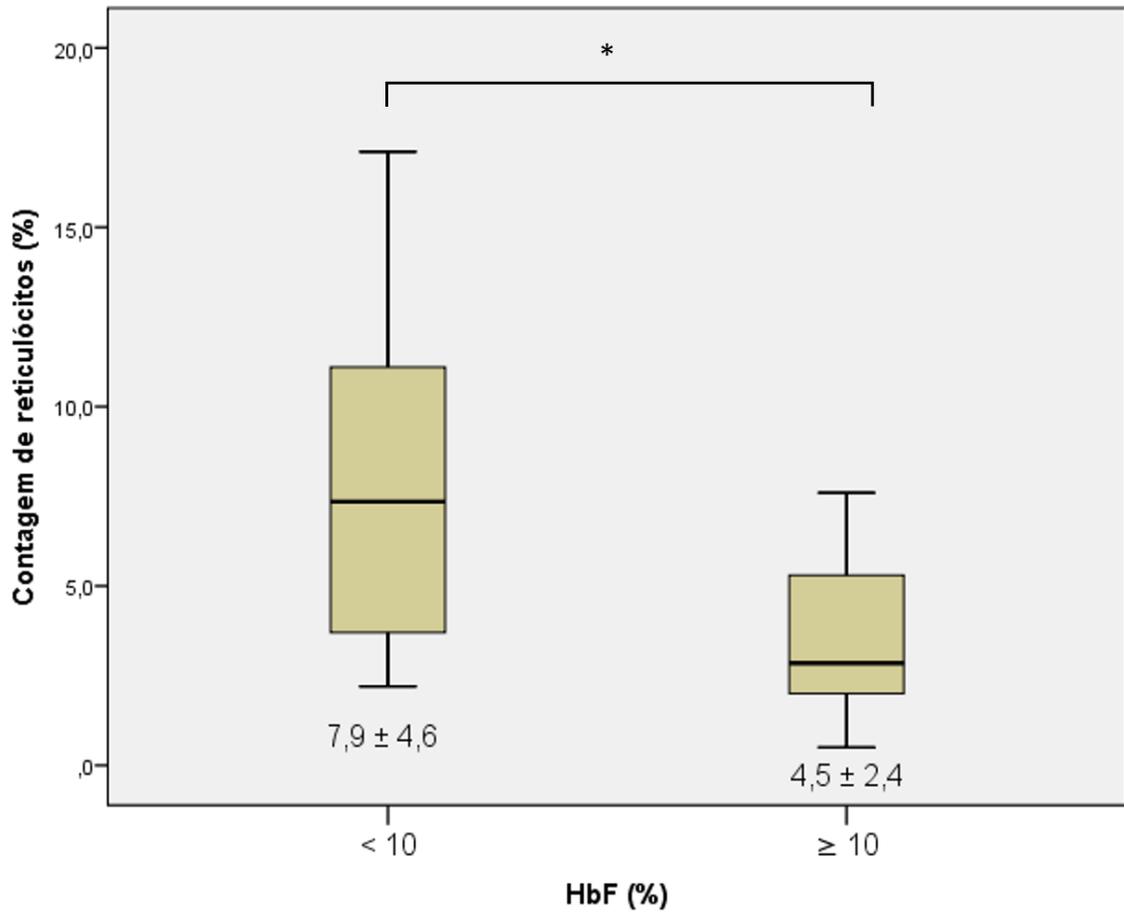
A população de crianças estudadas foi agrupada entre as que apresentaram HbF < 10% e as com HbF ≥ 10. Observou-se que a média do EZ IGF1-IC foi significativamente maior no grupo de crianças com níveis maiores de HbF quando comparado pelo teste T de Student (Gráfico 7). Adicionalmente, observamos maior média dos reticulócitos no grupo com menor valor de HbF (Gráfico 8) e maior SpO2 nos pacientes com níveis mais elevados de HbF (Gráfico 9).

Gráfico 7 – Diferença no EZ do IGF1 ajustado para a idade cronológica entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e com HbF ≥ 10%



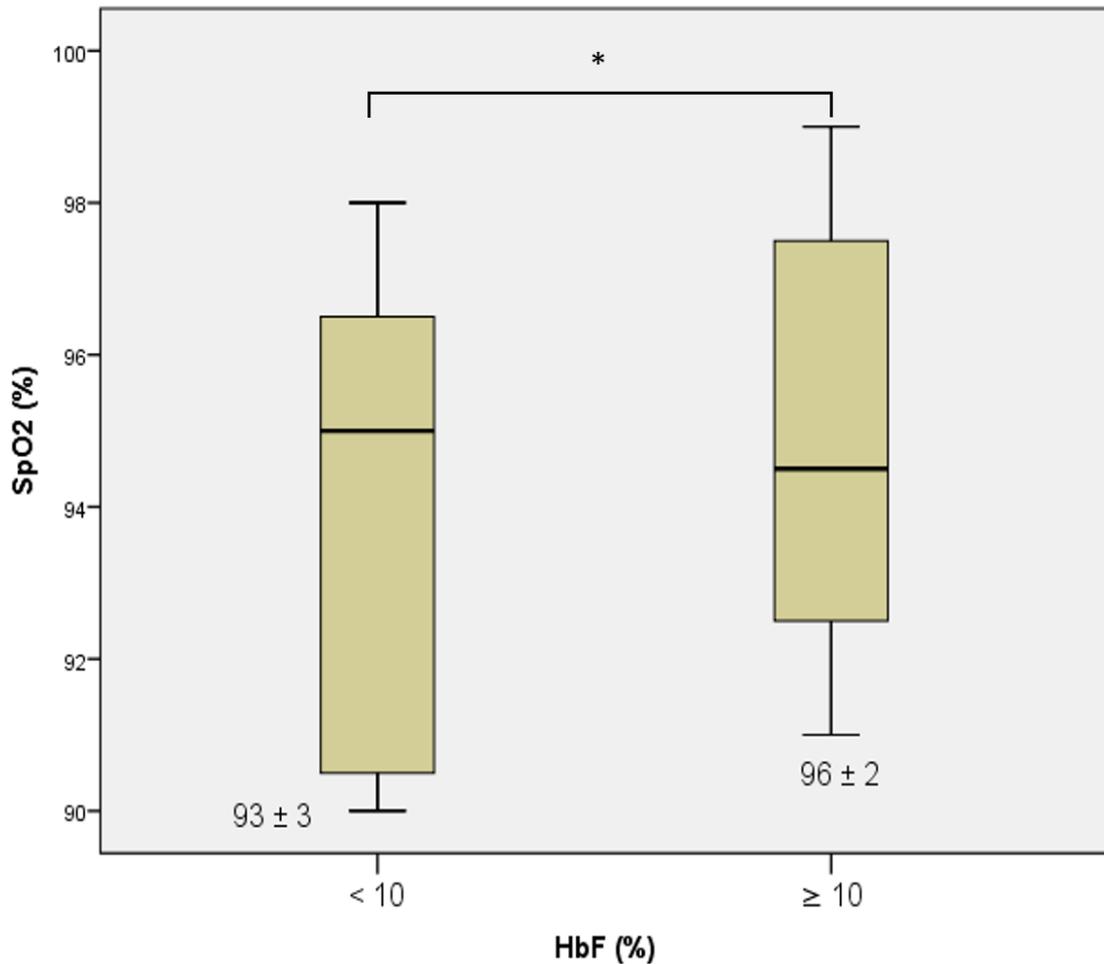
Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média ± desvio padrão; EZ: escore Z; IC: idade cronológica; EZ IGF1-IC: EZ IGF1 ajustado para a IC; HbF: hemoglobina fetal; * p significativo = 0,041 para o teste T de Student.

Gráfico 8 – Diferenças nos valores médios de reticulócitos entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e com HbF ≥ 10%



Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média ± desvio padrão; HbF: hemoglobina fetal; * p significativo = 0,017 para o teste T de Student.

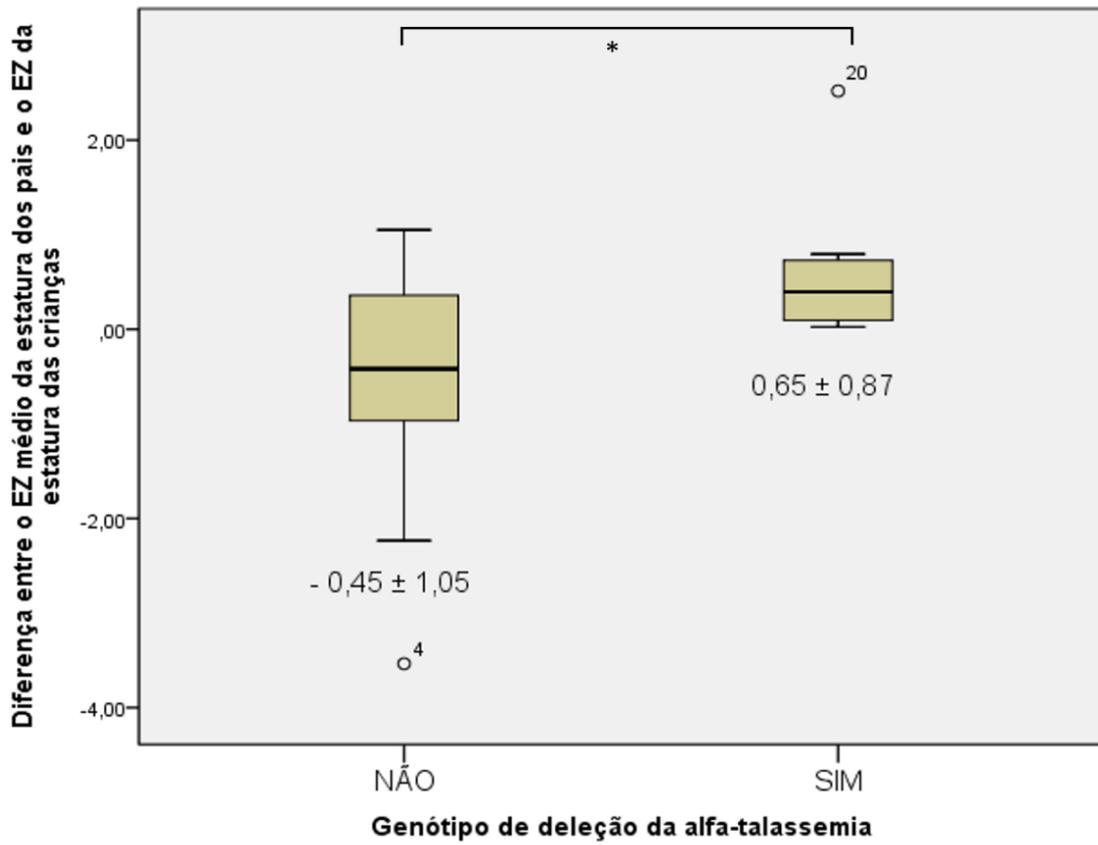
Gráfico 9 – Diferenças nos valores médios da SpO2 entre os grupos das crianças com valores de HbF < 10% e HbF ≥ 10%



Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média \pm desvio padrão; SpO2: saturação periférica de oxigênio obtida pelo oxímetro de pulso; HbF: hemoglobina fetal; * p significativo = 0,022 para o teste T de Student.

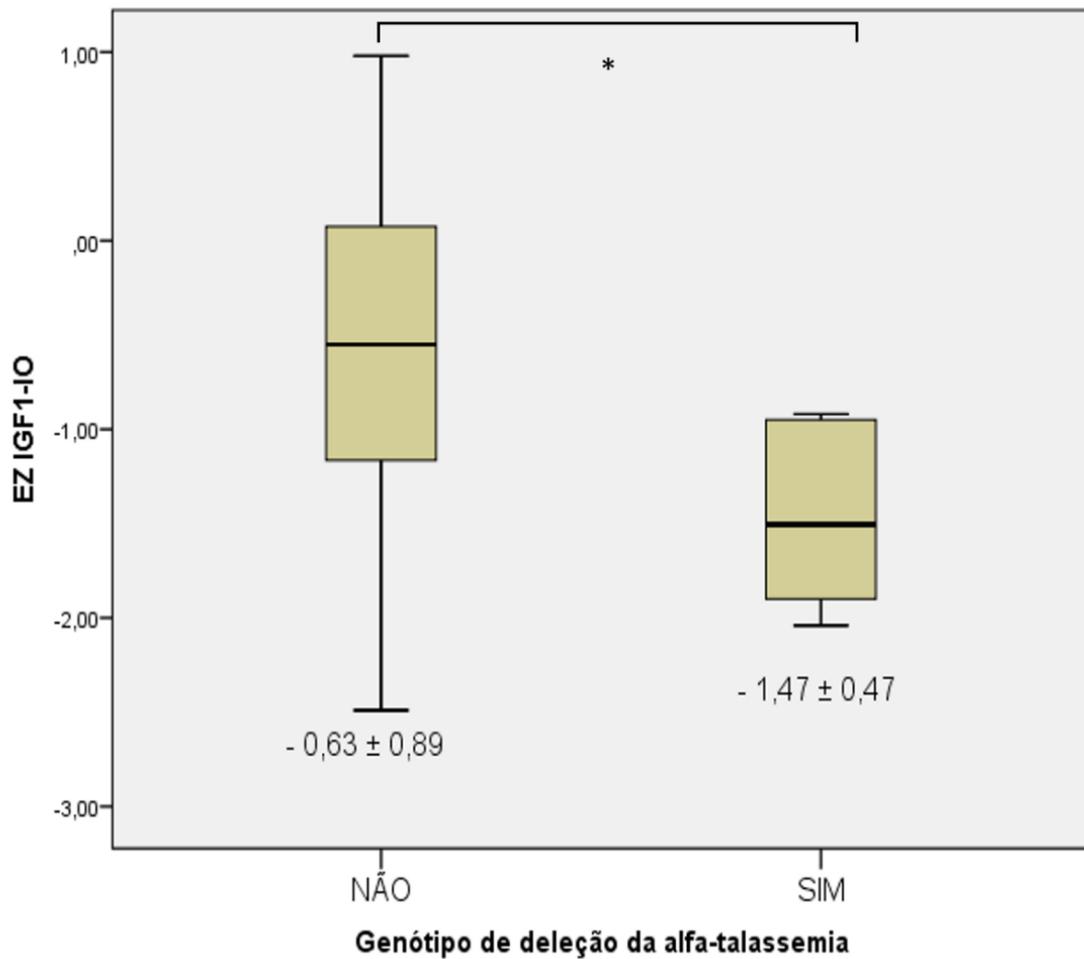
Quanto à co-herança de alfa-talassemia, a diferença do EZ Pais - Cç foi significativamente maior no grupo de crianças com o genótipo de alfa-talassemia (deleção α -3,7Kb) (Gráfico 10). Por outro lado, verificou-se que o EZ IGF1-IO foi significativamente maior no grupo de crianças sem alfa-talassemia (Gráfico 11). Quanto às complicações da AF mais frequentes, a STA não teve associação com a co-herança de alfa-talassemia ($p = 0,65$), o mesmo vale para o histórico de crise álgica que necessitou atendimento hospitalar no último ano ($p = 0,69$).

Gráfico 10 – Diferença entre o EZ médio da estatura dos pais e o EZ da estatura das crianças nos grupos com ou sem a co-herança de alfa-talassemia



Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média \pm desvio padrão; EZ: escore Z; * p significativo = 0,016 para o teste de U de Mann-Whitney.

Gráfico 11 – Diferença no EZ do IGF1 ajustado para a idade óssea das crianças nos grupos com ou sem co-herança de alfa-talassemia

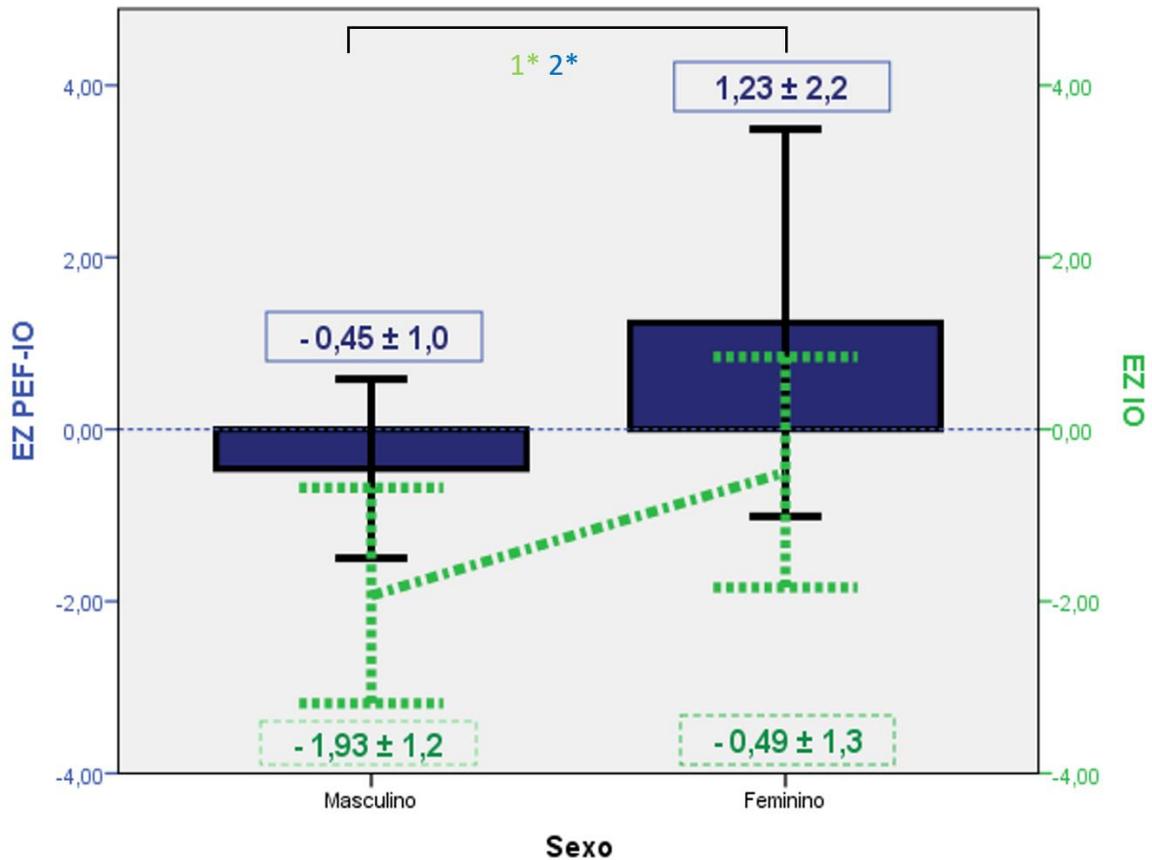


Fonte: próprio autor. Nota: os valores abaixo das caixas estão em média \pm desvio padrão; EZ: escore Z; IO: idade óssea; EZ IGF1-IO: EZ do IGF1 ajustado para a IO; * p significativo = 0,037 para o teste de T de Student.

5.8 Impacto do sexo na avaliação

Ao se comparar os dados hematimétricos, bioquímicos e antropométricos entre os sexos, obteve-se significância estatística para as variáveis: CN ($p = 0,005$; tabela 6), EZ da PEF-IO e para o EZ da IO (Gráfico 12).

Gráfico 12 – Comparação entre o EZ da PEF baseado na idade óssea e do EZ da idade óssea entre os sexos



Fonte: próprio autor. Nota: EZ: escore Z; IO: idade óssea; DP: desvio padrão; EZ PEF-IO: EZ da previsão de estatura final baseado na IO; as linhas contínuas se referem ao EZ da PEF-IO, enquanto as descontínuas representam o EZ IO; as barras estão em média ± DP; os valores abaixo (EZ IO) ou acima (EZ PEF-IO) das barras estão em média ± DP; 1* p significativo = 0,006 para o teste de T de Student; 2* p significativo = 0,01 para o teste de U de Mann-Whitney.

Por outro lado, dividindo a população por sexo e comparando-se novamente as variáveis contínuas descritas na Tabela 3 entre os pacientes que utilizavam ou não a HU, manteve-se a diferença significativa apenas para os leucócitos globais. Esses se mantiveram mais baixos no grupo que usa HU, tanto para o sexo masculino ($p = 0,007$) quanto para o feminino ($p = 0,005$).

Quando se avaliou a associação do sexo com os grupos relativos à coherência de alfa-talassemia, percentual de HbF menor ou maior que 10, histórico de crise álgica no último ano, histórico de STA, média do EZ da estatura dos pais menor que -2 DP e atraso na IO maior que um ano, não houve diferença significativa. No entanto, comparando-se o sexo com o grupo das crianças com EZ da PEF-IO menor

ou maior que zero, as crianças do sexo masculino mostraram pior previsão pelo teste de Fisher ($p = 0,0021$; RC = 0,11; intervalo de confiança = 0,018-0,685).

6 DISCUSSÃO

O estudo avaliou crescimento e parâmetros clínicos e laboratoriais associados ao desenvolvimento de 39 crianças com anemia falciforme acompanhadas no Hemocentro Regional de Governador Valadares. Na população estudada de crianças entre 3 e 12 anos foi detectada prevalência de BE de 10,3 %. No entanto, entre os pais das crianças que puderam ser avaliados a BE esteve presente em 14,4% (n = 11/76). A média do EZ da estatura foi semelhante nos usuários ou não da terapia com HU, nas dosagens e apresentações utilizadas, mas o valor do EZ do IGF1 ajustado para a IO foi significativamente maior nos pacientes que utilizaram HU por mais que um ano, comparado com os que não utilizaram ou utilizaram o medicamento por menos tempo. As diferenças no eixo GH/IGF1, estimadas pela dosagem de IGF1 e IGF1, também estiveram presentes quando os pacientes foram agrupados de acordo com a co-herança de alfa-talassemia, níveis de HbF, intensidade do atraso na IO, EZ do IMC e EZ da estatura.

A mortalidade na AF vem decrescendo progressivamente, justificada pela triagem neonatal, uso profilático de penicilina, imunizações e uso de HU (IUGHEpTI; BIGI; VENTURELLI, 2016). Quanto ao desfecho estatural, várias séries de crianças com AF sob uso de HU não relataram comprometimento (ZIMMERMAN *et al.*, 2004; HANKINS *et al.*, 2014; RANA *et al.*, 2014). Pesquisa mais recente na República Democrática do Congo de Lukusa Kazadi *et al.* (2017) mostrou uma prevalência de BE tão alta como 7,8% das crianças com AF, embora o critério utilizado para BE se baseou na estatura menor que o quinto percentil. No Brasil, Nogueira *et al.* (2015) avaliaram 191 crianças entre 2 e 6 anos em uma unidade de saúde na cidade de Salvador e identificaram BE, definida como EZ da estatura inferior a – 2 DP, em 5% delas, sendo que 1% apresentava EZ da estatura inferior a – 3 DP. Recentemente, Mandese *et al.* (2019) avaliaram na Itália uma população de 52 pacientes de 3 a 18 anos, 96% imigrantes africanos, e identificaram BE em 3,8%, sendo que 56% desses pacientes utilizavam HU por mais que um ano. Nossos resultados retratam uma prevalência de BE de 10,3%. em uma população onde 64,1% (n = 25) dos indivíduos utilizavam HU, sendo que 84% (n = 21) eram tratados há mais de um ano. Dessa série, 5,1% (n = 2) foram definidos com BE grave por apresentarem EZ da estatura menor que – 3 DP, sendo que a totalidade dessas crianças tinham histórico de ser

FIG. Nos países em desenvolvimento, 4 a 8% das crianças foram classificadas como FIG (SUHAG; BERGHELLA, 2013), sendo que 10 a 15% delas não recuperaram o crescimento e passaram a apresentar BE na infância (ROGOL; HAYDEN, 2014).

A avaliação do histórico do peso ao nascimento e do diagnóstico de FIG tiveram o objetivo de avaliar os possíveis fatores relacionados à estatura das crianças participantes, mas não houve a intenção de avaliar a infinidade de possíveis determinantes desse desfecho, sejam eles relacionados à criança ou à mãe. É bem conhecida a associação de recém-nascidos FIG com fatores maternos (doença hipertensiva específica da gravidez, tabagismo, malformação uterina, consumo de álcool, medicamentos, desnutrição, baixo peso e etc), patologias fetais (anormalidades cromossômicas, toxoplasmose, sífilis, varicela-zoster, parvovirus B19, rubéola, citomegalovírus, herpes e etc), fatores ambientais (alta altitude e variáveis socio-econômicas) (SUHAG; BERGHELLA, 2013; KAYEMBA-KAY'S *et al.*, 2019). Porém, não existe associação dessa condição com o fato da criança apresentar AF (STEVENS *et al.*, 1986; THOMAS *et al.*, 2000), já que o recém-nascido com AF se encontra protegido pelos altos níveis de HbF que se estabelecem até os 6 meses de idade (MEIER; FASANO; LEVETT, 2017). Apesar da frequência de recém-nascidos FIG encontrada em nossa população estar de acordo com dados relativos a países em desenvolvimento, a recuperação do crescimento não ocorreu em nenhuma, o que está muito acima da taxa de insucesso de 10 a 15% citada previamente. Embora os mecanismos relacionados à recuperação do crescimento em crianças FIG ainda não sejam completamente esclarecidos (DEODATI; CIANFARANI, 2018), os principais fatores estão relacionados a sua causa, sendo que a RCIU que aconteceu no primeiro trimestre de gravidez cursa mais frequentemente com ausência de recuperação do crescimento que aquelas em fases mais tardias da gestação (MURKI; SHARMA, 2014).

Embora a AF não esteja implicada entre os fatores determinantes da ausência da recuperação do crescimento (SUHAG; BERGHELLA, 2013; MURKI; SHARMA, 2014), dado que o prejuízo estatural na AF se estabelece com 2 anos de idade (PHEBUS; GLONINGER; MACIAK, 1984) e a recuperação acontece entre 1 e 3 anos de idade, sabe-se que fatores nutricionais e a homeostase das funções cardíacas, pulmonares, endócrinas e gastrointestinais são importantes nesse desfecho (KAYEMBA-KAY'S *et al.*, 2019). Como preditor da estatura adulta, o CN é mais importante que o peso ao nascimento (DEODATI; CIANFARANI, 2018), o que

tem sido referendado por variantes genéticas comuns que se associaram tanto com o CN como com a estatura adulta (VAN DER VALK *et al.*, 2015). O CN apresentou correlação moderada positiva e significativa tanto com o EZ da estatura como com o EZ da EA, enquanto o peso ao nascimento não estabeleceu significância estatística com tais variáveis, o que reforça a importância da estatura dos pais e do CN na estatura das crianças com AF. No entanto, tais conclusões devem ser vistas com ressalvas, dado que o CN foi obtido retrospectivamente através de documentos fornecidos pelas unidades de saúde ou declaração dos pais, não sendo possível obter a idade gestacional, necessária para o cálculo do DP da medida, pelos mesmos meios. Por esse mesmo motivo encontramos diferença no CN entre os sexos, dado que os recém-nascidos do sexo masculino são sabidamente maiores (SUHAG; BERGHELLA, 2013).

Com o objetivo de descrever melhor as duas únicas crianças representantes do grupo de participantes que apresentaram BE grave e histórico de ser PIG, foi apresentada a caracterização dessas crianças na Tabela 14 junto com as duas outras que também apresentaram baixo peso ao nascimento. Dentre essas características podemos destacar que a estatura dos pais do paciente com baixo peso e PIG de número três, cujo EZ médio dessa estatura é -2,46 DP, sugere que fatores genéticos possam estar contribuindo para esse fenótipo. A caracterização das outras duas crianças que não são PIG ilustra o que já é conhecido na literatura, o baixo peso ao nascimento não tem impacto na estatura das crianças quando ele é adequado para a idade gestacional (ROGOL; HAYDEN, 2014).

6.1 Influência da terapia com hidroxiureia no crescimento

Os resultados mostraram que a média do EZ da estatura do grupo que usa a HU não apresentou diferença significativa comparada ao grupo que não utilizava o medicamento, mesmo quando os pacientes que utilizavam a HU por menos de um ano ou menos de dois anos foram incluídos entre os que não faziam uso do medicamento. Tais resultados não são corroborados por publicações que mostraram efeito positivo da HU no crescimento (HANKINS *et al.*, 2005; RANA *et al.*, 2014). No entanto, nossos dados podem estar sendo falseados, dado que o estudo não foi controlado, e os protocolos para tratamento da AF com HU preveem o uso do

medicamento apenas para pacientes com complicações mais graves. Dessa forma, pacientes com maior possibilidade de ter a estatura afeta pela gravidade da AF seriam protegidos pelo medicamento, enquanto os demais teriam uma doença naturalmente mais branda e que não cursa com prejuízo estatural, como previsto por Quarmyne *et al.* (2017). Por outro lado, os efeitos da HU na estatura podem ser variáveis e demandarem mais de um ano de tratamento para serem percebidos (ZIMMERMAN *et al.*, 2004). A avaliação da VC era esperada como um instrumento capaz de identificar mais precocemente os efeitos da HU na estatura. No entanto, a avaliação da VC quanto aos grupos relativos ao uso da HU, bem como entre os demais grupos, e por meio da correlação com as diversas variáveis contínuas, não se obteve êxito em demonstrar qualquer significância estatística. Talvez a falha da VC em mostrar a importância da HU no crescimento ou sua relação com outras variáveis esteja relacionada ao número reduzido de pacientes que foram submetidos a esta análise, dado que apenas 13 pacientes foram reavaliados em 6 meses para o cálculo da VC. Outra possibilidade para não ter sido encontrada diferença significativa entre o grupo de crianças que utilizavam ou não a HU, pode estar relacionado ao tamanho amostral, dado que a média do EZ da estatura no grupo que utilizava a HU foi levemente superior.

Avaliando o grupo representado pelos pacientes que utilizavam HU, 64,1% (n = 25) da amostra, verificamos que a dose utilizada em mg/kg/dia foi de $18,98 \pm 6,03$ (variação de 6,7 a 32,1), sendo que 48% (n = 12) dos pacientes no grupo da HU utilizavam a forma de solução como apresentação. Os diversos protocolos para uso da HU recomendam uma dose inicial de 15 a 20 mg/kg/dia para ser titulada até atingir a dose máxima tolerada, que pode variar de 30 a 35 mg/kg/dia (RANA *et al.*, 2014; BRASIL, 2018). Recomenda-se que a monitorização do uso da HU seja feita por parâmetros clínicos e laboratoriais, sendo que a mielossupressão leve e transitória é o principal efeito adverso observado (ZIMMERMAN *et al.*, 2004). Quanto aos efeitos desejados, espera-se que ocorra diminuição na contagem de reticulócitos, leucócitos, neutrófilos e plaquetas, ao passo que a elevação da HbF representa o principal indicador de resposta, como consequência da sua grande associação com parâmetros clínicos e diminuição da mortalidade (MAIER-REDELSPERGER *et al.*, 1998; ZIMMERMAN *et al.*, 2004).

A resposta da HbF ao uso de HU pode ser medida por sua taxa de elevação ou por seu valor máximo alcançado. Maier-Redelsperger *et al.* (1998), se baseando

no fato da HbF máxima atingida seja mais relevante para os benefícios esperados, separaram arbitrariamente os pacientes em três grupos: os que a HbF máxima atingida foi menor que 10%, considerados não responsivos; os com HbF máxima entre 10 e 20%, considerados responsivos; e aqueles com HbF máxima acima de 20%, considerados muito responsivos. Essa subdivisão passou a ser seguida por outros autores (ZHU *et al.*, 2017), se baseando no fato da HbF iniciar sua proteção para a formação de polímeros com proporções de 10% e ter sua melhor proteção acima de 20% (CANNAS; POUTREL; THOMAS, 2017), que são os níveis associados a melhores desfechos clínicos e considerados como meta para o tratamento (ZIMMERMAN *et al.*, 2004; ZHU *et al.*, 2017). A dose de HU de 30 mg/kg/dia é bem tolerada pela maioria dos pacientes com AF, portanto recomendada como a mais eficaz na obtenção de resposta hematológica comparada a doses de 15 a 20 mg/kg/dia, embora sejam conhecidas as dificuldades dos países em desenvolvimento de atingir tais metas, dado que a monitorização regular da toxicidade do medicamento é mais difícil (HANKINS *et al.*, 2005; TSHILOLO *et al.*, 2018). Dessa forma, trabalhos em países em desenvolvimento têm mostrado que doses de HU variando de 15 a 20 mg/kg/dia foram capazes de diminuir muitas das complicações da doença e aumentar satisfatoriamente a HbF (STROUSE *et al.*, 2008; TSHILOLO *et al.*, 2018). No entanto, a grande maioria dos trabalhos descreve níveis de HbF superiores aos encontrados na série apresentada (MAIER-REDELSPERGER *et al.*, 1998; ZIMMERMAN *et al.*, 2004; HANKINS *et al.*, 2005; BELISÁRIO *et al.*, 2015). Em relação aos nossos resultados, comparando-se a média dos valores de HbF no grupo de usuários de HU ($14,92 \pm 14,9$) com a dos que não utilizavam ($12,88 \pm 8,6$), não houve diferença significativa. Entre os pacientes que utilizavam HU, 47,8% (n = 11) foram considerados não respondedores, definidos como tendo HbF menor que 10%. Outros estudos indicaram que pacientes classificados como não respondedores representavam 30% daqueles que utilizavam a HU (ZHU *et al.*, 2017). No entanto, trabalhos na faixa etária pediátrica não mostraram nenhum paciente nessa classificação, o que levou os autores a questionarem a existência de um grupo representado por pacientes que não respondem a esse tratamento, alegando se tratar apenas do uso do medicamento abaixo da dose máxima tolerada (HANKINS *et al.*, 2014). Analisando a possibilidade do uso da solução de HU como apresentação estar interferindo nos resultados, os pacientes que utilizavam HU foram agrupados quanto à idade, HbF, dose de HU e percentual de respondedores. No entanto, como houve diferença significativa da idade

entre os grupos, já que as crianças mais jovens utilizavam o medicamento em solução, não se pode tirar conclusões importantes, dado que as manifestações clínicas e exames laboratoriais também sofrem influência da idade (MCCAVID, 2012). Outro fator limitante a se levar em consideração se refere à quantificação da HbF, entre outros dados hematimétricos, pois tais dados foram extraídos do prontuário dos pacientes com uma tolerância temporal entre a data de realização do exame e a avaliação clínica de até um ano. Tal tolerância foi adotada devido às dificuldades técnicas em se ter exames mais frequentes dos pacientes, que muitas vezes não podem comparecer a todas as avaliações agendadas. Dessa forma, o tempo entre o início do uso de HU e a avaliação hematimétrica pode ter sido demasiadamente longo em alguns casos.

Levando-se em consideração a grande quantidade de pacientes classificados como não respondedores no grupo de pacientes que utilizavam HU, bem como a ausência de diferença significativa na dosagem de HbF entre os pacientes que utilizavam ou não o medicamento, pode-se inferir que a avaliação dos impactos que o uso de HU tem no eixo GH/IGF1 pode ter sido prejudicada pela menor eficácia do medicamento, supostamente relacionada à dose utilizada. No entanto, ao se incluir no grupo dos pacientes que não utilizavam a HU aqueles que usavam por tempo inferior a um ano ou inferior a dois anos, o EZ IGF1 se encontrou significativamente mais elevado no grupo que utilizava a HU por mais tempo, sugerindo que os benefícios do uso de HU no eixo GH/IGF1 possam necessitar do uso por tempo superior a um ano, embora a eficácia do uso da HU por menos de um ano já ter sido descrita (ZIMMERMAN *et al.*, 2004).

Apesar das diferenças entre os grupos relativos ao uso de HU não terem sido reveladoras, as análises de correlação foram expressivas para vários parâmetros utilizados como indicadores de gravidade na AF, como a correlação da Hb com os reticulócitos, HbF, leucócitos globais, segmentados e FSC na ACA, ou dos reticulócitos com a HbF, leucócitos globais e segmentados. Da mesma forma, os leucócitos globais apresentaram correlação moderada negativa com a dose de HU e positiva com a ferritina quando se retirou os não usuários de HU da população. Mesmo sendo previsível a associação do uso de HU e a diminuição dos leucócitos (HANKINS *et al.*, 2014), tal observação não vale para a ferritina, que neste caso não poderia ser associada à sobrecarga de ferro, dado que o IST não apresentou correlação semelhante (KOPERDANOVA; CULLIS, 2015).

Dos índices hematimétricos, apenas a CAN apresentou correlação com dados relativos ao eixo GH/IGF1, tendo tido correlação negativa fraca com o EZ do IGF1. Embora a correlação da CAN com o EZ IGF1 não seja surpreendente, dado que seus níveis acompanham os dos leucócitos, sendo considerados marcadores de gravidade na AF (BELISÁRIO *et al.*, 2018), tal associação não foi descrita em séries que avaliaram o eixo GH/IGF1 (STEVENS *et al.*, 1986). No entanto, a correlação negativa do CAN com a estatura e peso de crianças com DF foi descrita no estudo BABYHUG (RANA *et al.*, 2014), refletindo a associação da intensidade da inflamação com a estatura das crianças com a doença.

Quanto ao FSC, apesar do estudo STOP ter estimado os riscos associados aos resultados do DTC conforme os FSC na ACM e ACI (ADAMS *et al.*, 1998), as análises de correlação no presente estudo apresentaram significância apenas para a avaliação da ACA, que foi negativa fraca para os leucócitos e moderada para a Hb. Embora a extrapolação de tais dados no sentido de se valorizar o FSC na ACA não seja pertinente, principalmente ao se atentar ao fato que o vaso que apresentou maiores médias de FSC no presente estudo foi a ACM, a relação entre AVE, maior velocidade no FSC, menores níveis de Hb (DEBAUN; KIRKHAM, 2016) e maiores níveis de leucócitos (BELISÁRIO *et al.*, 2018) já é conhecida. Quanto à classificação de risco do DTC para AVE, apenas 3% (n = 1) das crianças foram classificadas como tendo alto risco, o que é inferior a outra série no estado de Minas Gerais que avaliou 386 crianças com AF de 4,5 a 14,5 anos, e encontrou prevalência de 8,3% (BELISÁRIO *et al.*, 2015). No entanto, se considerarmos todas as crianças que foram classificadas como tendo DTC anormal (FSC > 170 cm/s), 12,2% (n = 4) entrariam na classificação, o que tornaria os dados menos discrepantes.

Quanto à aderência terapêutica ao uso de HU entre os participantes da pesquisa, também estimaram-se índices diferentes de outros estudos, que descrevem a ausência de aderência terapêutica em 12% dos pacientes (ZIMMERMAN *et al.*, 2004). Apesar de nenhum dos pacientes que utilizavam a HU terem sido considerados não aderentes à terapêutica (definida como a utilização do medicamento em menos de 24 dias no mês), 28,6% (n = 4) dos pacientes ou seus responsáveis optaram por não utilizar o medicamento apesar da indicação médica. Tais particularidades na aderência ao uso do medicamento podem estar relacionadas às dificuldades relativas ao acesso ao medicamento em nosso meio, que é feito por meio de processo junto à

Secretaria Estadual de Saúde, o que envolve a apresentação de exames, relatório médicos e preenchimento de formulários (BRASIL, 2018).

6.2 Impactos do Eixo GH/IGF1 e da Hemoglobina fetal no crescimento das crianças com anemia falciforme

Os níveis plasmáticos de IGF1 e IGFBP3 estão relacionados à secreção de GH ou à sua sensibilidade periférica, sendo que vários fatores, incluindo os genéticos, contribuíram para os resultados encontrados (EDOUARD *et al.*, 2009). A desnutrição, o hipotireoidismo, o uso de altas doses de corticosteroides, a cirrose hepática, o diabetes mellitus tipo 1, as neoplasias e as doenças inflamatórias estão associados à redução de seus níveis, ao passo que a infância conduz a níveis progressivamente mais elevados de IGF1 e IGFBP3, com incremento adicional na puberdade (ELMLINGER *et al.*, 2004; EDOUARD *et al.*, 2009; GUPTA *et al.*, 2011). A utilização dos níveis ajustados por EZ para a idade, sexo e estágio da puberdade de Tanner contribuem para aumentar a acurácia da avaliação do IGF1 e IGFBP3 como forma de diagnóstico, sendo que o ajuste também para a IO supostamente adiciona valor ao método (GUPTA *et al.*, 2011). A dosagem plasmática de albumina é sugerida como outra estratégia para estimar o papel dos fatores nutricionais nos resultados (COLLETT-SOLBERG *et al.*, 2007). Em nossa amostra não houve diferença significativa na média dos valores encontrados de albumina entre os grupos relativos ao uso de HU.

Quanto ao EZ do IGF1 ajustados para a IO e IC, percebeu-se que os valores estão abaixo da referência em 10,3 % (n = 4) e 15,4% (n = 6), respectivamente. No entanto, o IGF1 ajustado para o estágio puberal de Tanner não se mostrou alterado, enquanto que para o IGFBP3 não se dispõe dos dados de referência necessários para o cálculo do EZ para esse tipo de ajuste. Embora a substituição da IC pela IO tenha sido sugerida como equivalente à análise por estágio puberal (LUBAN; LEIKIN; AUGUST, 1982; GUPTA *et al.*, 2011), este método carece de validação. Juul *et al.* (1994) ao avaliarem a dosagem plasmática de IGF1 em 877 crianças e adolescentes saudáveis concluíram sobre a importância de se ajustar os valores encontrados ao estágio de Tanner, em especial naquelas com o início da puberdade mais adiantado ou tardia, no sentido de auxiliar na diferenciação entre os

níveis baixos que podem ocorrer tanto no atraso no início da puberdade quanto na deficiência de GH. Apesar de não ter sido identificada correlação entre HbF, EZ da estatura ou EZ do IGF1, ao se agrupar as crianças entre as com EZ da estatura maior ou menor que -1 ou entre aquelas com HbF menor ou maior que 10%, observaram-se que o EZ IGF1-IC foi maior no grupo com maior estatura e no grupo com maior HbF. Quanto ao IMC, observaram-se apenas 5,1% de crianças com valores considerados baixos para a idade (EZ do IMC menor que - 2 DP), contrariando séries recentes que encontraram 9,6% de crianças com essa classificação (MANDESE *et al.*, 2019). Outro aspecto se refere à correlação significativa do EZ do IMC com o EZ do IGF1 encontrada em nossa população, contrariando algumas séries tanto com pacientes saudáveis (JUUL *et al.*, 1994) como com aqueles com AF (EDOUARD *et al.*, 2009), que não encontraram correlação entre tais variáveis. O EZ do IGF1 também apresentou maiores níveis entre crianças com EZ do IMC > -1, comparado às mais magras.

Em relação ao IGFBP3, esse apresentou o mesmo comportamento que o IGF1 em relação ao IMC, além de também ter apresentado correlação positiva moderada com o EZ do IGF1, o que é esperado, dado que o IGFBP3 é considerada uma proteína carreadora do IGF1, tendo esse tipo de correlação identificada em trabalhos que avaliaram a BE idiopática (KUMAR *et al.*, 2018). A diminuição dos níveis de IGF1 e IGBP3 na AF tem sido proposta como associada à isquemia hipofisária, que cursa com deficiência de GH, apesar do desfecho poder acontecer também na vigência de secreção normal de GH, como acontece por deficiência primária de IGF1 como consequência da aceleração do metabolismo na AF (SOLIMAN *et al.*, 2017; MANDESE *et al.*, 2019). Baseando-se na avaliação de pacientes com BE que não foram diagnosticados como deficientes de GH, sabe-se que os baixos níveis de IGF1 e IGFBP3 podem estar relacionados tanto com uma alteração mais discreta na secreção de GH, como com a diminuição parcial de sua sensibilidade periférica, como acontece nas deficiências nutricionais, na cirrose hepática, na insuficiência renal, no diabetes mellitus tipo 1, no hipotireoidismo e nas doenças agudas graves (EDOUARD *et al.*, 2009).

Do agrupamento dos pacientes com HbF menor ou maior que 10%, também identificamos que os reticulócitos encontravam mais elevados nos pacientes com menor HbF, enquanto a SpO₂, vista no oxímetro de pulso, se encontrava em menores níveis. Quanto à associação das variáveis, a SpO₂ também apresentou

correlação moderada com a HbF ($r = 0,46$; $p = 0,02$), reforçando o papel da HbF na diminuição das complicações na AF.

6.3 Parâmetros bioquímicos e suas interferências na estatura

Visando identificar fatores capazes de interferir no eixo GH/IGF1 ou no crescimento das crianças, foram realizadas análises bioquímicas. Nenhum paciente foi diagnosticado como tendo hipotireoidismo ou insuficiência renal. No entanto, o TSH apresentou correlação negativa moderada com os elementos do eixo GH/IGF1. A literatura é controversa quanto à associação dos hormônios tireoidianos com o eixo GH/IGF1, dado que tanto os hormônios tireoideanos podem aumentar a secreção ou a ação do GH, quanto os elementos do eixo GH/IGF1 podem afetar a função tireoidiana (TSENG *et al.*, 2019). Embora não tenha descrito a associação da função tireoidiana com o eixo GH/IGF1 na AF, Ozen *et al.* (2013) identificaram 6% de pacientes com AF em sua série com disfunção tireoidiana, seja primária ou secundária, e as associou com a sobrecarga de ferro em pacientes sob transfusões repetidas. Enquanto Akin *et al.* (2009) identificaram menores níveis de IGF1 em pacientes com hipotireoidismo subclínico sem AF, sugerindo que elevações discretas no TSH poderiam sinalizar um prejuízo na função tireoidiana capaz de comprometer o eixo GH/IGF1. Quanto à glicemia, apesar de não ter sido feita em jejum, pode-se afirmar que nenhum paciente foi diagnosticado como tendo diabetes mellitus.

Quanto ao cálcio, vários autores descrevem a sua deficiência em pacientes com AF (SMILEY; DAGOGO-JACK; UMPIERREZ, 2008; MANDESE *et al.*, 2019), tendo a redução dos seus níveis associados à diminuição da ingesta alimentar, que é comum em pacientes com AF, à deficiência de vitamina D, ao aumento da demanda nutricional (OZEN *et al.*, 2013; KELLY *et al.*, 2014; MANDESE *et al.*, 2019) ou à deficiência de magnésio (ELSHAL *et al.*, 2012). Na série apresentada, 23% ($n = 9$) das crianças possuíam níveis de cálcio sérico abaixo do valor de referência, sendo que ao ajustar o cálcio sérico para a dosagem de albumina a prevalência de deficiência se elevou para 76% ($n = 30$). No entanto, a dosagem do cálcio não teve qualquer associação com outros dados laboratoriais, antropométricos e clínicos. Outro fato a ser observado foi a ausência de alteração no fósforo plasmático ou na fosfatase alcalina, pois esta funciona como marcador de formação óssea. Adicionalmente, para

melhor esclarecimento da alta frequência de anormalidade no exame seria necessária a dosagem de vitamina D, paratormônio, magnésio, densitometria óssea e aspectos clínicos, entre outros (PRENTICE, 2013). Outro fator a ser considerado é a baixa acurácia das fórmulas para ajuste do cálcio de acordo com a albumina (LIAN; ÅSBERG, 2018), devendo-se recorrer à dosagem do cálcio iônico para melhor definição da anormalidade.

6.4 Comparação da estatura das crianças com anemia falciforme com a estatura dos pais

A Dif. EZ Pais - Cç é uma medida muito utilizada para avaliar o déficit estatural das crianças em relação aos pais (GRIMBERG *et al.*, 2016; MANDESE *et al.*, 2019). No entanto, a média do EZ da estatura dos pais foi menor que a das crianças com AF, sendo que a diferença entre as duas medidas foi de $-0,24 \pm 1,1$, e a prevalência de BE entre os pais foi de 14,4%. Desses dados, podemos supor que as crianças com AF se encontravam em vantagem estatural comparada a seus pais. No entanto, agrupando os participantes entre aqueles que o EZ da PEF-IO menor que -1 e os demais, ou entre os com EZ da estatura menor que -1 e os demais, percebeu-se que a diferença do EZ Pais - Cç era maior entre aqueles com menor previsão estatural e menor estatura. Isso sugere que as crianças mais baixas com AF apresentavam maior déficit estatural comparado aos pais, como também demonstrado por Collett-Solberg *et al.* (2007). A diferença do EZ Pais - Cç também tem sido proposta como uma estratégia adicional para diferenciar crianças com BEF das que poderiam apresentar alguma doença comprometendo a estatura, sendo que o ponto de corte para esta diferença sugestivo de anormalidade seria o nível acima de 2 DP, inferindo-se uma sensibilidade de 59% (OOSTDIJK *et al.*, 2009), o que aconteceu em 2,5% de nossa população, reforçando a possibilidade de uma parcela de indivíduos cuja estatura esteja sendo comprometida. Adicionalmente, tanto o EZ IGF1-IC quanto o EZ IGFBP3-IC apresentaram correlação significativa negativa fraca com a diferença EZ Pais - Cç, sugerindo a possibilidade de participação do eixo GH/IGF1 no maior ganho estatural das crianças com AF em relação a seus pais.

6.5 Efeito da co-herança de alfa-talassemia sobre a estatura das crianças com anemia falciforme

Semelhante ao descrito na literatura (BELISÁRIO *et al.*, 2010b), a prevalência de co-herança de alfa-talassemia (deleção – $\alpha^{3.7Kb}$ de um gene *HBA*) foi de 20,5%. Embora não tenha verificado diferença estatística entre o histórico de STA, relato de crise álgica no último ano ou no EZ da estatura entre as crianças com ou sem alfa-talassemia, a Dif. EZ Pais - Cç foi maior nas crianças com alfa-talassemia do tipo – $\alpha^{3.7Kb}$. Quanto ao EZ IGF1-IO, esse foi significativamente maior nas crianças sem o genótipo de deleção, sugerindo um maior comprometimento do eixo GH/IGF1 nas crianças com AF em relação a seus pais naquelas que apresentavam co-herança da alfa-talassemia, o que também pode estar repercutindo sobre a estatura. Luporini *et al.* (2001) avaliaram em uma unidade hospitalar no estado de São Paulo – Brasil 41 crianças com AF, sendo que 24% (n = 10) apresentavam co-herança de alfa-talassemia, apesar de não ter encontrado diferença nos dados relativos à estatura, o EZ do IGF1 e o EZ do IGF1BP3 foi significativamente menor no grupo com alguma deleção no gene da α -globina. Singhal *et al.* (1996) também não identificaram efeito significativo da alfa-talassemia sobre o crescimento das crianças Jamaicanas com AF, embora a ausência de dados relativos à estatura dos pais impossibilitou avaliação semelhante. A co-herança de alfa-talassemia cursa com menor estresse oxidativo, hemólise, deformabilidade e fragilidade das hemácias, determinando um efeito protetor contra a DCV, colelitíase, úlceras de membros inferiores, STA e insuficiência renal crônica. No entanto, a diminuição da taxa de hemólise determina uma maior viscosidade plasmática, o que leva tais pacientes a apresentarem um maior risco de osteonecrose e CVO (GUEYE TALL *et al.*, 2019). Embora não tenha avaliado a presença de co-herança de alfa-talassemia, Soliman *et al.* (1995) associou a presença de BE em indivíduos com AF à deficiência de GH, tendo suposto que tais efeitos se deviam a uma ou mais CVO acometendo a hipófise.

6.6 Maturação óssea na anemia falciforme

Por meio da diferença entre IC e IO ou com o cálculo do EZ da IO pode-se estimar o atraso na IO das crianças com AF. Ao se comparar o grupo de crianças com

menos de 7 anos com as demais, não houve diferença significativa, apesar de alguns autores sugerirem um atraso progressivo da IO a partir dos 3 anos (LUPORINI *et al.*, 2001). Por se tratar de uma série com predomínio de crianças que ainda não iniciaram a puberdade, quando ocorre a maior desaceleração na maturação óssea comparado às crianças normais, o atraso na IO encontrado (0,85 anos ou 10 meses) foi ligeiramente menor que o descrito na literatura, que geralmente é superior a um ano (STEVENS *et al.*, 1986; LUPORINI *et al.*, 2001). A associação do IGF1 com a maturidade óssea é conhecida em crianças sem AF, tendo a dosagem desse hormônio correlacionada com a IO de crianças com BE sem deficiência de GH (EDOUARD *et al.*, 2009). Apesar da correlação do EZ da IO com o EZ do IGF1 não ter sido significativa em nossa população, o EZ IGFBP3-IC apresentou correlação significativa positiva com o EZ da IO e negativa com a diferença entre a IC e a IO, ou seja, menores níveis plasmáticos de IGFBP3 se correlacionaram com maior atraso na IO, seja ele estimado por meio do EZ ou pela comparação com a IC da própria criança. Ao associar a VC aos níveis de IGFB3 e a estatura aos níveis de IGF1, Kumar *et al.* (2018) interpretaram como se o IGFBP3 fosse determinante do potencial de crescimento e o IGF1 da estatura atual. Embora o IGF1 em nossa amostra não tenha tido correlação com o EZ da estatura, o EZ do IGFBP3 mostrou correlação com o atraso da IO, que é sabidamente descrita como indicador de maior potencial de crescimento (THODBERG *et al.*, 2009). Quanto ao EZ da estatura, esse apresentou correlação negativa com a diferença entre IC e IO, sugerindo que, quanto menor for a estatura maior é o atraso na IO. Stevens *et al.* (1986) ao correlacionar a estatura à IO sugeriram que o atraso na IO deveria ser proporcional ao prejuízo na estatura para que ocorresse uma adequada recuperação do crescimento. Na nossa população também foi identificada correlação positiva entre o atraso na IO e a Dif. EZ Pais - Cç, respaldando a associação do prejuízo estatural na AF com o atraso na IO, onde as crianças com menor estatura em relação aos pais também seriam as com maior atraso na IO. A associação do menor IMC com atraso no início da puberdade e o atraso da IO é bem conhecida, tanto na população saudável como em pacientes com AF (PLATT; ROSENSTOCK; ESPELAND, 1984), sendo que o nosso trabalho mostrou que o EZ da IO é menor nas crianças com menor IMC, quando se compararam os grupos com EZ do IMC maior ou menor que -1.

Utilizando-se da PEF-IO para estimar as diferenças entre o prognóstico estatural das crianças do sexo feminino e as do sexo masculino, foi observado que as

meninas apresentaram maior EZ da IO e maior EZ da PEF-IO que os meninos, apesar do EZ da estatura dos pais e os dados antropométricos e laboratoriais das crianças não ter mostrado diferença significativa entre os sexos. Os melhores resultados estaturais das crianças do sexo feminino com AF já foram descritos, embora as causas não tenham sido esclarecidas (PHEBUS; GLONINGER; MACIAK, 1984; ALVES; BRAID, 2011). Outra possibilidade para a disparidade relativa ao EZ da PEF-IO entre os sexo estaria relacionada à diferença entre a acurácia dos métodos de PEF-IO entre homens e mulheres, já que a maior parte dos métodos tem acurácia ligeiramente melhor nas mulheres (BRÄMSWIG *et al.*, 1990; THODBERG *et al.*, 2009), e a PEF-IO dos meninos avaliados pode ter sido subestimada.

6.7 Limitações do estudo

As principais limitações do estudo estão relacionadas ao tamanho da amostra, à ausência de grupo controle e ao fato da pesquisa ter se desenvolvido em um único centro. Adicionalmente, a Dif. EZ Pais - Cç com AF foi muito representativa da variabilidade estatural da população pesquisada, apesar da avaliação da estatura de ambos os pais não ter sido feita para todos os pacientes, dado que a maioria das crianças não são acompanhadas pelo pai e pela mãe nas consultas. No entanto, o EZ da estatura das crianças apresentou correlação com o EZ médio da estatura dos pais, o que demonstra em parte a confiabilidade das informações prestadas relativas à estatura dos pais ausentes na consulta.

7 CONCLUSÃO

Apesar do estudo não ter identificado diferença na estatura das crianças com AF quando divididas em grupos relativos ao uso de HU, obteve-se êxito em reafirmar o comprometimento estatural dessas crianças quando comparadas à referência populacional (OMS, 2007). Por outro lado, quando foi utilizada a estatura dos pais como referência, a estatura média da população avaliada não se mostrou prejudicada, embora a parcela mais baixa dessas crianças com AF demandaria mais atenção, dado que seu potencial de crescimento ajustado para o alvo genético estaria prejudicado se comparado às crianças com AF mais altas. Quanto aos possíveis fatores relacionados a tais alterações no crescimento das crianças com AF, o eixo GH/IGF1 figurou como o principal. Os possíveis fatores associados à menor eficácia do eixo na pesquisa são a co-herança de alfa-talassemia, menor proporção de HbF, maiores níveis de TSH, menor IMC, maior atraso na IO e o uso de HU por menos que um ano.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMS, R. J. *et al.* Prevention of a First Stroke by Transfusions in Children with Sickle Cell Anemia and Abnormal Results on Transcranial Doppler Ultrasonography. **New England Journal of Medicine**, v. 339, n. 1, p. 5–11, 2 jul. 1998.
- AKIN, F. *et al.* Growth hormone/insulin-like growth factor axis in patients with subclinical thyroid dysfunction. **Growth Hormone & IGF Research**, v. 19, n. 3, p. 252–255, 1 jun. 2009.
- AL-SAQLADI, A.-W. M. *et al.* Growth and nutritional status of children with homozygous sickle cell disease. **Annals of Tropical Paediatrics**, v. 28, n. 3, p. 165–189, 18 set. 2008.
- 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**, v. 30, n. 4, p. 287–298, 1 dez. 2010.
- ALVES, C.; BRAID, Z. Endocrine Disorders in Sickle-Cell Disease. **Current Pediatric Reviews**, v. 7, n. 1, p. 68–72, 18 abr. 2011.
- 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**, v. 27, n. 11, p. 2897–2904, 1 nov. 2018.
- ANDRADE, A. C.; JEE, Y. H.; NILSSON, O. New Genetic Diagnoses of Short Stature Provide Insights into Local Regulation of Childhood Growth. **Horm Res Paediatr**, v. 88, n. 1, p. 22–37, 2017.
- ARDUINI, G. A. O.; RODRIGUES, L. P.; TROVÓ DE MARQUI, A. B. Mortality by sickle cell disease in Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 39, n. 1, p. 52–56, 21 out. 2017.
- BANDEIRA, F. M. G. C. *et al.* Hydroxyurea in sickle cell disease patients in Recife, Brazil. **Rev. bras. hematol. hemoter**, v. 26, n. 381, p. 189–194, 2004.
- BATTERSBY, A. J.; KNOX-MACAULAY, H. H. M.; CARROL, E. D. Susceptibility to invasive bacterial infections in children with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 55, n. 3, p. 401–406, 15 mar. 2010.
- BAUMGARTNER, R. N.; ROCHE, A. F.; HIMES, J. H. Incremental growth tables: supplementary to previously published charts. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 43, n. 5, p. 711–722, 1 maio 1986.
- BAYLEY, N.; PINNEAU, S. R. Tables for predicting adult height from skeletal age: revised for use with the Greulich-Pyle hand standards. **The Journal of pediatrics**, v. 40, n. 4, p. 423–41, abr. 1952.
- BELISÁRIO, A. R. *et al.* β -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**, v. 124, n. 3, p. 162–170, 2010a.
- BELISÁRIO, A. R. *et al.* Coinheritance of α -Thalassemia Decreases the Risk of

Cerebrovascular Disease in a Cohort of Children with Sickle Cell Anemia. **Hemoglobin**, v. 34, n. 6, p. 516–529, 15 dez. 2010b.

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**, v. 54, n. 1, p. 44–50, jan. 2015.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* The Natural History of Hb S/Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin in 13 Children from the State of Minas Gerais, Brazil. **Hemoglobin**, 2016.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Genetic, laboratory and clinical risk factors in the development of overt ischemic stroke in children with sickle cell disease. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 40, n. 2, p. 166–181, 1 abr. 2018.

BELISÁRIO, A. R. *et al.* Evidence for interactions between inflammatory markers and renin-angiotensin system molecules in the occurrence of albuminuria in children with sickle cell anemia. **Cytokine**, v. 125, p. 154800, 1 jan. 2020.

BELISÁRIO AR, V. M. Efeitos da Talassemia Alfa nas manifestações clínicas e hematológicas da Anemia Falciforme: uma revisão sistemática. **Rev. Med. Minas Gerais**, v. 21, 3 jun. 2012.

BERST, M. J. *et al.* Effect of Knowledge of Chronologic Age on the Variability of Pediatric Bone Age Determined Using the Greulich and Pyle Standards. **American Journal of Roentgenology**, v. 176, n. 2, p. 507–510, fev. 2001.

BRÄMSWIG, J. H. *et al.* Adult height in boys and girls with untreated short stature and constitutional delay of growth and puberty: accuracy of five different methods of height prediction. **The Journal of pediatrics**, v. 117, n. 6, p. 886–91, dez. 1990.

BRASIL. **Relatório nº 57 Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC)**. Disponível em:

<http://conitec.gov.br/images/Incorporados/Hidroxiureia-final.pdf>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **PORTARIA Nº 55, DE 29 DE JANEIRO DE 2010. PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS -DOENÇA FALCIFORME**. Disponível em:

http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2010/prt0055_29_01_2010.html.

Acesso em: 27 jul. 2017.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Orientações para coleta e análise de dados antropométricos em serviços de saúde: norma técnica do sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional - SISVAN**. Disponível em:

http://dab.saude.gov.br/portaldab/biblioteca.php?conteudo=publicacoes/orientacoes_coleta_analise_dados_antropometricos. Acesso em: 31 jul. 2017.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos. Portaria Conjunta nº 05, de 19 de fevereiro de 2018. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme**. Disponível em: <http://portalmms.saude.gov.br/protocolos-e-diretrizes>. Acesso em: 21 fev. 2019.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, p. 204–206, 2007.

CANNAS, G.; POUTREL, S.; THOMAS, X. Hydroxycarbamine: From an old drug

used in malignant hemopathies to a current standard in sickle cell disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, 2017.

CHAN, Y. *et al.* Common Variants Show Predicted Polygenic Effects on Height in the Tails of the Distribution, Except in Extremely Short Individuals. **PLOS Genetics**, v. 7, n. 12, p. e1002439, 29 dez. 2011.

CHAN, Y. *et al.* Genome-wide Analysis of Body Proportion Classifies Height-Associated Variants by Mechanism of Action and Implicates Genes Important for Skeletal Development. **The American Journal of Human Genetics**, v. 96, n. 5, p. 695–708, maio 2015.

CHARACHE, S. *et al.* Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 332, n. 20, p. 1317–1322, 18 maio 1995.

CIPOLOTTI, R. *et al.* Childhood and adolescent growth of patients with sickle cell disease in Aracaju, Sergipe, north-east Brazil. **Annals of Tropical Paediatrics**, v. 20, n. 2, p. 109–113, 13 jun. 2000.

COLLETT-SOLBERG, P. F. *et al.* Short Stature in Children with Sickle Cell Anemia Correlates with Alterations in the IGF-I Axis. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 20, n. 2, p. 211–218, jan. 2007.

COX, S. E. *et al.* Haptoglobin, alpha-thalassaemia and glucose-6-phosphate dehydrogenase polymorphisms and risk of abnormal transcranial Doppler among patients with sickle cell anaemia in Tanzania. **British Journal of Haematology**, v. 165, n. 5, p. 699–706, 1 jun. 2014.

DE ONIS, M. *et al.* Development of a WHO growth reference for school-aged children and adolescents. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 85, n. 9, p. 660–7, set. 2007.

DEBAUN, M. R.; KIRKHAM, F. J. Central nervous system complications and management in sickle cell disease. **Blood**, v. 127, n. 7, p. 829 LP – 838, 18 fev. 2016.

DEMIR, K. *et al.* A Comprehensive Online Calculator for Pediatric Endocrinologists: ÇEDD Çözüm/TPEDS Metrics. **Journal of clinical research in pediatric endocrinology**, v. 9, n. 2, p. 182–184, jun. 2017.

DEODATI, A.; CIANFARANI, S. The Rationale for Growth Hormone Therapy in Children with Short Stature. **Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology**, v. 9, n. Suppl 2, p. 23–32, 15 jan. 2018.

DOMINGOS, I. F. *et al.* Influence of the β s haplotype and α -thalassemia on stroke development in a Brazilian population with sickle cell anaemia. **Annals of Hematology**, v. 93, n. 7, p. 1123–1129, jul. 2014.

EDOUARD, T. *et al.* Prevalence of IGF1 Deficiency in Prepubertal Children with Isolated Short Stature. **European Journal of Endocrinology**, v. 161, n. 1, p. 43–50, 2009.

ELMLINGER, M. W. *et al.* Reference ranges for two automated chemiluminescent assays for serum insulin-like growth factor I (IGF-I) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3). **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 42, n. 6, p. 654–64, 7 jan. 2004.

- ELSHAL, M. F. *et al.* The Association of Bone Mineral Density and Parathyroid Hormone with Serum Magnesium in Adult Patients with Sickle-Cell Anaemia. **Archives of medical science : AMS**, v. 8, n. 2, p. 270–276, 9 maio 2012.
- ESEZOBOR, C. I. *et al.* Wasting and Stunting Are Still Prevalent in Children with Sickle Cell Anaemia in Lagos, Nigeria. **Ital J Pediatr**, v. 42, n. 1, p. 45, 2016.
- FERNANDES, A. P. P. C. *et al.* Mortalidade de crianças com doença falciforme: um estudo de base populacional. **Jornal de Pediatria**, v. 86, p. 279–284, 2010.
- FUNG, E. B. *et al.* Increased Prevalence of Iron-Overload Associated Endocrinopathy in Thalassaemia versus Sickle-Cell Disease. **Br J Haematol**, v. 135, n. 4, p. 574–582, nov. 2006.
- FUQUA, J. S. *et al.* Identification of a Novel Heterozygous IGF1 Splicing Mutation in a Large Kindred with Familial Short Stature. **Horm Res Paediatr**, v. 78, n. 1, p. 59–66, 2012.
- GHAFFURI, D. L. *et al.* Secondary Benefit of Maintaining Normal Transcranial Doppler Velocities When Using Hydroxyurea for Prevention of Severe Sickle Cell Anemia. **Pediatr Blood Cancer**, v. 64, n. 7, 2017.
- GILL, F. M. *et al.* Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. **Blood**, v. 86, n. 2, p. 776–83, 15 jul. 1995.
- GOMES, L. M. X. *et al.* Effectiveness of an educational programme about sickle cell disease in the form of active methodologies among community health agents and nursing technicians of primary care in Minas Gerais, Brazil. **Paediatrics and International Child Health**, v. 37, n. 1, p. 56–62, 2017.
- GREULICH, W. W.; PYLE, S. I. **Radiographic atlas of skeletal development of the hand and wrist**. Stanford: Stanford University Press, 1959.
- GRIMBERG, A. *et al.* Guidelines for Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I Treatment in Children and Adolescents: Growth Hormone Deficiency, Idiopathic Short Stature, and Primary Insulin-Like Growth Factor-I Deficiency. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 86, n. 6, p. 361–397, 2016.
- GUEYE TALL, F. *et al.* Combined and differential effects of alpha-thalassemia and HbF-quantitative trait loci in Senegalese hydroxyurea-free children with sickle cell anemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 66, n. 10, p. e27934, 2019.
- GUILLIAMS, K. P.; FIELDS, M. E.; DOWLING, M. M. Advances in Understanding Ischemic Stroke Physiology and the Impact of Vasculopathy in Children With Sickle Cell Disease. **Stroke**, 21 jan. 2019.
- GUPTA, N. *et al.* Sex differences in statural growth impairment in Crohn's disease: Role of IGF-1. **Inflammatory Bowel Diseases**, v. 17, n. 11, p. 2318–2325, 1 fev. 2011.
- GUVEN, B. *et al.* Reference values for serum levels of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3) in the West Black Sea region of Turkey. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 73, n. 2, p. 135–140, 1 mar. 2013.
- HABARA, A.; STEINBERG, M. H. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sickle cell disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 7, p.

689–696, 1 mar. 2016.

HANKINS, J. S. *et al.* Long-term hydroxyurea therapy for infants with sickle cell anemia: the HUSOFT extension study. **Blood**, v. 106, n. 7, 2005.

HANKINS, J. S. *et al.* From Infancy to Adolescence: Fifteen Years of Continuous Treatment With Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. **Medicine**, v. 93, n. 28, p. e215, 2014.

HIGGS, D. R.; WOOD, W. G. Genetic Complexity in Sickle Cell Disease. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, n. 33, p. 11595–11596, 2008.

HIMES, J. H.; ROCHE, A. F. Reported versus measured adult statures. **American Journal of Physical Anthropology**, v. 58, n. 3, p. 335–341, jul. 1982.

IUGHETTI, L.; BIGI, E.; VENTURELLI, D. Novel insights in the management of sickle cell disease in childhood. **World journal of clinical pediatrics**, v. 5, n. 1, p. 25–34, 8 fev. 2016.

JANUARIO, J. N.; BORATO VIANA, M. **Incidência da doença falciforme em um milhão de nascidos vivos em Minas Gerais (1998 -2001)**. 2002. Universidade Federal de Minas Gerais, 2002.

JUUL, A. *et al.* Serum insulin-like growth factor-I in 1030 healthy children, adolescents, and adults: relation to age, sex, stage of puberty, testicular size, and body mass index. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 78, n. 3, p. 744–752, 1 mar. 1994.

KAPOOR, S.; LITTLE, J. A.; PECKER, L. H. Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 93, n. 12, p. 1810–1824, 1 dez. 2018.

KAYEMBA-KAY'S, S. *et al.* Growth screening in children aged 3–5 years: a useful tool for public health programs in community pediatrics . . 1 jul. 2019, p. 727.

KELLY, A. *et al.* Age-Based Reference Ranges for Annual Height Velocity in US Children. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 99, n. 6, p. 2104–2112, 6 jun. 2014.

KHAMIS, H. J.; ROCHE, A. F. Predicting adult stature without using skeletal age: the Khamis-Roche method. **Pediatrics**, v. 94, n. 4 Pt 1, p. 504–7, out. 1994.

KOPERDANOVA, M.; CULLIS, J. O. Interpreting raised serum ferritin levels. **BMJ : British Medical Journal**, v. 351, p. h3692, 3 ago. 2015.

KUMAR, A. *et al.* Etiology of short stature in Indian children and an assessment of the growth hormone-insulin-like growth factor axis in children with idiopathic short stature. **Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism**, v. 31, n. 9, p. 1009–1017, 1 set. 2018.

KWIATKOWSKI, J. L. *et al.* Effect of transfusion therapy on transcranial doppler ultrasonography velocities in children with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 56, n. 5, p. 777–782, 1 maio 2011.

LANGO ALLEN, H. *et al.* Hundreds of variants clustered in genomic loci and biological pathways affect human height. **Nature**, v. 467, n. 7317, p. 832–838, 14 out. 2010.

LEITE, S. N.; VASCONCELLOS, M. da P. C. Adesão à terapêutica medicamentosa:

elementos para a discussão de conceitos e pressupostos adotados na literatura. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 8, n. 3, p. 775–782, 2003.

LIAN, I. A.; ÅSBERG, A. Should Total Calcium Be Adjusted for Albumin? A Retrospective Observational Study of Laboratory Data from Central Norway. **BMJ open**, v. 8, n. 4, p. e017703–e017703, 7 abr. 2018.

LIPMAN, T. H. *et al.* Electronic Health Record Mid-Parental Height Auto-Calculator for Growth Assessment in Primary Care. **Clinical pediatrics**, v. 55, n. 12, p. 1100–1106, out. 2016.

LIU, H. *et al.* Elevated ecto-5'-nucleotidase: a missing pathogenic factor and new therapeutic target for sickle cell disease. **Blood Advances**, v. 2, n. 15, p. 1957–1968, 14 ago. 2018.

LOBO, C. L. *et al.* Newborn Screening Program for Hemoglobinopathies in Rio de Janeiro, Brazil. **Pediatr Blood Cancer**, v. 61, n. 1, p. 34–39, 2014.

LUBAN, N. L.; LEIKIN, S. L.; AUGUST, G. A. Growth and development in sickle cell anemia. Preliminary report. **The American journal of pediatric hematology/oncology**, v. 4, n. 1, p. 61–65, 1982.

LUKUSA KAZADI, A. *et al.* Factors Associated with Growth Retardation in Children Suffering from Sickle Cell Anemia: First Report from Central Africa. **Anemia**, v. 2017, p. 6, 2017.

LUPORINI, S. M. *et al.* Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor I Axis and Growth of Children With Different Sickle Cell Anemia Haplotypes. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 23, n. 6, p. 357–363, 2001.

MAIER-REDELSPERGER, M. *et al.* Fetal Hemoglobin and F-Cell Responses to Long-Term Hydroxyurea Treatment in Young Sickle Cell Patients. **Blood**, v. 91, n. 12, p. 4472 LP – 4479, 15 jun. 1998.

MANDESE, V. *et al.* Endocrine and metabolic complications in children and adolescents with Sickle Cell Disease: an Italian cohort study. **BMC Pediatrics**, v. 19, n. 1, p. 56, 2019.

MAROULI, E. *et al.* Rare and low-frequency coding variants alter human adult height. **Nature**, v. 542, n. 7640, p. 186–190, 9 fev. 2017.

MARTIN, D. D.; SCHITTENHELM, J.; THODBERG, H. H. Validation of adult height prediction based on automated bone age determination in the Paris Longitudinal Study of healthy children. **Pediatric Radiology**, v. 46, n. 2, p. 263–269, 2016.

MATA, A. S. da. Deficiência intelectual: análise da produção científica com base no modelo biomédico e modelo social da deficiência. **Filosofia e Educação**, v. 10, n. 2, p. 350–378, 15 out. 2018.

MAURAS, N. *et al.* Anastrozole Increases Predicted Adult Height of Short Adolescent Males Treated with Growth Hormone: A Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Trial for One to Three Years. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 93, n. 3, p. 823–831, mar. 2008.

MAURAS, N. *et al.* Randomized Trial of Aromatase Inhibitors, Growth Hormone, or Combination in Pubertal Boys with Idiopathic, Short Stature. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 101, n. 12, p. 4984–4993, dez. 2016.

MCCAIVIT, T. L. Sickle Cell Disease. **Pediatrics in Review**, v. 33, n. 5, p. 195–206,

2012.

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 Mol Dis**, v. 65, p. 86–94, 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde integral de adolescentes e jovens : orientações para a organização de serviços de saúde**. 1ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE; ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Aidpi Neonatal**. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/maual_aidpi_neonatal_quadro_procedimentos.pdf. Acesso em: 10 mar. 2018.

MUBEEN, H. *et al.* In silico mutation analysis of human beta globin gene in sickle cell disease patients. **2016**, v. 4, n. 5, p. 5, 2016.

MURKI, S.; SHARMA, D. Intrauterine Growth Retardation -A Review Article. **journal of neonatal biology**, v. 3, 26 mar. 2014.

NEONATO, M. G. *et al.* Acute clinical events in 299 homozygous sickle cell patients living in France. **European Journal of Haematology**, v. 65, n. 3, p. 155–164, set. 2000.

NEVITT, S. J.; JONES, A. P.; HOWARD, J. Hydroxyurea (hydroxycarbamide) for sickle cell disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, 20 abr. 2017.

NOGUEIRA, Z. D. *et al.* Aleitamento materno e perfil antropométrico de crianças com doença falciforme acompanhadas em serviço de referência em triagem neonatal. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 33, n. 2, p. 154–159, jun. 2015.

NUNLEE-BLAND, G. *et al.* Growth Hormone Deficiency in Patients with Sickle Cell Disease and Growth Failure. **J Pediatr Endocrinol Metab**, v. 17, n. 4, p. 601–606, 2004.

OHENE-FREMPONG, K. *et al.* Cerebrovascular Accidents in Sickle Cell Disease: Rates and Risk Factors. **Blood**, v. 91, n. 1, p. 288 LP – 294, 1 jan. 1998.

OOSTDIJK, W. *et al.* Diagnostic Approach in Children with Short Stature. **Horm Res**, v. 72, p. 206–217, 2009.

OZEN, S. *et al.* Frequency and Risk Factors of Endocrine Complications in Turkish Children and Adolescents with Sickle Cell Anemia. **Turk J Haematol**, v. 30, n. 1, p. 25–31, 2013.

PAIKARI, A.; SHEEHAN, V. A. Fetal haemoglobin induction in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 180, n. 2, p. 189–200, 1 jan. 2018.

PATEL, C. *et al.* **Iron status in sickle cell disorders**. [s.l: s.n.]

PAULA, L. P. de; CZEPIELEWSKI, M. A. Avaliação dos métodos diagnósticos para deficiência de GH (DGH) na infância: IGFs, IGFbPs, testes de liberação, ritmo de GH e exames de imagem. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 5, p. 734–744, jul. 2008.

PHEBUS, C. K.; GLONINGER, M. F.; MACIAK, B. J. Growth patterns by age and sex in children with sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 105, n. 1, p. 28–33, jul. 1984.

- PIEL, F. B.; STEINBERG, M. H.; REES, D. C. Sickle Cell Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 376, n. 16, p. 1561–1573, 19 abr. 2017.
- PLATT, O. S.; ROSENSTOCK, W.; ESPELAND, M. A. Influence of Sickle Hemoglobinopathies on Growth and Development. **New England Journal of Medicine**, v. 311, n. 1, p. 7–12, 5 jul. 1984.
- POST, E. M.; RICHMAN, R. A. A condensed table for predicting adult stature. **The Journal of pediatrics**, v. 98, n. 3, p. 440–2, mar. 1981.
- PRENTICE, A. Nutritional rickets around the world. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 136, p. 201–206, 1 jul. 2013.
- PUFFER, E. S.; SCHATZ, J. C.; ROBERTS, C. W. Relationships between Somatic Growth and Cognitive Functioning in Young Children with Sickle Cell Disease. **Journal of Pediatric Psychology**, v. 35, n. 8, p. 892–904, 21 dez. 2009.
- PUFFER, E. S.; SCHATZ, J. C.; ROBERTS, C. W. Association between Somatic Growth Trajectory and Cognitive Functioning in Young Children with Sickle Cell Disease. **Journal of Health Psychology**, v. 21, n. 8, p. 1620–1629, 8 dez. 2014.
- PULE, G. D. *et al.* A systematic review of known mechanisms of hydroxyurea-induced fetal hemoglobin for treatment of sickle cell disease. **Expert Review of Hematology**, v. 8, n. 5, p. 669–679, 3 set. 2015.
- QUARMYNE, M.-O. *et al.* Hydroxyurea effectiveness in children and adolescents with sickle cell anemia: A large retrospective, population-based cohort. **American Journal of Hematology**, v. 92, n. 1, p. 77–81, 1 jan. 2017.
- QUINN, C. T. *et al.* Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. **Blood**, v. 115, n. 17, p. 3447 LP – 3452, 29 abr. 2010.
- RANA, S. *et al.* Hydroxyurea and Growth in Young Children with Sickle Cell Disease. **Pediatrics**, v. 134, n. 3, p. 465–472, 1 set. 2014.
- RAPAPORT, R.; BOWLBY, D. A. Clinical aspects of growth and growth disorders. In: **Pescovitz OH & Eugster EA. Pediatric endocrinology: mechanisms, manifestations, and management. Philadelphia: Lippincott Williams&Willkins.** [s.l: s.n.]p. 172–190.
- REES, D. C.; GIBSON, J. S. Biomarkers in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 156, n. 4, p. 433–445, 1 fev. 2012.
- REES, D. C.; ROBINSON, S.; HOWARD, J. How I manage red cell transfusions in patients with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 180, n. 4, p. 607–617, 1 fev. 2018.
- ROCHE, A. F.; WAINER, H.; THISSEN, D. The RWT method for the prediction of adult stature. **Pediatrics**, v. 56, n. 6, p. 1027–33, dez. 1975.
- RODRIGUES, T. M. B.; SILVA, I. N. Estatura final de pacientes com diabetes mellitus do tipo 1. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 45, p. 108–114, 2001.
- ROEMMICH, J. N. *et al.* Longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. IV: Predictions of adult height by the Bayley-Pinneau, Roche-Wainer-Thissen, and Tanner-Whitehouse methods compared. **American Journal of Human Biology**, v. 9, n. 3, p. 371–380, 1997.

ROGOL, A. D.; HAYDEN, G. F. Etiologies and Early Diagnosis of Short Stature and Growth Failure in Children and Adolescents. **The Journal of Pediatrics**, v. 164, n. 5, p. S1- S14.e6, 2014.

SANCTIS, V. *et al.* Hand X-ray in pediatric endocrinology: Skeletal age assessment and beyond. **Indian Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 18, n. 7, p. 63, nov. 2014.

SANT'ANA, P. G. dos S. *et al.* **Clinical and laboratory profile of patients with sickle cell anemia** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* scielo , , 2017. .

SATOH, M. Bone age: assessment methods and clinical applications. **Clinical pediatric endocrinology : case reports and clinical investigations : official journal of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology**, v. 24, n. 4, p. 143–52, out. 2015.

SCHUCHARD, S. B. *et al.* Hydroxyurea use in young infants with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 0, n. 0, p. e27650, 7 fev. 2019.

SHEN, Y. *et al.* Diagnostic value of serum IGF-1 and IGFBP-3 in growth hormone deficiency: a systematic review with meta-analysis. **European Journal of Pediatrics**, v. 174, n. 4, p. 419–427, 13 abr. 2015.

Sickle Cell Disease | National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI).

Disponível em: <https://www.nhlbi.nih.gov/health-topics/sickle-cell-disease>. Acesso em: 18 fev. 2019.

SILVENTOINEN, K. *et al.* Heritability of Adult Body Height: A Comparative Study of Twin Cohorts in Eight Countries. **Twin Research**, v. 6, n. 05, p. 399–408, 21 out. 2003.

SIMONE, M. *et al.* Growth after recombinant human growth hormone (rhGH) treatment in transplanted thalassemic patients. **Bone marrow transplantation**, v. 20, p. 567–573, 1 out. 1997.

SINGHAL, A. *et al.* Delayed adolescent growth in homozygous sickle cell disease. **Archives of disease in childhood**, v. 71, n. 5, p. 404–8, 1 nov. 1994.

SINGHAL, A. *et al.* Factors affecting prepubertal growth in homozygous sickle cell disease. **Archives of disease in childhood**, v. 74, p. 502–506, 1 jul. 1996.

SMILEY, D.; DAGOGO-JACK, S.; UMPIERREZ, G. Therapy Insight: metabolic and endocrine disorders in sickle cell disease. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**, v. 4, p. 102, 1 fev. 2008.

SOARES, A. C. N. *et al.* Follow-up of children with hemoglobinopathies diagnosed by the Brazilian Neonatal Screening Program in the State of Pernambuco. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 36, p. 250–255, 2014.

SOLIMAN, A. T. *et al.* Circulating Growth Hormone (GH), Insulin-like Growth Factor-I (IGF-I) and Free Thyroxine, GH Response to Clonidine Provocation and CT Scanning of the Hypothalamic-pituitary Area in Children with Sickle Cell Disease. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 41, n. 5, p. 285–289, 1 out. 1995.

SOLIMAN, A. T. *et al.* Growth hormone secretion and circulating insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 concentrations in children with sickle cell disease. **Metabolism**, v. 46, n. 11, p. 1241–1245, nov. 1997.

- SOLIMAN, A. T. *et al.* Growth and Growth Hormone - Insulin Like Growth Factor -I (GH-IGF-I) Axis in Chronic Anemias. **Acta Biomed**, v. 88, n. 1, p. 101–111, 28 abr. 2017.
- STEINBERG, M. H. *et al.* Effect of Hydroxyurea on Mortality and Morbidity in Adult Sickle Cell Anemia Risks and Benefits Up to 9 Years of Treatment. **JAMA**, v. 289, n. 13, p. 1645–1651, 2 abr. 2003.
- STEINBERG, M. H. *et al.* Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: a glass half full? **Blood**, v. 123, n. 4, p. 481–485, 23 jan. 2014.
- STEINBERG, M. H.; H., M. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. **TheScientificWorldJournal**, v. 8, p. 1295–324, 25 dez. 2008.
- STEVENS, M. C. G. *et al.* Prepubertal Growth and Skeletal Maturation in Children With Sickle Cell Disease. **Pediatrics**, v. 78, n. 1, p. 124 LP – 132, 1 jul. 1986.
- STROUSE, J. J. *et al.* Hydroxyurea for Sickle Cell Disease: A Systematic Review for Efficacy and Toxicity in Children. **Pediatrics**, v. 122, n. 6, p. 1332 LP – 1342, 1 dez. 2008.
- SUHAG, A.; BERGHELLA, V. Intrauterine Growth Restriction (IUGR): Etiology and Diagnosis. **Current Obstetrics and Gynecology Reports**, v. 2, n. 2, p. 102–111, jun. 2013.
- SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 14, n. 1, p. 421058352, 24 jan. 2019.
- TAN, A. S.-C. *et al.* A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for α -thalassemia. **Blood**, v. 98, n. 1, p. 250 LP – 251, 1 jul. 2001.
- TANNER, J. M. The measurement of maturity. **Transactions. European Orthodontic Society**, p. 45–60, 1975.
- TANNER, J. M. Growth and maturation during adolescence. **Nutrition reviews**, v. 39, n. 2, p. 43–55, fev. 1981.
- TANNER, J. M. (James M. **Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW3 method)**). 3rd ed. ed. London ; W.B. Saunders, 2001.
- THODBERG, H. H. *et al.* Prediction of adult height based on automated determination of bone age. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94, n. 12, p. 4868–4874, 2009.
- THODBERG, H. H. *et al.* Validation of Bone Age Methods by Their Ability to Predict Adult Height. **Hormone Research in Paediatrics**, v. 74, n. 1, p. 15–22, 2010.
- THOMAS, P. W. *et al.* Height and weight reference curves for homozygous sickle cell disease. **Archives of Disease in Childhood**, v. 82, n. 3, p. 204 LP – 208, 1 mar. 2000.
- TOPOR, L. S. *et al.* Variation in methods of predicting adult height for children with idiopathic short stature. **Pediatrics**, v. 126, n. 5, p. 938–944, nov. 2010.
- TSENG, F. Y. *et al.* Serum levels of insulin-like growth factor 1 are negatively associated with log transformation of thyroid-stimulating hormone in Graves' disease patients with hyperthyroidism or subjects with euthyroidism: A prospective

observational study. **Medicine**, v. 98, n. 11, p. e14862, 1 mar. 2019.

TSHILOLO, L. *et al.* Hydroxyurea for Children with Sickle Cell Anemia in Sub-Saharan Africa. **New England Journal of Medicine**, p. NEJMoa1813598, 1 dez. 2018.

VAN DER VALK, R. J. P. *et al.* A novel common variant in DCST2 is associated with length in early life and height in adulthood. **Human molecular genetics**, v. 24, n. 4, p. 1155—1168, 2015.

VERISSIMO, M. P. A. Crescimento e desenvolvimento nas doenças falciformes. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, p. 271–274, 2007.

VISSCHER, P. M. *et al.* Genome Partitioning of Genetic Variation for Height from 11,214 Sibling Pairs. **The American Journal of Human Genetics**, v. 81, n. 5, p. 1104–1110, nov. 2007.

WAINER, H.; ROCHE, A. F.; BELL, S. Predicting adult stature without skeletal age and without paternal data. **Pediatrics**, v. 61, n. 4, p. 569–72, abr. 1978.

WALTERS, T. D.; GRIFFITHS, A. M. Mechanisms of growth impairment in pediatric Crohn's disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 6, n. 9, p. 513–523, 2009.

WARE, R. E. *et al.* Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia—TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWiTCH): a multicentre, open-label, phase 3, non-inferiority trial. **The Lancet**, v. 387, n. 10019, p. 661–670, 13 fev. 2016.

WONG, T. E. *et al.* Update on the Use of Hydroxyurea Therapy in Sickle Cell Disease. **Blood**, v. 124, n. 26, p. 3850–7; quiz 4004, dez. 2014.

WOOD, A. R. *et al.* Defining the role of common variation in the genomic and biological architecture of adult human height. **Nat Genet**, v. 46, n. 11, p. 1173–1186, nov. 2014.

ZHU, X. *et al.* Hydroxyurea differentially modulates activator and repressors of γ -globin gene in erythroblasts of responsive and non-responsive patients with sickle cell disease in correlation with Index of Hydroxyurea Responsiveness. **Haematologica**, v. 102, n. 12, p. 1995 LP – 2004, 1 dez. 2017.

ZIMMERMAN, S. A. *et al.* Sustained Long-Term Hematologic Efficacy of Hydroxyurea at Maximum Tolerated Dose in Children with Sickle Cell Disease. **Blood**, v. 103, n. 6, p. 2039–2045, 2004.

APENDICE 1 – BANCO DE DADOS LABORATORIAL



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

APÊNDICE 1 - BANCO DE DADOS LABORATORIAL – dados do prontuário

IDENTIFICAÇÃO

Q.1 [] [] [] [] [] [] [] N° na pesquisa (n° sequencial do participante)

Q.1.1 [] [] [] [] [] [] [] Iniciais do nome do sujeito da pesquisa

Q.1.2 [] [] [] [] [] [] [] N° do prontuário

Q.1.3.1 [] [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] [] Data de nascimento

Q.1.4 [] [] Sexo: 1. Masculino 2. Feminino

GENOTIPAGEM DE ALFA-TALASSEMIA (exame único)

Q.1.5.1 Teste de alfa-talassemia [] 0- não realizado 1- realizado

Q.1.5.2 Resultado do genótipo: []

Genótipo Deleção Alfa 3.7 1 – uma deleção, genótipo: $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ 2 - duas deleções, genótipo: $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$	Genótipo Deleção alfa 4.2 3 – uma deleção, genótipo: $-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$ 4 - duas deleções, genótipo: $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{4.2}$	Genótipo Duplo heterozigoto Deleções Alfa3.7 e alfa4.2 5 - $-\alpha^{4.2}/-\alpha^{3.7}$ []
---	---	---

Genótipo: nenhuma deleção encontrada

6- Sem as deleção Alfa 3.7 ou alfa 4.2 (supostamente $\alpha\alpha/\alpha\alpha$)

OS EXAMES A SEGUIR CORRESPONDEM AOS EXAMES MAIS RECENTES DO ÚLTIMO ANO. DEVEM SER INSERIDOS NO BANCO DE DADOS APÓS A DATA CORRESPONDENTE À AVALIAÇÃO (PRIMEIRA, SEGUNDA, TERCEIRA E ETC)

Q.2.1 [] [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] [] Data da primeira avaliação

Exame / unidade	Resultado	Observações
Q.3 Hemoglobina (g/dl)	Q.3.1	Q.3.2
Q.3.3. Hematócrito – HTC (%)	Q.3.4	Q.3.5
Q.4 HCM (pg)	Q.4.1	Q.4.2
Q.5 VCM (fl)	Q.5.1	Q.5.2
Q.6 Hb fetal – HbF (%)	Q.6.1	Q.6.2
Q.7 Contagem total de leucócito – LG (/mm ³)	Q.7.1	Q.7.2
Q.8 Contagem absoluta de neutrófilos -SEG (/mm ³)	Q.8.1	Q.8.2
Q.9 Contagem absoluta de monócitos M (/mm ³)	Q.9.1	Q.9.2

Digitação dos dados no banco _____ realizada por: _____ 1/10
1ª _____ data ___/___/___ e 2ª _____ data ___/___/___



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.10 Contagem de plaquetas - PQ (mil/mm ³)	Q.10.1	Q.10.2
Q.11 Contagem de reticulócitos -RT (contagem relativa em %)	Q.11.1	Q.11.2
Q.12 Dosagem de Ferro (mcg/dl)	Q.12.1	Q.12.2
Q.13 Dosagem de ferritina (mcg/L)	Q.13.1	Q.13.2
Q.14 Índice de saturação da Transferrina (IST) (%)	Q.14.1	Q.14.2

EXAMES LABORATORIAIS (anotar o último exame)

Q.15 EAS (elementos anormais e sedimento), urina tipo 1 ou exame simples de urina:

AVALIAÇÃO GERAL DO EXAME:

RESULTADO: []

0- exame não realizado 1. Exame completamente normal 2. Exame alterado (citar alterações nas observações)

Q.15.1. Observações _____

Q.16 EPF (exame parasitológico das fezes)

RESULTADO: []

0- não realizado 1- realizado: nenhum verme encontrado (normal) 2- verme encontrado não é patogênico (ex: *Entamoeba Coli* e *Endolimax Nana*) 3 – anormal: verme patogênico encontrado (citar alterações nas observações)

Q.16.1. Observações _____



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

0- ausente; 1- ocorreu o evento apenas uma vez no último ano; 2. Ocorreram dois eventos; 3. Ocorreram três eventos; 4. Ocorreram quatro eventos; 5. Ocorreram cinco eventos; 6. Ocorreram mais de cinco eventos; 7 – não informa; 9 – data não informada

NO BANCO DE DADOS LANÇAR SOMENTE O NUMERO DE EVENTO (legenda acima)

Assinalar a seguir o número de eventos entre colchetes (numeração acima) seguido da data do último evento, caso tenha ocorrido.

Q.3. Convulsão:

Q.3.1 [] ___/___/___ Q.3.2 [] ___/___/___ Q.3.3 [] ___/___/___

Q.3.4 [] ___/___/___ Q.3.5 [] ___/___/___

Q3.6. Observações _____

Q.4 Crise aplástica:

Q.4.1 [] ___/___/___ Q.4.2 [] ___/___/___ Q.4.3 [] ___/___/___

Q.4.4 [] ___/___/___ Q.4.5 [] ___/___/___

Q4.6. Observações _____

Q.5 Crises algicas (contabilizar somente eventos que necessitam de atendimento hospitalar):

Q.5.1 [] ___/___/___ Q.5.2 [] ___/___/___ Q.5.3 [] ___/___/___

Q.5.4 [] ___/___/___ Q.5.5 [] ___/___/___

Q5.6 Observações _____

Q.5.7 Dor articular de menor intensidade e que não necessitou de internação hospitalar:

Q.5.7.1 [] ___/___/___ Q.5.7.2 [] ___/___/___ Q.5.7.3 [] ___/___/___

Q.5.7.4 [] ___/___/___ Q.5.7.5 [] ___/___/___

Q5.7.6 Observações _____

Q.6 Dactilite (síndrome mão-pé)

Q.6.1 [] ___/___/___ Q.6.2 [] ___/___/___ Q.6.3 [] ___/___/___

Q.6.4 [] ___/___/___ Q.6.5 [] ___/___/___

Q6.6 Observações _____

Q.7 Doença cerebrovascular: AVE (acidente vascular encefálico) isquêmico

Q.7.1 [] ___/___/___ Q.7.2 [] ___/___/___

Q.7.3 [] ___/___/___ Q.7.4 [] ___/___/___ Q.7.5 [] ___/___/___

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data ___/___/___ e 2ª _____ data ___/___/___



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q7.3. Observações _____

0- ausente; 1- ocorreu o evento apenas uma vez no último ano; 2. Ocorreram dois eventos; 3. Ocorreram três eventos; 4. Ocorreram quatro eventos; 5. Ocorreram cinco eventos; 6. Ocorreram mais de cinco eventos; 7 – não informa;

Q.8 Doença cerebrovascular: AIT (ataque isquêmico transitório)

Q.8.4 [] ____/____/____ Q.8.5 [] ____/____/____ Q.8.6 [] ____/____/____ Q.8.7 [] ____/____/____

Q.8.8 [] ____/____/____

Q8.9. Observações _____

Q.9 Sequestro esplênico agudo

Q.9.1 [] ____/____/____ Q.9.2 [] ____/____/____ Q.9.3 [] ____/____/____

Q.9.4 [] ____/____/____ Q.9.5 [] ____/____/____

Q.9.6 Observações _____

Q.10 Priapismo

Q.10.1 [] ____/____/____ Q.10.2 [] ____/____/____ Q.10.3 [] ____/____/____

Q.10.4 [] ____/____/____ Q.10.5 [] ____/____/____

Q.10.6 Observações _____

Q.11 Síndrome Torácica Aguda

Q.11.1 [] ____/____/____ Q.11.2 [] ____/____/____ Q.11.3 [] ____/____/____

Q.11.4 [] ____/____/____ Q.11.5 [] ____/____/____

Q.11.6 Observações _____

Q.12 Úlcera de perna

Q.12.1 [] ____/____/____ Q.12.2 [] ____/____/____ Q.12.3 [] ____/____/____

Q.12.4 [] ____/____/____ Q.12.5 [] ____/____/____

Q.12.6 Observações _____

Q.13 Outras intercorrências clínicas ou cirúrgicas

Q.13.1 [] ____/____/____ Q.13.2 [] ____/____/____ Q.13.3 [] ____/____/____

Q.13.4 [] ____/____/____ Q.13.5 [] ____/____/____

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data ____/____/____ e 2ª _____ data ____/____/____



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.13.6 Observações _____

Q.14 Transfusões sanguíneas no último ano:

Q.14.1 [] ____/____/____ Q.14.2 [] ____/____/____ Q.14.3 [] ____/____/____

Q.14.4 [] ____/____/____ Q.14.5 [] ____/____/____

Q.14.6 Observações _____

AS ANOTAÇÕES A SEGUIR SÃO REALIZADA A CADA AVALIAÇÃO, SENDO QUE A DATA, QUE JÁ FOI INSERIDA NA PÁGINA INICIAL (Q.1.5) DO APÊNDICE, DEVE SER COPIADA A SEGUIR

Q.1.5.1 [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da primeira avaliação

DADOS RELATIVOS AO USO DE HIDROXIURÉIA

Q15.1 Uso da Hidroxiureia [] 0- não 1- sim

Q15.2 [] [] Motivo para não usar hidroxiuréia:

- 1- Não se aplica, pois o paciente usa a hidroxiuréia;
- 2- Paciente apresentou efeito colateral com a hidroxiuréia (descrever o tipo de efeito colateral nas observações) e necessitou suspender;
- 3- Paciente ou responsável optou por não usar o medicamento, apesar da recomendação médica;
- 4- Paciente já teve a indicação médica para o uso do medicamento e está programando o início da utilização (atraso relativo ao processo de aquisição do medicamento, por exemplo);
- 5- Não houve recomendação médica do Hemocentro de Governador Valadares para o uso do medicamento;
- 6- Medicamento foi suspenso por falta de resposta terapêutica.
- 7- outros (descrever nas observações)

Q15.2.1. observações _____

Q15.3. [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] [] Data de início uso da Hidroxiureia (HU)

Q15.3.2 [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] [] Data do fim do uso da HU (citar os motivos nas observações)

Q15.4 Dose diária atual de hidroxiuréia em mg [] [] [] [] [] [] [] []

Q15.5 Dose diária atual de hidroxiuréia em mg/m² [] [] [] [] [] [] [] []

Digitação dos dados no banco _____ realizada por: _____ 4/21
 1^a _____ data ____/____/____ e 2^a _____ data ____/____/____



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q15.5.1 Superfície corporal em m² (disponível no item **Q.11.2 do APÊNDICE 4**)

Q15.5.2 Dose de hidroxiuréia em mg/kg/dia

Q15.6 **Apresentação de hidroxiuréia em uso atual:** 1. Cápsula; 2. Solução

OBS: A solução recomendada é preparada com uma cápsula de 500mg de HU em 10ml de água destilada, obtendo a concentração de 50mg/ml.

Q15.7 **Tempo de uso da apresentação hidroxiuréia citada no item anterior :**

0. Não usa a HU; 1. Menos que um ano; 2. Um a dois anos; 3. Mais que dois anos.

Q15.8 **Tempo de uso da dose atual de hidroxiuréia:**

0. Não usa a HU; 1. Menos que um ano; 2. Um a dois anos; 3. Mais que dois anos.

Q15.9 **Tempo de uso da hidroxiuréia;**

0. Não usa o medicamento; 1. Menos que um ano; 2. Um a dois anos; 3. Mais que dois anos.

Q15.10 **Aderência à terapêutica no último ano (HU);**

0. Não aderente (usa menos de 24 dias no mês); 1. Aderente (usa 24 ou mais dias no mês, mas omite o uso ocasionalmente); 3. Completamente aderente (usa todos os dias do mês, sem omitir nenhum dia)

Q15.11 observações _____

USO DE MEDICAMENTOS/SUPLEMENTOS/VITAMINAS

USO DE MEDICAMENTOS/SUPLEMENTOS/VITAMINAS			
	0- não utiliza	1- utiliza	7 – não informa 9- data não informada
Nome do Medicamento	Data de início do uso e termino se houver	Observações	
Q.16 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ácido fólico	Q.16.2	Q.16.3	
Q.17 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Quelante Ferro (deferassirox - Exjade®)	Q.17.2	Q.17.3	
Q.18 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Contraceptivos	Q.18.2	Q.18.3	
Q.19 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Ferro	Q.19.2	Q.19.3	
OUTROS			

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:
 1ª _____ data ___/___/___ e 2ª _____ data ___/___/___



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

EXAMES PARA RISCO OU OCORRÊNCIA DE DCV (último ano)

0- não realizado 1- realizado 7 – não informa 9 – data não informada

Q.20 [] Teste de Doppler Transcraniano

Q.20.1 Data do último exame ____/____/____

Q.20.2 Resultado dado pela velocidade média máxima nos segmentos arteriais (Vmm/seg):

ACM*e:	ACM*d:
Bif*e:	Bif*d:
ACAe:	ACAd:
ACPe:	ACPd:
ACI*e:	ACI*d:
A BASILAR:	

Q 20.3 Classificação de acordo com estudo STOP : []

1- indeterminado, 2- risco baixo, 3- condicional baixo, 4- condicional alto, 5- risco alto.

Q20.3.1 SaO2 máxima (oximetria de pulso): _____

Q20.3.2 Observações: _____

Q.21 [] Tomografia Computadorizada ou Ressonância Nuclear Magnética do encéfalo

Q.21.1 Data do último exame ____/____/____

Q.21.2 Resultado _____

Q21.3 Observações _____

Nome do coletor dos dados – coloque as questões que foram coletadas e a data

Nome _____

Questões coletadas _____

Data: ____/____/____

Nome _____

Questões coletadas _____

Data: ____/____/____

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data ____/____/____ e 2ª _____ data ____/____/____

APENDICE 3 – BANCO DE DADOS ENDOCRINOLÓGICO



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

APÊNDICE 3 - BANCO DE DADOS ENDOCRINOLÓGICO

IDENTIFICAÇÃO

Q.1 [] [] [] [] [] [] N° na pesquisa (n° sequencial do participante)

Q. 1.1 [] [] [] [] [] [] [] Iniciais do nome do sujeito da pesquisa

Q.1.2 [] [] [] [] [] [] [] [] N° do prontuário

Q.1.3 [] [] [] [] / [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] Data de nascimento

Q.1.4 [] [] Sexo 1. Masculino 2. Feminino

Q.2.1 [] [] [] [] / [] [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da avaliação

BANCO DE DADOS PREENCHIDO NA PRIMEIRA AVALIAÇÃO E REAJUSTADO CONFORME NECESSIDADE

DADOS CLÍNICOS RELATIVOS À DEFICIÊNCIA DO HORMÔNIO DO CRESCIMENTO

0- não 1- sim 3 – não informa

Q.3 [] [] Presença de condição predisponente como lesão intracraniana e irradiação do sistema nervoso central;

Q3.1. Observações: _____

Q.4 [] [] Deficiência de outros hormônios hipofisários;

Q. 4.1. Observações: _____

Q.5 [] [] Sinais e sintomas de deficiência de GH/hipopituitarismo no período neonatal (hipoglicemia, icterícia prolongada, micropênis, defeitos de linha média).

Q5.1 Observações _____

DADOS RELATIVOS AO NASCIMENTO

Q.6.1 Peso ao nascimento (em gramas): [] [] [] [] [] [] []

Q.6.1.1 [] [] Baixo peso ao nascimento (peso ao nascimento menor que 2500 g): 0. não; 1. sim

Q.6.1.2 observações _____

Q. 6.2 Idade gestacional ao nascimento (semanas): [] [] [] []

Q. 6.2.1 observações _____

Q. 6.3 [] [] Parto prematuro (parto com menos de 37 semanas de gestação): 0. não; 1. sim.

Q.6.3.1 observações _____

Q. 6.4 [] [] Peso para a idade gestacional classificado como pequeno para a idade gestacional (PIG) (a classificação pode ser consultada no ANEXO 5): 0. não; 1. sim.

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data ____/____/____ e 2ª _____ data ____/____/____



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.6.4.1. Observações: _____

Q.6.5 Comprimento ao nascimento (centímetros): [] [] []

Q.6.5.1 observações _____

DADOS RELATIVOS À ESTATURA E PUBERDADE DOS PAIS

Q.7.1 Altura do pai (cm): [] [] [] [] [] []

Q. 7.2 Observações (citar a fonte da informação acima: informado pela mãe, medido, certificado de reservista e etc) _____

Q.7.3 Idade de início de puberdade do pai: [] [] [] anos

Q.7.4 Observações: _____

Q.8.1 Altura da mãe (cm): [] [] [] [] [] []

Q.8.2 Observações (citar a fonte da informação acima: informado pelo pai, medido e etc): _____

Q.8.3 Idade da menarca da mãe: [] [] [] anos

Q.8.4 Observações _____

Q.9. Observações gerais: _____

DADOS RELATIVOS ÀS PATOLOGIAS PRÉVIAS E HISTÓRICO SOCIAL

0- não 1- sim 3 – não informa

Q. 10 [] [] Desenvolvimento neuro-psicomotor normal?

Q 10.1 Observações _____

Q. 11 [] [] Vacinas em dia?

Q11.1 Observações _____

Q. 12 [] [] Alimentação adequada (avaliar o consumo de pelo menos três refeições principais por dia)?

Q12.1 Observações _____

Q. 13 [] [] Atividade física regular (mínimo de 150 minutos de atividade física por semana)?

Q13.1 Observações _____

Q. 14 [] [] Doença respiratória?

Q14.1 Observações _____

Q. 15 [] [] Doença gastrointestinal?

Q15.1 Observações _____

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data ____/____/____ e 2ª _____ data ____/____/____

2/3



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q. 16 Doença hepática?

Q16.1 Observações _____

Q. 17 Doença neurológica?

Q17.1 Observações _____

Q. 18 Doença cardíaca?

Q18.1 Observações _____

Q. 19 Doença renal?

Q19.1 Observações _____

Nome do coletor dos dados – coloque as questões que foram coletadas e a data

Nome _____

Questões

coletadas _____

Data: __/__/____

Nome _____

Questões

coletadas _____

Data: __/__/____

Digitação dos dados no banco _____ realizada por:

1ª _____ data __/__/____ e 2ª _____ data __/__/____

3/3

APENDICE 4 – EXAME CLÍNICO



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Individuos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

APÊNDICE 4 - EXAME CLÍNICO

IDENTIFICAÇÃO

- Q.1 N° na pesquisa (n° sequencial do participante)
- Q.2 Iniciais do nome do sujeito da pesquisa
- Q.3 N° do prontuário
- Q.4 Data de nascimento
- Q.5 Sexo 1. Masculino 2. Feminino
- Q.6 Data da avaliação
- Q.6.1 Ordem da avaliação: 1. Primeira; 2. Segunda; 3. Terceira; 4. Quarta; 5. Quinta; 6. Sexta;
7. Outras: citar _____
- Q. 6.2. Intervalo entre as avaliações: 1. Entre seis e 12 meses; 2. Superior a 12 meses; 3. Outros _____

ANOTE PERGUNTANDO

- Q.7 Cor 1. Branco 2. Preto(a) 3. Pardo(a), moreno(a) ou mulato(a) 4. Amarelo(a) 5. Indígena

PEDIR PARA TIRAR SAPATOS, OBJETOS DOS BOLSOS E FAZER AS MEDIÇÕES CONFORME ABAIXO:

- Q.8 Estatura cm
- Q.9 Peso Kg

PREENCHA OS DADOS A SEGUIR UTILIZANDO O APLICATIVO CHILD METRICS (disponível em www.childmetrics.org):

- Selecione em *GROWTH: Auxology*
- Insira a data de nascimento (*Date of Birth*) com mês, dia e ano; data desta avaliação (*Date of Visit*); sexo (*Gender*); peso em kg (*weight*); altura em cm (*height*); altura da mãe (*Maternal Height*), disponível no item Q.7.1 do APÊNDICE 3; e altura do pai (*Paternal Height*), disponível no item Q.8.1 do APÊNDICE 3.
- Selecione *WHO* em *Reference* e clique em calcular (*Calculate*).
- Anote os dados obtidos.

- Q.10.1 Idade em: anos meses
- Q.10.2 Idade em anos e decimais: anos
- Q.11.1 IMC (*BMI: body mass index*): Kg/m²
- Q.11.2 Superfície corporal (*BSA: body surface área*): m²
- Q.11.3. Escore Z da altura alvo (*Target Height SD Score*): ()



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

(dato exclusivo da primeira avaliação)

Q.11.4. Altura alvo (Target Height) : cm

(dato exclusivo da primeira avaliação)

- Cálculo realizado através da: [altura do pai em cm + altura da mãe em cm + 13 (se indivíduo do sexo masculino) ou – 13 (se indivíduo do sexo feminino)] ÷ 2.

AS QUESTÕES Q10 a Q19 DEVEM SER PREENCHIDAS APÓS O TÉRMINO DAS MEDIÇÕES

Cálculos realizados pelo Aplicativo *CHILD METRICS* SELECIONANDO OS DADOS DO WHO E COMPLEMENTANDO COM A SELEÇÃO DO CDC, CASO NECESSÁRIO.

Q.12 () Escore-z Estatura/Idade

Q.13 Classificação Estatura-para-idade

1. Muito baixa estatura para a idade (<-3 EZ); 2. Baixa estatura (\geq EZ-3 e < EZ-2);

3. Estatura adequada (\geq -2 EZ)

Q.14 IMC

Q.15 () Escore-z peso/Idade

Q.16 Classificação peso-para-idade

1. Peso Muito Baixo para a idade (< EZ-3); 2. Peso Baixo para a idade (\geq EZ-3 e < EZ-2); 3. Peso

Adequado ou Eutrófico (\geq EZ-2 e \leq EZ +2); 4. Peso elevado para a idade (>+2 EZ)

Q.17. () Escore-z IMC/Idade

Q.18. percentil IMC/Idade

Q.19 Classificação IMC-para-idade

1. Magreza acentuada (< EZ-3) 2. Magreza (\geq EZ-3 e < EZ-2) 3. Eutrófico (\geq EZ-2 e \leq EZ +1)

4. Sobrepeso (> EZ+1 e \leq EZ+2) 5. Obesidade (\geq +2 EZ e \leq EZ +3) 6. Obesidade grave (>+3 EZ)

DADOS RELATIVOS AO INÍCIO DA PUBERDADE (exceto o Q.25, que pode alterar a cada avaliação, os demais itens são inseridos no banco de dados em apenas uma ocasião)

0- não 1- sim 3 – não informa

Q. 20 Já iniciou a puberdade: 0. Não; 1. sim

Q. 20.1 Observações _____

Q. 21 Idade que iniciou a puberdade: anos meses (idade em anos e meses)

Q. 21.1 Observações _____

Q. 22 Puberdade precoce (início antes dos 8 anos em meninas ou antes de 9 anos em meninos):

Q.22.1 Observações _____



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.23 Puberdade atrasada (início após dos 13 anos em meninas ou após de 14 anos em meninos):

Q23.1 Observações _____

Q.24.1 Menarca:

Q. 24.2 Idade da menarca: anos meses (idade em anos e meses)

Q. 25 Ciclos menstruais:

1. A intervalos menores que 21 dias (polimenorréia); 2. A intervalos compreendidos entre 21 e 35 dias; 3. A intervalos superiores a 35 dias (oligomenorréia); 4. Amenorréia superior a 3 meses; 5. Uso de contraceptivos hormonal; 6. Sem menarca; 7. outros

Q25.1 Observação: _____

AS QUESTÕES Q26 a Q28 DEVEM SER PREENCHIDAS UTILIZANDO O ESTÁGIO DE TANNER (ANEXOS 3 e 4)

* DADO OBTIDO POR ANAMNESE, OU SEJA, INFORMADO PELO PACIENTE/RESPONSÁVEL, NO LUGAR DE DADO OBTIDO POR EXAME FÍSICO

Q.26 Estágio de maturação sexual genital por Tanner (sexo masculino)

1.G1; 2.G2;3.G3; 4.G4; 5.G5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar

Q.26.1 Estágio de maturação sexual genital por Tanner INFORMADO* (sexo masculino)

1.G1; 2.G2;3.G3; 4.G4; 5.G5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar

Q.27 Estágio de maturação sexual da mama por Tanner (sexo feminino)

1.M1; 2.M2;3.M3; 4.M4; 5.M5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar

Q.27.1 Estágio de maturação sexual da mama por Tanner INFORMADO* (sexo feminino)

1.M1; 2.M2;3.M3; 4.M4; 5.M5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar

Q.28 Estágio de maturação sexual dos pelos pubianos por Tanner (sexo masculino e feminino)

1.P1; 2.P2; 3.P3; 4.P4; 5.P5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar

Q.28.1 Estágio de maturação sexual dos pelos pubianos por Tanner INFORMADO* (sexo masculino e feminino)

1.P1; 2.P2; 3.P3; 4.P4; 5.P5; 6. Ignorado ou não foi possível avaliar



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.29 Volume testicular no sexo masculino: ml

Q.29.1 Volume testicular maior que 4 ml: 0. Não; 1. sim

Q.30 Dismorfias ou características clínicas sugestivas de síndrome clínica associada à baixa estatura ou que mereça investigação. 0.não; 1.sim

A PARTIR DA SEGUNDA AVALIAÇÃO, PREENCHA O DADO A SEGUIR (Q.31)
UTILIZANDO O APLICATIVO *CHILD METRICS* (disponível em www.childmetrics.org):

- Selecione em *GROWTH*: *Growht Velocity*;

- *Insira a data de nascimento (Date of Birth) com mês, dia e ano; sexo (Gender); data da última avaliação (Date at First Visit); altura da última avaliação em cm (Height at First Visit); data da avaliação atual (Date at Last Visit); altura da avaliação atual em cm (Height at Last Visit)*

- *Selecione em Reference: Kelly (para meninos de 5,5 anos a 18,5 anos e meninas de 5,5 anos a 17,5 anos) ou Baumgartner (para os demais indivíduos)*

- Clique em calcular (*Calculate*).

- *Anote os dados obtidos.*

Q.31 Velocidade de crescimento (*12-month Growth Velocity*): cm/ano (*cm/Year*)

Q.31.1. *Escore Z da velocidade de crescimento (Groth Velocity SD Score)*:

()

Q.32 Velocidade de crescimento menor que o percentil 25 da curva de velocidade de crescimento (ANEXOS 1 E 2) 0.não ; 1. sim.

Avaliador

Observações/intercorrências: _____

Responsável pelos dados _____ em ___/___/___

APENDICE 5 – QUESTIONÁRIO AVALIATIVO



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

APÊNDICE 5 - QUESTIONÁRIO AVALIATIVO

IDENTIFICAÇÃO

Q.1 [] [] [] [] [] N° na pesquisa (n° sequencial do participante)

Q.2 [] [] [] [] [] [] [] Iniciais do nome do sujeito da pesquisa

Q.3 [] [] [] [] [] [] [] [] [] N° do prontuário

Q.4 [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data de nascimento

Q.5 [] [] Sexo 1. Masculino 2. Feminino

Q.6.1 [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da PRIMEIRA etapa

Q.6.2 [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da SEGUNDA etapa

Q.6.3 [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da TERCEIRA etapa

Q.6.4 [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] Data da QUARTA etapa

O QUESTIONÁRIO ATUAL DEVE SER PREENCHIDO A CADA AVALIAÇÃO DOS PARTICIPANTES OU DE SEUS EXAMES

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Q.7.1 [] [] Identificação de alguma doença ou síndrome não avaliada na pesquisa que seja associada à baixa estatura. 1. Sim; 2. Não.

Q.7.2 [] [] Presença de outra condição predisponente para a deficiência de GH, como lesão intracraniana e irradiação do sistema nervoso central. 1. Sim; 2. Não.

Q.7.3 [] [] Deficiência intelectual acentuada 1. Sim; 2. Não.

Q.7.4 [] [] Presença ou suspeita de gravidez. 1. Sim; 2. Não.

Não passar para as questões seguintes no caso de respostas afirmativas em Q.7.1 a Q7.4.

1ª ETAPA

ANÁLISES BIOQUÍMICAS INICIAIS A SEREM SOLICITADAS NOS INDIVÍDUOS SEM CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

Q.8. [] [] Paciente ainda não fez os exames iniciais? 1. Sim; 2. Não.

Q.9. [] [] Data de nascimento entre 01 de janeiro de 2008 a 31 de dezembro de 2014?
1. Sim; 2. Não.

Q.10 [] [] Data de nascimento entre 01 de janeiro de 1998 a 31 de dezembro de 2007 e data da avaliação atual posterior a 1 janeiro de 2020?
1. Sim; 2. Não.

Q.11 [] [] A resposta foi sim em duas das três perguntas anteriores?
1. Sim; 2. Não.



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.11.1 Solicitar os seguintes exames se a resposta foi sim em Q.11 e passar para as questões de número 12 (Q.12).

Análises Bioquímicas Iniciais:

- Glicose, ureia, creatinina, cálcio total, fósforo, fosfatase alcalina, albumina, TSH, T4 Livre, IGF-1, IGFBP-3, radiografia de mão e punho para idade óssea.

EXAMES RESERVADOS A INDIVÍDUOS COM BAIXA ESTATURA (Q.12):

Q.12.1 Escore Z da estatura menor – 2 DP? 1. Sim; 2. Não.

Q.12.2 Data de nascimento entre 01 de janeiro de 2008 a 31 de dezembro de 2014?
1. Sim; 2. Não.

Q.12.3 Data de nascimento entre 01 de janeiro de 1998 a 31 de dezembro de 2007 e data da avaliação atual posterior a 1 janeiro de 2020?
1. Sim; 2. Não.

Q.12.4 A resposta foi sim em duas das três perguntas anteriores?
1. Sim; 2. Não.

Q.12.5 Solicitar os seguintes exames se a resposta foi sim em Q.12.4 e passar para as questões da 2ª ETAPA

Exames Reservados a Indivíduos com Baixa Estatura:

- Dosagem de IgA, Anticorpo antitransglutaminase tecidual IgA, TGO, TGP, bilirrubina total e frações.

2ª ETAPA

EXAMES RESERVADOS A INDIVÍDUOS COM MAIOR PREJUÍZO ESTATURAL:

Q.13.1. Escore Z da estatura menor – 2 DP? 1. Sim; 2. Não.

Q.13.2. Baixa estatura grave, definida como estatura inferior – 3 DP? 1. Sim; 2. Não.

Q.13.3. Redução na velocidade de crescimento (se disponível), definida como velocidade de crescimento inferior ao percentil 25 da curva de velocidade de crescimento? 1. Sim; 2. Não.

Q.14.1. Data de nascimento entre 01 de janeiro de 2008 a 31 de dezembro de 2014?
1. Sim; 2. Não.

Q.14.2. Data de nascimento entre 01 de janeiro de 1998 a 31 de dezembro de 2007 e data dessa avaliação posterior a 1 janeiro de 2020?
1. Sim; 2. Não.

Q.14.3. Exames realizados previamente não sugerem a possibilidade de outra doença diferente da deficiência de GH como causa para a BE e o valor da hemoglobina plasmática se encontra maior que 9 mg/dl?
1. Sim; 2. Não.



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.15. A resposta foi sim em duas das questões de número 13 (Q.13.1 a Q.13.3) e em duas das questões de número 14 (Q.14.1 a Q.14.3)? 1. Sim; 2. Não.

Q.16. Solicitar os seguintes exames se a resposta foi sim na alternativa anterior:

- Cariótipo com bandas em sangue periférico nas meninas.
- Gasometria venosa.
- Teste de estímulo do GH com administração oral de clonidina na dose de 0,1 a 0,15 mg/m² de superfície corporal e dosagem de GH plasmático basal e após 30, 60 e 90 minutos (aguardar a criança apresentar no mínimo 20 kg de peso corpóreo para solicitar esse exame).

DE POSSE DOS RESULTADOS dos exames de Q.16, responder as questões a seguir e passar para a 3ª ETAPA

Q.16.1 Indivíduo do sexo masculino ou resultado do cariótipo 46, XX? 1. Sim; 2. Não.

Q.16.2. Resultado da gasometria venosa sem acidose metabólica (HCO₃ na faixa de 22 a 26 mEq/L)? 1. Sim; 2. Não.

Q.16.3. Resultado do teste de estímulo do GH com administração de clonidina com concentração máxima de GH inferior a 5 ng/ml? 1. Sim; 2. Não

3ª ETAPA

EXAMES CONFIRMATÓRIOS DA DEFICIÊNCIA DE GH

Q.17.1. A resposta foi afirmativa nas três questões de número 16 (Q.16.1 a Q.16.3)? 1. Sim; 2. Não.

Q.17.2. O indivíduo apresenta mais de 20 kg de peso corpóreo e não apresente histórico de doenças cardiovascular, crise convulsiva ou AVE? 1. Sim; 2. Não.

Q.18.1 O indivíduo é do sexo feminino, apresenta idade cronológica a partir de 8 anos e estágio puberal de Tanner abaixo de 3 para avaliação das mamas (M3) e dos pelos pubianos (P3)? 1. Sim; 2. Não.

Q.18.2 O indivíduo é do sexo masculino, apresenta idade cronológica a partir de 9 anos e estágio puberal para os pelos pubianos abaixo de 3 (P3) de Tanner? 1. Sim; 2. Não.

Q.18.3 Se a resposta for afirmativa apenas em Q.17.1 e Q.17.2, solicitar o Teste de Estímulo de GH com Insulina, como se segue:

Teste de Estímulo de GH com Insulina:

Teste realizado com a administração de 0,1 UI/kg de insulina regular endovenosa e da dosagem plasmática de glicemia, cortisol e GH nos seguintes tempos: basal, 30, 60 e 90 minutos após a administração.



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.18.4 Se a resposta for afirmativa em Q.17 (Q.17.1 e Q.17.2) e em Q.18 (Q.18.1 ou Q.18.2), associar ao Teste de Estimulo de GH com Insulina o “*Priming*” com Hormônios Sexuais, como se segue:

1) “*Priming*” com Hormônios Sexuais Para Indivíduos do Sexo Masculino:

Prescrição de cipionato de testosterona 50mg intramuscular, duas doses, administradas 16 dias e 48 horas antes da realização do Teste de Estimulo de GH com Insulina.

2) “*Priming*” com Hormônios Sexuais Para Indivíduos do Sexo Feminino:

Prescrição de estrógenos conjugados na dose de 1,25 mg/m², via oral, três doses, administradas 72, 48 e 24 horas antes da realização do Teste de Estimulo de GH com Insulina.

4ª ETAPA

EXAME DE IMAGEM DA REGIÃO HIPOTÁLAMO-HIPOFISÁRIA

Q.19.1 [] Resultado do Teste de Estimulo do GH com Insulina mostrou concentração plasmática máxima de GH inferior a 5 ng/ml? 1. Sim; 2. Não

Q.19.2 [] Resultado do Teste de Estimulo do GH com Insulina mostrou concentração plasmática de glicose inferior a 40 mg/dl em algum momento do teste? 1. Sim; 2. Não

Q.19.3 Se a resposta for afirmativa em Q.19.1 e Q.19.2, solicitar Ressonância Magnética de Sela Túcica.

Avaliador

1) Observações/intercorrências: _____

Responsável pelos dados _____ em ___/___/___

2) Observações/intercorrências: _____

Responsável pelos dados _____ em ___/___/___

APENDICE 6 – RESULTADOS GERAIS



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

APÊNDICE 6 – RESULTADOS GERAIS

IDENTIFICAÇÃO

Q.1 [] [] [] [] [] [] N° na pesquisa (n° sequencial do participante)

Q. 2 [] [] [] [] [] [] [] Iniciais do nome do sujeito da pesquisa

Q.3 [] [] [] [] [] [] [] [] N° do prontuário

Q.4 [] [] [] [] / [] [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] [] Data de nascimento

Q.5 [] [] Sexo 1. Masculino 2. Feminino

Q.6.1 Idade cronológica (IC) em anos e decimais (disponível em Q.11.2 do APÊNDICE 4):

[] [] [] [] , [] [] [] [] anos

Q.6.2 Idade óssea descrita no laudo emitido pela clínica:

- IO [] [] [] anos [] [] [] meses (idade em anos e meses)

Q. 6.3 Data do exame em Q.6: [] [] [] [] / [] [] [] [] / [] [] [] [] [] [] [] []

Q. 6.4 Observações _____

Q. 7 Idade óssea (IO) definida através do atlas de Greulich e Pyle:

- IO [] [] [] anos [] [] [] meses (idade em anos e meses)

Q. 7.1 IO definida em Q.7 em anos e decimais. Utilizar o aplicativo disponível em <https://convertlive.com/pt/u/convertir/meses/em/anos#11> para converter os meses em fração de anos.

- IO [] [] [] [] , [] [] [] [] anos

Q. 7.2 Observações _____

OS RESULTADOS A SEGUIR DEVEM SER PREENCHIDOS UTILIZANDO:

- Aplicativo BoneXpert (disponibilizado em www.BoneXpert.com/ahp).
- Selecionar no aplicativo como etnia a afro-americana (*african american*).
- Idade óssea (IO) em anos e decimais definida em Q.7.1
- Idade cronológica em anos e decimais (em Q.6.1) e estatura (em centímetros) inseridos no **APÊNDICE 4** (escolher a Ordem da Avaliação com data mais próxima a da realização da IO):
- Altura do pai e da mãe inseridos no **APÊNDICE 3**.

Q. 7.2 Escore Z da idade óssea (IO) definida através do atlas de Greulich e Pyle:

() [] [] [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.8 Previsão de estatura final (PEF) baseado na idade óssea definida em Q.7.1:

- AHP (*adult height prediction*) (x-ray) [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] [] cm

Q.8.1 Variação (incerteza) da PEF baseado na idade óssea definida em Q.7.1 com ± 1 desvio padrão (DP):

\pm [] [] [] [] [] [] [] [] cm

Q.9. Previsão da idade do pico de velocidade de crescimento:

- APHV (*Prediction of the Age of Peak Height Velocity*): [] [] [] [] [] [] [] [] anos

Q.9.1 Variação (incerteza) da APHV com ± 1 desvio padrão (DP):

\pm [] [] [] [] [] [] [] [] anos



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

Q.10. Previsão de estatura final (PEF) baseado apenas na altura dos pais:
- AHP (adult height prediction) (parental) [] [] [] [] [] [] cm

Q.10.1 Variação (incerteza) da AHP (parental) com ± 1 desvio padrão (DP):
± [] [] [] [] anos

Q.11. Previsão de estatura final (PEF) baseado apenas na altura dos pais e na idade óssea:
- AHP (adult height prediction) (X+P) [] [] [] [] [] [] cm

Q.11.1 Variação (incerteza) da AHP (X + P) com ± 1 desvio padrão (DP):
± [] [] [] [] anos

OS RESULTADOS A SEGUIR DEVEM SER PREENCHIDOS UTILIZANDO OS EXAMES LABORATORIAIS REALIZADOS E ACRESCIDOS DO CÁLCULO DO ESCORE Z (ANEXO6)

Q.12.1. IGF1 (resultado em ng/ml): [] [] [] [] [] []

Q.12.2 Escore Z do IGF1 para a idade cronológica (IC) (Q.6.1):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.12.3 .Escore Z do IGF1 para a idade óssea (Q.7):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.12.4 .Escore Z do IGF1 para o estágio de Tanner (Q26 a Q28 do APÊNDICE 4):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.13.1 IGFBP3 (resultado em ng/ml): [] [] [] [] [] []

Q.13.2 Escore Z do IGFBP3 para a idade cronológica (Q.6.1):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.13.3 Escore Z do IGFBP3 para a idade óssea (Q.7):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Q.13.4 .Escore Z do IGFBP3 para o estágio de Tanner (Q26 a Q28 do APÊNDICE 4):
() [] [] [] [] [] [] Escore-z

Avaliador

1) Observações/intercorrências: _____

Responsável pelos dados _____ em ___/___/___

2) Observações/intercorrências: _____

Responsável pelos dados _____ em ___/___/___

APENDICE 7 –TERMO DE CONSENTIMENTO



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO número 1' (TCLE1')

(No caso do responsável pelo menor)

O(a) **menor** _____, sob sua **responsabilidade**, está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares**”, Neste projeto pretendemos realizar pesquisa de dados no prontuário, exames de laboratório e clínicos e radiografia da mão e punho de pessoas com anemia falciforme.

Atualmente estão sendo publicadas pesquisas médicas que demonstraram que pessoas com anemia falciforme podem apresentar um crescimento inferior ao de outras pessoas ou atraso na idade em que se inicia a puberdade e, às vezes, se tornarem adultos com estatura menor. O atraso no início da puberdade pode trazer ansiedade para as pessoas, pois acham estranho demorar a ter aparência de mulheres ou homens adultos. As causas para o prejuízo no crescimento ou a demora no início da puberdade podem ser por problemas em uma glândula localizada dentro da cabeça (crânio) chamada de hipófise. O objetivo dessa pesquisa é analisar o crescimento de pessoas com anemia falciforme e se existe algum fator que explicaria a deficiência no crescimento se isto for verificado. Queremos também saber como o remédio chamado hidroxiuréia afeta o crescimento quando é usado por algumas pessoas.

Se você concordar na participação do menor no estudo, iremos utilizar as anotações médicas que estão arquivadas na Hemominas, realizaremos uma consulta médica com o menor e exames de sangue. Tudo isso será feito no mesmo dia que estiver consulta agendada na Hemominas. Além disso, faremos também uma solicitação de radiografia da mão e punho, que deverá ser feita em uma clínica de raio X conveniada. A radiografia da mão e punho é para saber a Idade Óssea e serve para ver o quanto a pessoa ainda é capaz de crescer.

Para os exames bioquímicos e moleculares iremos coletar o sangue O sangue coletado será utilizado para separar o material genético, o DNA, para analisar se você possui alfa-talassemia, outra anemia hereditária, ou se existem outras variações que possam explicar as diferenças na gravidade clínica observadas na anemia falciforme. Com outra parte do sangue iremos fazer exames bioquímicos relacionados ao crescimento em laboratório especializado. Para participar desta pesquisa, **o(a) Sr(a), responsável pelo menor**, deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Vocês não terão qualquer custo, nem receberão qualquer vantagem financeira. Portanto, todos os exames laboratoriais, radiografias, medicamentos, transporte ou qualquer necessidade surgida em decorrência do estudo serão inteiramente gratuitos. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, o menor terá assegurado o direito à indenização.

O(a) Sr(a) será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar da pesquisa. O(a) Sr(a) poderá retirar o consentimento ou interromper a participação do menor a qualquer momento. A participação do menor é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que o(a) menor é atendido(a) na Hemominas. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade. O menor não será identificado em nenhuma publicação.

Os riscos que podemos citar nos procedimentos desta pesquisa são: a coleta de sangue será feita por um profissional treinado da Fundação Hemominas, mas, em alguns casos pode acontecer um hematoma (mancha de cor roxa) na região do braço onde a agulha foi introduzida que desaparecerá espontaneamente em poucos dias. Poderá haver incômodo no momento da picada. Caso seja feita



uma coleta de sangue para exames referentes ao acompanhamento clínico, esta mesma amostra poderá ser usada para nossa pesquisa, sem necessidade de nova coleta.

A radiografia da mão e punho é um exame que expõe à radiação uma área muito pequena do corpo, sendo que órgãos sensíveis à radiação e eventualmente expostos, como as gônadas e a tireoide, serão devidamente protegidos por vestimentas de chumbo.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: diagnóstico precoce de alguma alteração nos exames permite a tomada de medidas para possíveis complicações da anemia falciforme. Sendo que, caso alguma alteração que possa ser tratada for identificada, iremos entrar em contato com a equipe médica local para as devidas providências.

Os resultados dos exames e da radiografia de mão e punho serão anexados ao prontuário para que o médico que o acompanha na Fundação Hemominas tenha acesso a e possa utilizá-los para alterar ou não a conduta no tratamento da anemia falciforme. De forma indireta estes resultados da pesquisa poderão beneficiar outras pessoas, pois poderão trazer conhecimentos para modificar o tratamento da anemia falciforme.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizado. O nome e o material que indique a participação do menor não serão liberados sem a sua permissão.

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). 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.

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. 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 responsável pelo menor	Data
------	--------------------------------------	------

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

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

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

Comitê de Ética em
Pesquisa/Hemominas
Alameda Ezequiel Dias, 321 –
Santa Efigênia – Belo Horizonte -
Minas Gerais.
CEP 30130-110
Fone:(31) 3768-4587

Pesquisadores Responsáveis em
GOVERNADOR VALADARES:
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

Campo de rubrica do sujeito da pesquisa ou responsável e do pesquisador

APENDICE 8 – TERMO DE ASSENTIMENTO



TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO número 1 (TALE1)

(Anuência do participante da pesquisa, criança, adolescente ou legalmente incapaz).

Você _____, está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares**”, Neste projeto pretendemos realizar pesquisa de dados no prontuário, exames de laboratório e clínicos e radiografia da mão e punho de pessoas com anemia falciforme.

Atualmente estão sendo publicadas pesquisas médicas que mostraram que pessoas com anemia falciforme podem apresentar um crescimento inferior ao de outras pessoas ou atraso na idade em que se inicia a puberdade e, às vezes, se tornarem adultos com estatura menor. O atraso no início da puberdade pode trazer ansiedade para as pessoas, pois acham estranho demorar a ter aparência de mulheres ou homens adultos. As causas para o prejuízo no crescimento ou a demora no início da puberdade podem ser por problemas em uma glândula localizada dentro da cabeça (crânio) chamada de hipófise. O objetivo dessa pesquisa é analisar o crescimento de pessoas com anemia falciforme e se existe algum fator que explicaria a deficiência no crescimento se isto for verificado. Queremos também saber como o remédio chamado hidroxiuréia afeta o crescimento quando é usado por algumas pessoas.

Se você concordar em participar do estudo, iremos utilizar suas anotações médicas que estão arquivadas na Hemominas, realizaremos uma consulta médica com você e um exame de sangue. Tudo isso será feito no mesmo dia que estiver consulta agendada na Hemoninas. Além disso, faremos também uma solicitação de radiografia da mão e punho, que deverá ser feita em uma clínica de raio X conveniada. Este exame, que é a radiografia da mão e punho, chama-se Idade Óssea e serve para ver o quanto a criança ou adolescente ainda é capaz de crescer.

Para os exames bioquímicos e moleculares iremos coletar o sangue. O sangue coletado será utilizado para separar o material genético, o DNA, para analisar se você possui alfa-talassemia, outra anemia hereditária, ou se existem outras variações que possam explicar as diferenças nos sintomas observados na anemia falciforme. Com outra parte do sangue iremos fazer exames bioquímicos relacionados ao crescimento em laboratório especializado. 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. Portanto, todos os exames laboratoriais, radiografias, transporte, medicamentos ou qualquer necessidade surgida em decorrência do estudo serão inteiramente gratuitos. 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 você é atendido(a) no Hemominas. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Os riscos que podemos citar nos procedimentos desta pesquisa são: a coleta de sangue será feita por um profissional treinado da Fundação Hemominas, mas, em alguns casos pode acontecer um hematoma (mancha de cor roxa) na região do braço onde a agulha foi introduzida que desaparecerá espontaneamente em poucos dias. Poderá haver incômodo no momento da picada. Caso seja feita uma coleta de sangue para exames referentes ao acompanhamento clínico, esta mesma amostra poderá ser usada para nossa pesquisa, sem necessidade de nova coleta.

A radiografia da mão e punho é um exame que expõe à radiação uma área muito pequena do corpo, sendo que órgãos sensíveis à radiação e eventualmente expostos, como as gônadas e a tireoide, serão devidamente protegidos por vestimentas de chumbo.



Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: diagnóstico precoce de alguma alteração nos exames permitem a tomada de medidas para possíveis complicações da anemia falciforme. Sendo que, caso alguma alteração que possa ser tratada for identificada, iremos entrar em contato com a equipe médica local para as devidas providências.

Os resultados dos exames e da radiografia de mão e punho serão anexados ao prontuário para que o médico que o acompanha na Fundação Hemominas tenha acesso a e possa utilizá-los para alterar ou não a conduta no tratamento da anemia falciforme. De forma indireta estes resultados da pesquisa poderão beneficiar outras pessoas, pois poderão trazer conhecimentos para modificar o tratamento da anemia falciforme.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizado. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão e do responsável por você.

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 a você. 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.

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
------	------------------------	------

APENDICE 9 – TERMO DE CONSENTIMENTO (BIORREPOSITÓRIO)



TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO' (TCLE')

(Biorrepositório)

(No caso do responsável pelo menor)

O(a) menor _____, sob sua **responsabilidade**, está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares**”. Neste projeto pretendemos realizar pesquisa de dados no prontuário, exames de laboratório e clínicos e radiografia da mão e punho de pessoas com anemia falciforme.

O objetivo dessa pesquisa é analisar o crescimento de pessoas com anemia falciforme e se existe algum fator que explicaria a deficiência no crescimento se isto for verificado. Queremos também saber como o remédio chamado hidroxiuréia afeta o crescimento quando é usado por algumas pessoas.

Para isto adotaremos os seguintes procedimentos: coletar dados do seu prontuário; fazer exame clínico, realizar uma radiografia da mão e do punho para verificarmos se seu crescimento está de acordo com sua idade. E coletar um pouco de sangue. O sangue coletado será utilizado para separar o material genético, o DNA, para analisar se você possui alfa-talassemia, outra anemia hereditária, ou se existem outras variações que possam explicar as diferenças na gravidade clínica observadas na anemia falciforme. Com outra parte do sangue iremos fazer exames bioquímicos relacionados ao crescimento em laboratório especializado.

Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico retirado do sangue cujas utilizações estarão vinculadas somente a esse projeto de pesquisa. Eventualmente o material biológico do menor poderá ser utilizado futuramente em outro projeto de pesquisa, porém, neste caso, o(a) Sr(a) será novamente contatado para dar consentimento sobre esta utilização. O sangue coletado ficará armazenado congelado num freezer na temperatura de -20°C e o material genético (DNA) será guardado no freezer na temperatura de -80°C por 5 anos no **biorepositório**. O(a) Sr(a) será informado sobre o descarte deste material após finalizado o projeto e de como ele será feito.

Para participar desta pesquisa, **o menor sob sua responsabilidade** não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Portanto, todos os exames laboratoriais, medicamentos, transporte ou qualquer necessidade surgida em decorrência do estudo serão inteiramente gratuitos. Apesar disso, caso sejam identificados e comprovados danos provenientes desta pesquisa, ele tem assegurado o direito à indenização.

O(a) menor 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. A participação do menor é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) no Hemominas. O pesquisador irá tratar a identidade do menor com padrões profissionais de sigilo e confidencialidade. O menor não será identificado em nenhuma publicação.

Os riscos que podemos citar nos procedimentos desta pesquisa são: a coleta de sangue será feita por um profissional treinado da Fundação Hemominas, mas, em alguns, casos pode acontecer um hematoma (cor roxa) na região do braço onde a agulha foi introduzida, que desaparecerá espontaneamente em poucos dias. Poderá haver incômodo no momento da picada no dedo. Caso seja feita uma coleta de sangue para exames referentes ao acompanhamento clínico, esta mesma amostra poderá ser usada para nossa pesquisa, sem necessidade de nova coleta.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: diagnóstico precoce de alguma alteração nos exames permite a tomada de medidas para possíveis complicações da anemia falciforme. Sendo que, caso alguma alteração que possa ser tratada for identificada, iremos entrar em contato com a equipe médica local para as devidas providências.

Os resultados dos exames e da radiografia de mão e punho serão anexados ao prontuário para que o médico que o acompanha o menor na Fundação Hemominas tenha acesso a e possa utilizá-los para alterar ou não a conduta no tratamento da anemia falciforme. De forma indireta estes resultados da

1 de 2



pesquisa poderão beneficiar outras pessoas, pois poderão trazer conhecimentos para modificar o tratamento da anemia falciforme.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada a pesquisa. O nome ou o material que indique a participação do menor não será liberado sem a sua permissão. O (a) menor não será identificado (a) em nenhuma publicação que possa resultar.

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 (a) Sr(a).. Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos (quando for o caso poderá ser 10 anos) e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

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) _____ 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.

_____, _____ 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:

**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

**Comitê de Ética em
Pesquisa/Hemominas**
Alameda Ezequiel Dias, 321 – Santa
Efigênia – Belo Horizonte - Minas
Gerais.
CEP 30130-110
Fone:(31) 3768-4587

**Pesquisadores Responsáveis em
GOVERNADOR VALADARES:**
CIBELE VELLOSO RODRIGUES
DOMÍCIO A. DA COSTA JÚNIOR
Endereço: Av. Dr. Raimundo
Monteiros Rezende, 330- Centro
CEP: 35010-177 – Governador
Valadares/ MG -
Fone: (33) 991506745
E-mail: naorigen@ufjf.edu.br

APENDICE 10 –TERMO DE ASSENTIMENTO (BIORREPOSITÓRIO)



TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TALE)

(Anuência do participante da pesquisa, criança, adolescente ou legalmente incapaz).

(Biorrepositório)

Você _____ está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares**”. Neste projeto pretendemos realizar pesquisa de dados no prontuário, exames de laboratório e clínicos e radiografia da mão e punho em pessoas com anemia falciforme.

O objetivo dessa pesquisa é analisar o crescimento de pessoas com anemia falciforme e se existe algum fator que explicaria a deficiência no crescimento se isto for verificado. Queremos também saber como o remédio chamado hidroxiuréia afeta o crescimento quando é usado por algumas pessoas.

Para isto adotaremos os seguintes procedimentos: coletar dados do seu prontuário; fazer exame clínico, realizar uma radiografia da mão e do punho para verificarmos se seu crescimento está de acordo com sua idade. E coletar um pouco de sangue. O sangue coletado será utilizado para separar o material genético, o DNA, para analisar se você possui alfa-talassemia, uma outra anemia hereditária, ou se existem outras variações que possam explicar as diferenças nos sintomas observados na anemia falciforme. Com outra parte do sangue iremos fazer exames bioquímicos relacionados ao crescimento.

Para tanto, pedimos a sua autorização para a coleta, o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do material biológico retirado do sangue cujas utilizações estarão vinculadas somente a esse projeto de pesquisa. Eventualmente seu material biológico poderá ser utilizado em outro projeto de pesquisa, porém, neste caso, você será novamente contatado para dar consentimento sobre esta utilização. O sangue coletado ficará armazenado congelado num freezer na temperatura de -20°C e o material genético (DNA) será guardado no freezer na temperatura de -80°C por 5 anos no **biorepositório**. Seu responsável será informado sobre o descarte deste material após finalizado o projeto e de como ele será feito.

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. Portanto, todos os exames laboratoriais, medicamentos, transporte ou qualquer necessidade surgida em decorrência do estudo serão inteiramente gratuitos. 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 de guarda e utilização do material biológico armazenado no **Biorrepositório**.

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 sigilo. Você não será identificado em nenhuma publicação.

Os riscos que podemos citar nos procedimentos desta pesquisa são: a coleta de sangue será feita por um profissional treinado da Fundação Hemominas, mas, em alguns casos pode acontecer um hematoma (mancha de cor roxa) na região do braço onde a agulha foi introduzida. Poderá haver incômodo no momento da picada, que desaparecerá espontaneamente em poucos dias. Caso seja feita uma coleta de sangue para exames referentes ao acompanhamento clínico, esta mesma amostra poderá ser usada para nossa pesquisa, sem necessidade de nova coleta.

Em relação aos benefícios deste projeto podemos citar: diagnóstico precoce de alguma alteração nos exames permite a tomada de medidas para possíveis complicações da anemia falciforme. Sendo que, caso alguma alteração que possa ser tratada for identificada, iremos entrar em contato com a equipe médica local para as devidas providências.

1 de 2

Campo de rubricas para sujeito da pesquisa ou responsável e pesquisador



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA



Os resultados dos exames e da radiografia de mão e punho serão anexados ao prontuário para que o médico que o acompanha na Fundação Hemominas tenha acesso e possa utilizá-los para alterar ou não a conduta no tratamento da anemia falciforme. De forma indireta estes resultados da pesquisa poderão beneficiar outras pessoas, pois poderão trazer conhecimentos para modificar o tratamento da anemia falciforme.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada a pesquisa. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você.

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 seu responsável. Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos (quando for o caso poderá ser 10 anos) e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para os fins acadêmicos e científicos.

Declaração de consentimento

Eu, _____
 _____, portador(a) do documento de Identidade _____, 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 do presente
 estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. 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:

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@uff.edu.br

Comitê de Ética em Pesquisa/Hemominas
 Alameda Ezequiel Dias, 321 –
 Santa Efigênia – Belo Horizonte
 - Minas Gerais.
 CEP 30130-110
 Fone:(31) 3768-4587

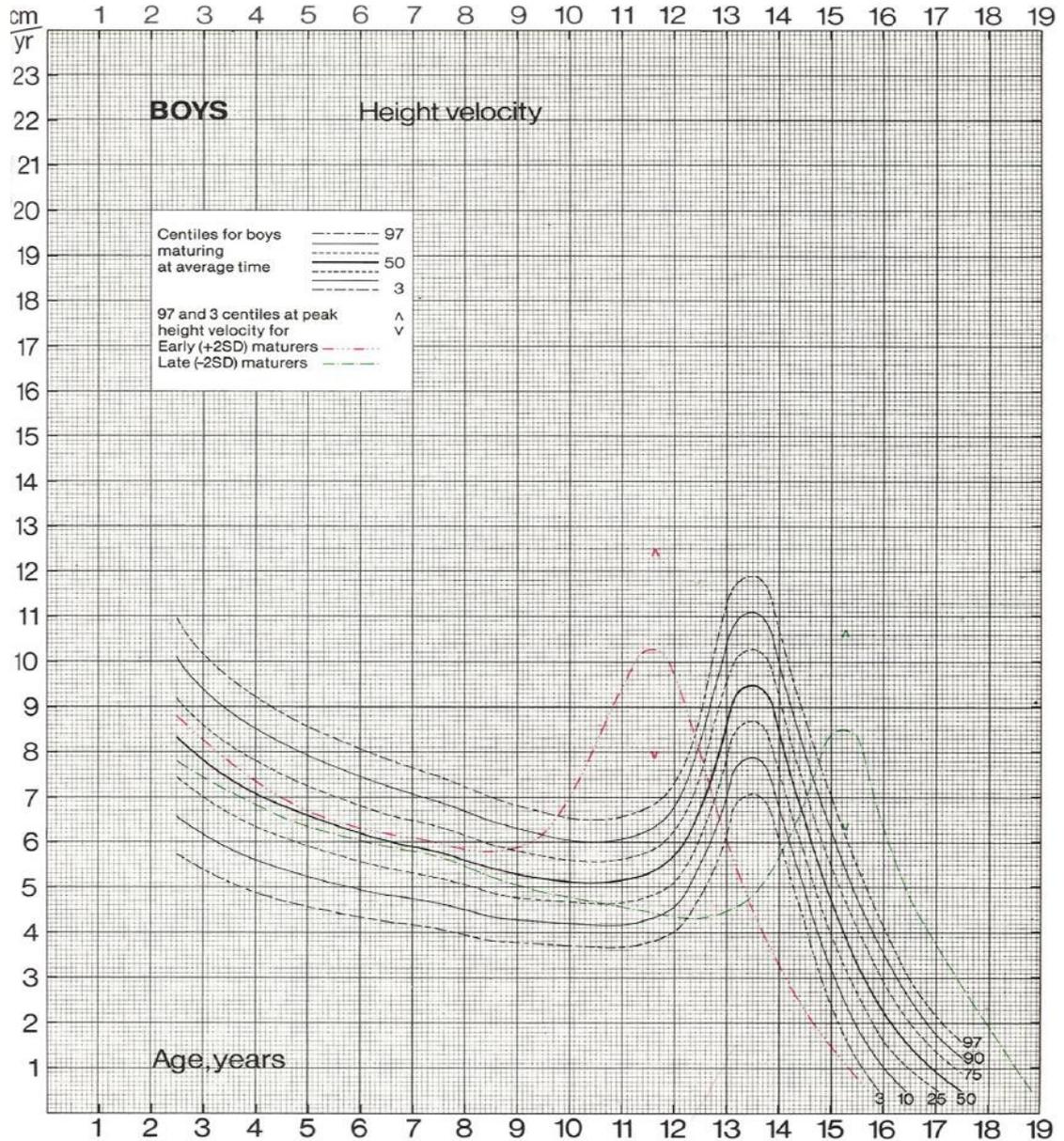
Pesquisadores Responsáveis em GOVERNADOR VALADARES:
CIBELE V RODRIGUES
DOMÍCIO A. DA COSTA JÚNIOR
 Endereço: Av. Dr. Raimundo
 Monteiro Rezende, 330- Centro
 CEP: 35010-177 – Governador
 Valadares/ MG -
 Fone: (33) 991506745
 E-mail: naorigen@uff.edu.br

ANEXO 1 – GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO EM MENINOS



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 1 - GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO (MENINOS)



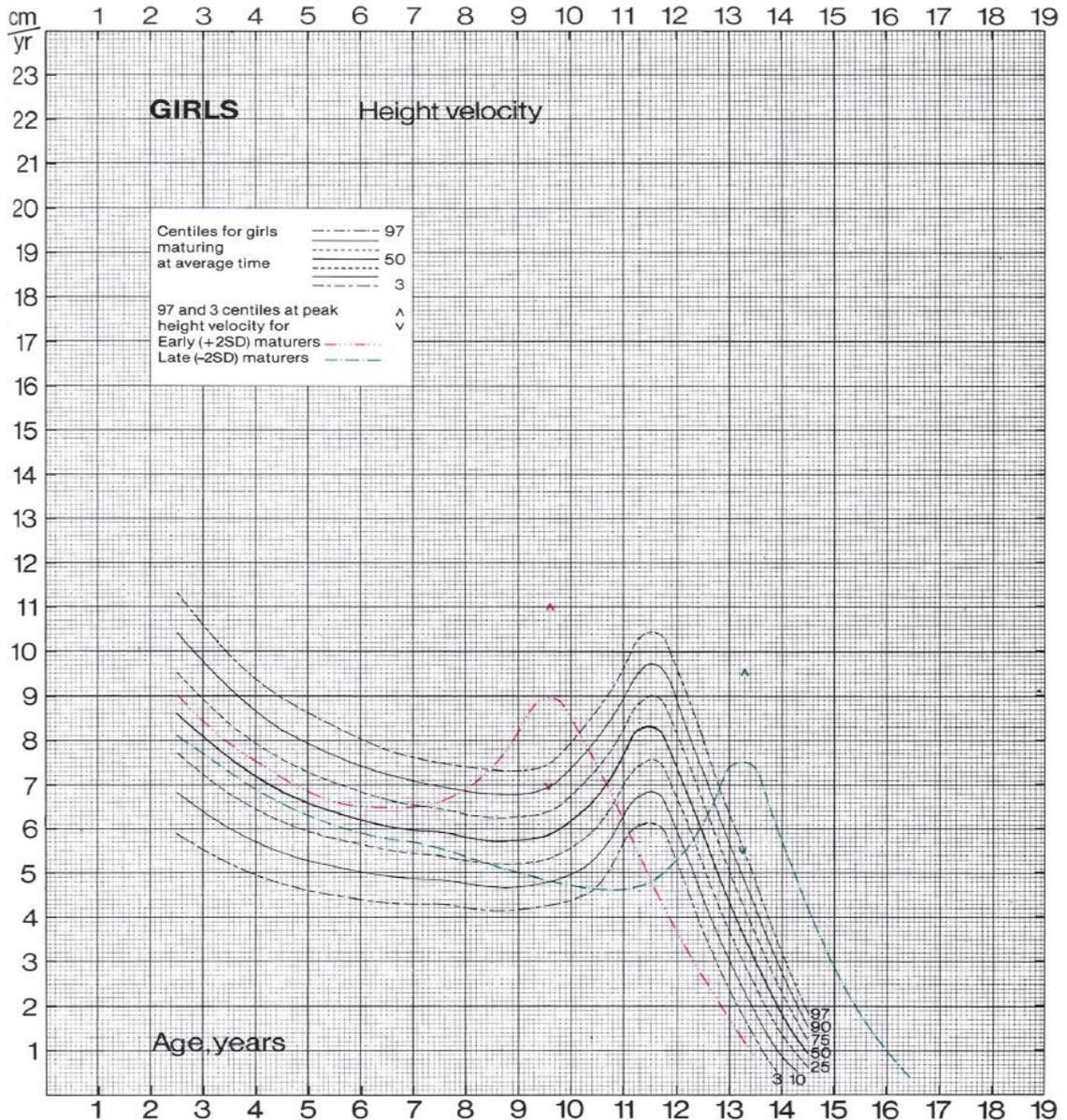
TANNER, J. M.; DAVIES, P. S. W. Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children. *The Journal of Pediatrics*, 1985.

ANEXO 2 – GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO EM MENINAS



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares
 Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 2 - GRÁFICO DE VELOCIDADE DE CRESCIMENTO (MENINAS)



TANNER, J. M.; DAVIES, P. S. W. Clinical longitudinal standards for height and height velocity for North American children. *The Journal of Pediatrics*, 1985.

ANEXO 3 – ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER EM MENINAS



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 3 - ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER (MENINAS)

MAMAS		PÊLOS PUBIANS	
	M1 – Mamas infantis		P1 – Fase de pré-adolescência (não há pelagem)
	M2 – de 8 a 13 anos Fase do broto mamário (elevação da mama e da aréola como pequeno montículo)		P2 – de 9 a 14 anos Presença de pêlos longos, macios, ligeiramente pigmentados, ao longo dos grandes lábios
	M3 – de 10 a 14 anos Maior aumento da mama, sem separação dos contornos		P3 – de 10 a 14 anos e ½ Pêlos mais escuros, ásperos, sobre o púbis
	M4 – de 11 a 15 anos Projeção da aréola e das papilas para formar uma segunda saliência acima do nível da mama		P4 – de 11 a 15 anos Pelagem do tipo adulto, mas a área coberta é consideravelmente menor que no adulto
	M5 – de 13 a 18 anos Fase adulta, com saliência somente nas papilas		P5 – de 12 a 16 anos e ½ Pelagem do tipo adulto, cobrindo todo o púbis e a virilha

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde integral de adolescentes e jovens : orientações para a organização de serviços de saúde.** 1ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

ANEXO 4 – ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER EM MENINOS



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 4 - ESTÁGIO PUBERAL DE TANNER (MENINOS)

GENITÁLIA		PÊLOS PUBIANOS	
	G1 – Pré-adolescência		P1 – Fase da pré-adolescência (não há pelugem)
	G2 – de 9 a 14 anos Aumento da bolsa escrotal e dos testículos, sem aumento do pênis		P2 – de 11 a 15 anos e ½ Presença de pêlos longos, finos, ligeiramente pigmentados, principalmente na base do pênis
	G3 – de 10 e ½ a 15 anos Aumento do pênis, inicialmente em comprimento. Continua o crescimento da bolsa escrotal e dos testículos		P3 – de 11 e ½ a 16 anos Pêlos mais escuros encaracolados distribuindo-se na região pubiana
	G4 – de 11 e ½ a 16 anos Aumento do diâmetro do pênis e da glândula. Continua o crescimento dos testículos e da bolsa escrotal, cuja pele escurece		P4 – de 12 a 16 anos e ½ Pelugem do tipo adulto, mas a área coberta é consideravelmente menor que no adulto
	G5 – de 12 e ½ a 17 anos Tipo adulto		P5 – de 15 a 17 anos Pelugem do tipo adulto, estendendo-se até a face interna das coxas

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Saúde integral de adolescentes e jovens : orientações para a organização de serviços de saúde.** 1ª ed. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

ANEXO 5 – SEMANAS DE GESTAÇÃO E PESO AO NASCER PARA DEFINIÇÃO DE FIG





 Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares

 Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 5 – SEMANAS DE GESTAÇÃO E PESO AO NASCER PARA DEFINIÇÃO DE FIG



**CRESCIMENTO GESTACIONAL E IDADE GESTACIONAL SEGUNDO
 BATAGLIA E LUBCHENCO, 1967**

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. DEPARTAMENTO DE AÇÕES PROGRAMÁTICAS E ESTRATÉGICAS. **Manual AIDPI Neonatal**. 5. ed. Brasília: [s.n.].

ANEXO 6 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA CÁLCULO DO ESCORE Z DO IGF-1 E IGFBP-3



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

ANEXO 6 – VALORES DE REFERÊNCIA PARA CÁLCULO DO ESCORE Z DO IGF1 E IGFBP3

CÁLCULO DO Z ESCORE:

(Medida do paciente – média do valor para idade e sexo dos normais) ÷ Desvio Padrão (DP) do valor para idade e sexo dos normais.

1. Referência para cálculo do escore Z do IGF-1 na faixa etária de 0 a 18 anos.

: Revisão dos Intervalos de Referência Pediátricos (ng/mL) para o IGF-I IMMULITE 2000/XPI .

Idade	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	95% de intervalo
0-3	Masculino	48*	44.0	42.53	<15.0 - 129
4-6		39	96.0	42.51	22.0 - 208
7-9		54	132	38.23	40.1 - 255
10-11		58	177	48.57	68.7 - 316
12-13		51	305	98.40	143 - 506
14-15		48	322	70.82	177 - 507
16-18		47	284	68.89	173 - 414
0-3	Feminino	56*	68.0	53.49	18.2 - 172
4-6		42	105	35.14	35.4 - 232
7-9		48	139	42.43	56.9 - 277
10-11		54	248	106.16	118 - 448
12-13		46	323	91.80	170 - 527
14-15		58	317	60.34	191 - 496
16-18		49	291	63.08	190 - 429

* Nota: Quando recalculando os intervalos, 3 amostras (2 masculinos e 1 feminino) foram removidas do conjunto de dados originais os valores foram iguais a 0.

2. Referência para cálculo do escore Z do IGF-1 na faixa etária de 20 a 90 anos.

Revisão dos Intervalos de Referência Adultos (ng/mL) para o IGF-I IMMULITE 2000/XPI IGF-

Idade	N	Média	Desvio Padrão	95% de Intervalo
19-21	42	207	49.77	117 - 323
22-24	48	175	57.56	98.7 - 289
25-29	42	160	75.89	83.6 - 259
30-34	40	136	41.89	71.2 - 234
35-39	40	126	37.19	63.4 - 223
40-44	40	122	34.77	58.2 - 219
45-49	40	120	30.04	53.3 - 215
50-54	41	108	33.26	48.1 - 209
55-59	43	108	34.74	44.7 - 210
60-64	43	112	30.72	43.0 - 220
65-69	74	110	46.93	40.2 - 225
70-79	69	92.0	41.44	35.1 - 216
80-90	57	94.1	62.58	30.6 - 208



Universidade Federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

3. Referência para cálculo do escore Z do IGF-1 para os estágios de Tanner:

: Revisão dos Intervalos de Referência para Estágios de Tanner (ng/mL) para o IGF-I do IMMULITE 2000/XPI.

Estágio de Tanner	Sexo	N	Média	Desvio Padrão	95% de Intervalo
1	Masculino	73	144	50.02	63.2 - 271
2		42	240	84.91	114 - 411
3		49	298	75.91	166 - 510
4		46	290	71.91	170 - 456
5		39	257	67.84	161 - 384
1	Feminino	42	186	103.91	71.4 - 394
2		40	288	85.58	122 - 508
3		52	329	74.52	164 - 545
4		50	319	72.36	174 - 480
5		51	274	69.56	169 - 400

FONTE: Trindade N.A. Notificação aos Cliente Usuários dos Sistemas IMMULITE® IMC 18-03 (IMC 18-03-OUS) Siemens Healthcare Diagnósticos S.A.. Novembro/2017



Universidade federal de Juiz de Fora – campus Governador Valadares



Projeto de Pesquisa: Avaliação do Crescimento de Indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares

4. Referência para cálculo do escore Z do IGFBP-3 de 1 a 17 anos.

Média e desvio padrão (*standard deviation* – SD) para os níveis de IGFBP-3 (mcg/ml) em crianças de 1 a 17 anos.

Age (yr)	Boys						Girls					
	n	-2SD	-1SD	Mean	1SD	2SD	n	-2SD	-1SD	Mean	1SD	2SD
1	10	0.05	0.65	1.25	1.85	2.45	10	0.27	0.92	1.57	2.22	2.87
2	12	0.34	1.04	1.74	2.44	3.14	11	0.46	1.23	2.00	2.77	3.54
3	13	0.36	1.30	2.24	3.18	4.12	10	0.73	1.50	2.27	3.04	3.81
4	12	0.50	1.40	2.30	3.20	4.10	12	0.46	1.42	2.38	3.34	4.30
5	16	1.47	2.27	3.07	3.87	4.67	11	0.51	1.77	3.03	4.29	5.55
6	20	1.06	2.12	3.18	4.24	5.30	15	0.94	2.30	3.66	5.02	6.38
7	15	1.07	2.19	3.31	4.43	5.55	15	1.33	2.55	3.77	4.99	6.21
8	21	1.79	2.68	3.57	4.46	5.35	17	1.06	2.49	3.92	5.35	6.78
9	21	1.85	2.86	3.87	4.88	5.89	15	2.54	3.61	4.68	5.75	6.82
10	16	1.68	2.73	3.78	4.83	5.88	17	2.18	3.41	4.64	5.87	7.10
11	18	1.69	3.18	4.67	6.16	7.65	18	2.07	3.46	4.85	6.24	7.63
12	19	2.20	3.61	5.02	6.43	7.84	20	2.08	3.70	5.32	6.94	8.56
13	23	1.94	3.55	5.16	6.77	8.38	21	2.24	3.87	5.50	7.13	8.76
14	23	2.67	4.13	5.59	7.05	8.51	22	2.67	4.12	5.57	7.02	8.47
15	24	3.30	4.66	6.02	7.38	8.74	20	3.00	4.59	6.18	7.77	9.36
16	19	3.36	4.81	6.26	7.71	9.16	16	2.44	4.14	5.84	7.54	9.24
17	21	1.93	3.82	5.71	7.60	9.49	18	2.59	3.89	5.19	6.49	7.79

5. Referência para cálculo do escore Z do IGFBP-3 de 18 a 34 anos.

Média e desvio padrão (*standard deviation* – SD) para os níveis de IGFBP-3 (mcg/ml) em indivíduos de 18 a 34 anos.

Years	n	2.5th	50th	95th	97.5th	-2SD	-1SD	Mean	1SD	2SD	DP
18–24	57	3.20	5.46	7.58	7.72	2.86	4.09	5.32	6.55	7.78	1,23
25–29	62	3.13	4.95	6.83	6.85	2.97	4.00	5.03	6.06	7.09	
30–34	59	3.17	4.71	6.32	6.35	2.87	3.78	4.69	5.60	6.51	

FONTE:

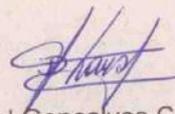
GUVEN, B. *et al.* Reference values for serum levels of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and IGF-binding protein 3 (IGFBP-3) in the West Black Sea region of Turkey. **Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation**, v. 73, n. 2, p. 135–140, 1 mar. 2013.

ANEXO 7 – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISACOMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

DECLARAÇÃO

Belo Horizonte, 21 de novembro de 2019.

Declaro que o projeto de pesquisa “Avaliação do Crescimento de indivíduos com Anemia Falciforme: aspectos endócrinos, bioquímicos e moleculares”, coordenado pela pesquisadora Cibele Velloso Rodrigues, foi **APROVADO** em 22/05/2018 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas.



Daniel Gonçalves Chaves
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Hemominas

Daniel Gonçalves Chaves

Coordenação do Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Hemominas

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Alameda Ezequiel Dias, 321 – Santa Efigênia – Belo Horizonte – MG – CEP 30130-110
e-mail: cep@hemominas.mg.gov.br – Tel: 3768-4587