

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Síndromes Falciformes: Caracterização, Diagnóstico e Terapêutica

Antónia Silva Guerra

Monografia orientada pela Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva, Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2022

Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia



Síndromes Falciformes: Caracterização, Diagnóstico e Terapêutica

Antónia Silva Guerra

**Trabalho Final de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Monografia orientada pela Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva, Professora Auxiliar da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa.

2022

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, em primeiro lugar, à Professora Doutora Isabel Bettencourt Moreira da Silva que aceitou orientar a minha monografia. Por toda a simpatia, disponibilidade e atenção. Agradecer-lhe todos os esclarecimentos, conselhos e sugestões que foram fulcrais para que este projeto fosse possível.

À minha família, que sempre me incentivou e motivou a ultrapassar os desafios do meu percurso académico. Por todo o apoio e pela compreensão, ao serem privados de muitos momentos da minha companhia. Um obrigado nunca vai chegar por tudo o que me proporcionaram e ajudaram a concretizar.

Ao Jorge, pela paciência, compreensão, ternura e apoio incansável. Obrigada pelo amor e pela confiança que depositas em mim.

Um agradecimento especial às minhas companheiras de curso e amigas para a vida, Carolina Martins, Helena Pinheiro, Inês Monteiro, Leonor Lago, Mafalda Martinho e Margarida Melo, pela amizade, companheirismo, entreadajuda e bons momentos partilhados ao longo destes cinco anos.

A todos os meus amigos e colegas que contribuíram para as boas memórias, pelo apoio e compreensão nesta fase tão importante.

À Orquestra Académica da Universidade de Lisboa por todos os ensaios e concertos que serviam como refúgio e pelas amizades criadas.

A todos aqueles que em alguma forma me deram força para continuar, o meu muito obrigado a todos vós.

Resumo

As Síndromes Falciformes incluem as hemoglobinopatias em que a mutação falciforme pode ser herdada com outra mutação do gene que codifica a β -globina. Dentro destas podemos encontrar portadores de hemoglobina S ou pessoas com a doença falciforme.

A doença falciforme é uma doença hematológica que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Na doença falciforme, os glóbulos vermelhos apresentam forma anormal (forma falciforme) e interrompem o fluxo sanguíneo normal, causando vaso-oclusão. Como consequência, surge isquemia e inflamação, associado a sintomas característicos da doença como crises dolorosas.

Recentemente, surgiram novas opções terapêuticas farmacológicas como a L-glutamina, o voxelotor e o crizanlizumab como alternativa à hidroxiureia e numa tentativa de diminuir a frequência das transfusões sanguíneas. O transplante de células estaminais hematopoiéticas e, mais recentemente, a terapia genética, constituem as únicas abordagens terapêuticas curativas.

Os métodos de diagnóstico atualmente utilizados são acessíveis nos países desenvolvidos, mas menos acessíveis nos países em vias de desenvolvimento, o que acaba por ser uma barreira ao diagnóstico precoce da doença. Estão a ser desenvolvidas técnicas inovadoras que possam estar mais acessíveis a todos. O rastreio neonatal da Drepanocitose, já implementado em vários países, após um estudo piloto em Lisboa e Setúbal, foi alargado a todo o nosso país, desde fevereiro de 2022, com vista a aferir a necessidade de incluir a drepanocitose no painel das doenças abrangidas pelo Programa Nacional de Rastreio Neonatal.

Palavras-chave: Síndromes Falciformes; Doença Falciforme; Fisiopatologia; Terapêutica Farmacológica; Diagnóstico.

Abstract

Sickle Cell Syndromes include hemoglobinopathies in which the sickle cell mutation can be inherited with another mutation in the gene that encodes β -globin. Within these we can find people with sickle cell traits or with sickle cell disease.

Sickle cell disease is a hematological disease that affects millions of people worldwide. In sickle cell disease, red blood cells have an abnormal shape (sickle-shaped) and interrupt the normal blood flow, causing vaso-occlusion. As a result, ischemia and inflammation appear, associated with characteristic symptoms of the disease, such as painful crises.

Recently, several new therapeutic options have emerged such as L-glutamine, voxelotor and crizanlizumab as an alternative to hydroxyurea and in an attempt to reduce the frequency of blood transfusions. Hematopoietic stem cell transplantation and, more recently, gene therapy constitute the only curative therapeutic approaches.

The diagnostic methods currently used are accessible in developed countries, but less accessible in developing countries, which turns out to be a barrier to early diagnosis of the disease. Innovative techniques that can be more accessible to all are being developed. The neonatal screening for sickle cell disease, already implemented in several countries, after a pilot study in Lisbon and Setúbal was extended to the whole country, since February 2022, in order to assess the need to include sickle cell disease in the panel of diseases covered by the National Neonatal Screening Program.

Keywords: Sickle Cell Syndromes; Sickle Cell Disease; Pathophysiology; Pharmacological Therapy; Diagnosis.

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

AF – Anemia Falciforme

ALA - Ácido δ -aminolevulínico

ARNm - Ácido ribonucleico mensageiro

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CO₂ - Dióxido de carbono

COPIII - Coproporfirinogénio III

FDA - *Food and Drug Administration*

Fe³⁺ - Ferro férrico

Fe²⁺ - Ferro ferroso

FEI - Focagem isoelétrica

Glu - Ácido Glutâmico

GSH - Glutathiona

GV – Glóbulos Vermelhos

H₂O₂ - Peróxido de Hidrogénio

Hb – Hemoglobina

HBB - Gene que codifica a β -globina

Hb AS – Portador de Hemoglobina S

Hb SS – Anemia Falciforme ou Drepanocitose

Hb SC – Hemoglobinopatia SC

HLA - Antígeno Leucocitário Humano

HPLC - Cromatografia líquida de alta eficiência

HU – Hidroxiureia

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

K⁺ - Potássio

Lys - Lisina

NADH - Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina

NADPH oxidase – Fosfato de Dinucleótido de Nicotinamida e Adenina oxidase

NET - Armadilhas Extracelulares de Neutrófilos

NO - Óxido Nítrico

NO₃⁻ - Nitrato

O₂ – Oxigénio

OH• - Radical Livre Hidroxilo

OMS - Organização Mundial de Saúde

PALOP - Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa

ROS – Espécies Reativas de Oxigénio

SF – Síndromes Falciformes

STA – Síndrome Torácica Aguda

TCEH - Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas

TLR4 - Recetor Tool-Like 4

Va - Valina

XO – Xantina Oxidase

α – Alfa

β – Beta

δ - Delta

ε – Épsilon

γ – Gama

ζ – Zeta

Índice

1.	INTRODUÇÃO	10
2.	OBJETIVOS.....	12
3.	MATERIAIS E MÉTODOS DE PESQUISA.....	13
4.	HEMOGLOBINA.....	14
4.1.	ESTRUTURA DA HEMOGLOBINA	14
4.2.	BIOSSÍNTESE DA HEMOGLOBINA	15
4.3.	FUNÇÕES DA HEMOGLOBINA.....	16
4.4.	VALORES DE REFERÊNCIA DA HEMOGLOBINA.....	17
4.5.	ONTOGENIA DA HEMOGLOBINA	18
5.	HEMOGLOBINOPATIAS.....	20
5.1.	CLASSIFICAÇÃO	20
5.2.	EPIDEMIOLOGIA.....	20
6.	SÍNDROMES FALCIFORMES:	23
6.1.	PORTADOR DE HB S	24
6.2.	DOENÇA FALCIFORME.....	26
6.2.1.	<i>Anemia Falciforme</i>	26
6.2.1.1.	Epidemiologia	26
6.2.1.2.	Etiologia e Fisiopatologia	26
6.2.1.3.	Características Clínicas.....	28
6.2.1.4.	Terapêutica Farmacológica	29
6.2.1.5.	Transmissão Genética	35
6.2.2.	<i>Hemoglobinopatia SC</i>	37
6.2.2.1.	Epidemiologia	37
6.2.2.2.	Etiologia e Fisiopatologia	37
6.2.2.3.	Características Clínicas.....	38
6.2.2.4.	Terapêutica Farmacológica	39
6.2.2.5.	Transmissão Genética	41
6.2.3.	<i>Hemoglobinopatia S/β-talassemia</i>	42
6.2.3.1.	Epidemiologia	42
6.2.3.2.	Etiologia e Fisiopatologia	42
6.2.3.3.	Características Clínicas.....	43
6.2.3.4.	Terapêutica Farmacológicas.....	43
6.2.3.5.	Transmissão Genética	44
7.	DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	45
8.	RASTREIO DE SÍNDROMES FALCIFORMES.....	48

9. O AUTOCUIDADO NA DOENÇA FALCIFORME	49
10. CONCLUSÃO E PERSPETIVAS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

Índice de Figuras:

FIGURA 1. (A) ESTRUTURA QUATERNÁRIA DA HEMOGLOBINA. (B) ESTRUTURA DO HEME.	14
FIGURA 2. BIOSÍNTESE DO HEME.	15
FIGURA 3. ESTRUTURA DOS GENES <i>A</i> -GLOBÍNICOS E <i>B</i> -GLOBÍNICOS, NOS CROMOSSOMAS 16 E 11, RESPECTIVAMENTE, NO SER HUMANO	16
FIGURA 4. TRANSIÇÃO DE HEMOGLOBINA TENSA PARA HEMOGLOBINA RELAXADA.	16
FIGURA 5. CURVA DE ASSOCIAÇÃO/DISSOCIAÇÃO DE HEMOGLOBINA-OXIGÉNIO.	17
FIGURA 6. EXPRESSÃO DOS GENES DE GLOBINA DESDE O DESENVOLVIMENTO FETAL ATÉ AO PRIMEIRO ANO DE VIDA.	18
FIGURA 7. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE HEMOGLOBINOPATIAS.	21
FIGURA 8. DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE HEMOGLOBINOPATIAS EM PORTUGAL. (A) PREVALÊNCIA DE PORTADORES DE B-TALASSEMIA. (B) PREVALÊNCIA DE PORTADORES DE HEMOGLOBINA S.	21
FIGURA 9. TRANSMISSÃO GENÉTICA DE UM CASAL DE PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME.	24
FIGURA 10. ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO GENE <i>HBB</i> . (A) PESSOA COM GENÓTIPO <i>HBB/HBB</i> . (B) PESSOA COM GENÓTIPO DE ANEMIA FALCIFORME.	26
FIGURA 11. FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME. (A) POLIMERIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA S. (B) VASO-OCCLUSÃO. (C) DISFUNÇÃO ENDOTELIAL. (D) INFLAMAÇÃO.	27
FIGURA 12. HERANÇA GENÉTICA DE UM CASAL DE PORTADORES DE HEMOGLOBINA S.	36
FIGURA 13. HERANÇA GENÉTICA DE UM CASAL EM QUE UM ELEMENTO É PORTADOR DE HEMOGLOBINA S.	36
FIGURA 14. ALTERAÇÕES GENÉTICAS NO GENE <i>HBB</i> . (A) PESSOA COM GENÓTIPO <i>HBB/HBB</i> . (B) PESSOA COM GENÓTIPO Hb SC.	37
FIGURA 15. HERANÇA GENÉTICA DA HEMOGLOBINOPATIA SC.	41
FIGURA 16. HERANÇA GENÉTICA DA HEMOGLOBINOPATIA S/B-TALASSEMIA.	44
FIGURA 17. IMUNOENSAIO DE FLUXO LATERAL PARA DETETAR SÍNDROMES FALCIFORMES. (A) HEMOGLOBINA NORMAL (Hb AA). (B) PORTADOR DE HEMOGLOBINA S (Hb AS). (C) ANEMIA FALCIFORME (Hb SS). (D) PORTADOR DE HEMOGLOBINOPATIA C (Hb AC). (E) HEMOGLOBINOPATIA SC (Hb SC).	47

Índice de Tabelas:

TABELA 1. VALORES DE REFERÊNCIA DE HEMOGLOBINA.	18
TABELA 2. HEMOGLOBINAS HUMANAS DURANTE A ONTOGENIA DO SER HUMANO.	19
TABELA 3. VARIANTES DAS SÍNDROMES FALCIFORMES.	23

1. Introdução

A hemoglobina (Hb) é a proteína responsável pelo transporte de oxigénio (O₂) para os tecidos e é constituída por quatro subunidades de globina que circundam o grupo heme. (1) Consoante o estadio de desenvolvimento humano, a percentagem de cada tipo de Hb varia. Os eritrócitos de um adulto normal apresentam uma grande percentagem de Hb A e apresentam, ainda, Hb A₂ e Hb F. (2)

As hemoglobinopatias são doenças monogénéticas hereditárias que surgem devido a alterações na produção de Hb. Dentro das hemoglobinopatias, destacamos as Síndromes Falciformes devido às características clínicas e à sua elevada prevalência. (3)

As Síndromes Falciformes englobam as hemoglobinopatias em que a mutação falciforme (Hb S) pode ser herdada concomitantemente com outra mutação do gene que codifica a β -globina (gene *HBB*). (4)

A Anemia Falciforme ou Drepanocitose é a hemoglobinopatia mais comum e também a forma mais severa da doença falciforme. (5) Trata-se de uma doença hereditária que surge devido a uma mutação, na sexta posição do gene *HBB*, que determina a substituição do ácido glutâmico por uma valina. As manifestações clínicas da doença devem-se ao facto de a Hb S, uma hemoglobina anormal, polimerizar e deformar os glóbulos vermelhos, fazendo com que adquiram forma falciforme. (6)

Uma grande percentagem da população mundial é portadora de hemoglobina S. Apesar de estas pessoas não apresentarem manifestações clínicas significativas, há possibilidade de virem a ter filhos com Anemia Falciforme. Assim sendo, é de extrema importância que tenham acompanhamento ao nível do planeamento familiar. (7,8)

Além da Anemia Falciforme, existem outras formas de doença falciforme como a hemoglobinopatia SC, hemoglobinopatia S/ β talassemia, entre outras. (9) A hemoglobinopatia SC é a segunda doença falciforme mais comum, seguindo-se a hemoglobinopatia S/ β talassemia. (10)

A hemoglobinopatia SC surge devido à co-herança da Hb S e da Hb C, no gene *HBB*. Nesta hemoglobinopatia, verifica-se a substituição do ácido glutâmico por uma valina e a substituição do ácido glutâmico por uma lisina, respetivamente. (11)

A classificação da hemoglobinopatia S/ β -talassemia depende da produção ou não da cadeia de β -globina. No caso de não haver síntese da mesma, os doentes apresentam genótipo

Hb S/ β^0 -talassemia e a apresentação clínica da doença é semelhante à da Anemia Falciforme. Caso haja síntese da cadeia de β -globina, os doentes apresentam genótipo Hb S/ β^+ -talassemia e a apresentação clínica assemelha-se à dos doentes que apresentam hemoglobinopatia SC. (12)

As manifestações clínicas da doença falciforme estão relacionadas com fenômenos de polimerização da Hb S, vaso-oclusão, disfunção endotelial e inflamação. Neste sentido, foram desenvolvidos fármacos que atuam na fisiopatologia da doença. Até 2017, a hidroxiureia era o único fármaco aprovado que permitia reduzir as complicações da doença. Mais recentemente, surgiram fármacos como L-glutamina, crizanlizumab e voxelotor que vieram aumentar o espectro de alternativas terapêuticas para esta doença. (13)

As transfusões sanguíneas podem ser utilizadas para prevenir complicações decorrentes da Anemia Falciforme. Atualmente, o transplante de células estaminais hematopoiéticas é a única terapia curativa disponível. (14) Diversos ensaios clínicos têm mostrado resultados de sucesso da terapia genética na doença falciforme, podendo esta ser a próxima terapia curativa disponível para a doença num futuro muito próximo. (15)

Os métodos de diagnóstico que são utilizados na doença falciforme exigem equipamentos e instalações de laboratório que, por serem dispendiosos, não estão acessíveis a toda a população mundial. A falta de diagnóstico e tratamento precoce pode levar a um aumento da mortalidade infantil. Assim, torna-se extremamente importante que, além dos métodos de diagnóstico convencionais, haja desenvolvimento de técnicas inovadoras que possam estar acessíveis a todos. (16,17)

2. Objetivos

Esta monografia tem como objetivo fazer uma revisão bibliográfica e abordar os conhecimentos mais recentes no âmbito das Síndromes Falciformes focando, em particular, a epidemiologia, a etiologia e a fisiopatologia, a caracterização, o diagnóstico, a terapêutica e a transmissão genética das mesmas. Dentro das Síndromes Falciformes é dada ênfase à Anemia Falciforme, à hemoglobinopatia SC, à hemoglobinopatia S/ β -talassemia e ao portador de hemoglobina S. Além disso, esta monografia também pretende consciencializar acerca da importância do rastreio de Síndromes Falciformes, bem como da importância do autocuidado na doença falciforme.

3. Materiais e Métodos de Pesquisa

Para realizar esta monografia foi feita uma revisão bibliográfica recorrendo a diversas fontes bibliográficas. Primeiramente, realizou-se uma análise abrangente com o objetivo de esclarecer o tema. Para isso, recorreu-se a livros de Hematologia que abordam as hemoglobinopatias e, em particular, as Síndromes Falciformes. Para além disso, analisaram-se diversos artigos da área, tendo sido privilegiada a informação mais recente de forma a refletir o estado da arte.

A monografia foi organizada de forma a clarificar, em primeiro lugar, a estrutura da molécula de hemoglobina e, de seguida, incidir na caracterização, no diagnóstico e na terapêutica das Síndromes Falciformes.

A informação foi consultada em bases de dados e *websites* que permitiram aceder a artigos e revistas científicas como, por exemplo, *PubMed*, *UpToDate*, *Springer*, *European Medicines Agency (EMA)*, *Haematologica Journal*, *Blood Journal*, *Nature Journal*, *Google Scholar*, *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, Organização Mundial da Saúde (OMS), Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), Associação Portuguesa de Pais e Doentes com Hemoglobinopatias (APPDH), entre outros.

Os conceitos explorados durante as pesquisas incluem “*sickle cell syndromes*”, “*sickle cell disease*”, “*sickle cell trait*”, “*sickle cell anemia*”, “*SC hemoglobinopathy*”, “*S/β-thalassemia hemoglobinopathy*” associados a “*epidemiology*”, “*pathophysiology*”, “*clinical manifestations*”, “*pharmacological therapy*” e “*genetic transmission*”. A pesquisa incluiu, ainda, termos como “*hemoglobin*”, “*hemoglobinopathies*”, “*diagnosis in sickle cell disease*”, “*sickle cell disease screening*” e “*self-care in sickle cell disease*”.

4. Hemoglobina

Em 1840, Friedrich Ludwig Hünefeld descobriu acidentalmente a Hb e, por volta de 1870, Claude Bernard descobriu o seu papel no transporte de O₂. Em 1959, Max Perutz e John Kendrew revelaram a estrutura tridimensional detalhada da Hb, por cristalografia de raios-X. Esta revelação conferiu-lhes a atribuição do Prémio Nobel de Química, em 1962. (1,18)

Etimologicamente, a palavra hemoglobina deriva do Grego *haima* (sangue) e do Latim *globus* (bola). Cada eritrócito contém cerca de 200 a 300 milhões de moléculas de Hb. (19)

4.1. Estrutura da Hemoglobina

A Hb é uma proteína de 64,5 kDa que é constituída por quatro subunidades de globina, duas α e duas não- α (β , γ , δ ou ϵ), ligadas entre si por ligações não covalentes e apresenta uma estrutura quaternária (**Figura 1.A**). Cada subunidade é constituída por uma parte proteica (globina) e por um grupo prostético (heme). (20–22)

As cadeias α e β são compostas por 141 e 146 aminoácidos, respetivamente, sendo que, a subunidade α é constituída por 7 hélices e a subunidade β por 8 hélices, denominadas A–H, que são unidas por segmentos não helicoidais. (23,24)

Cada subunidade tem um *pocket* para a ligação do heme. O heme consiste num ião ferroso, no centro de uma porfirina, que está coordenado por quatro átomos de azoto do anel de porfirina. (**Figura 1.B**). (24)

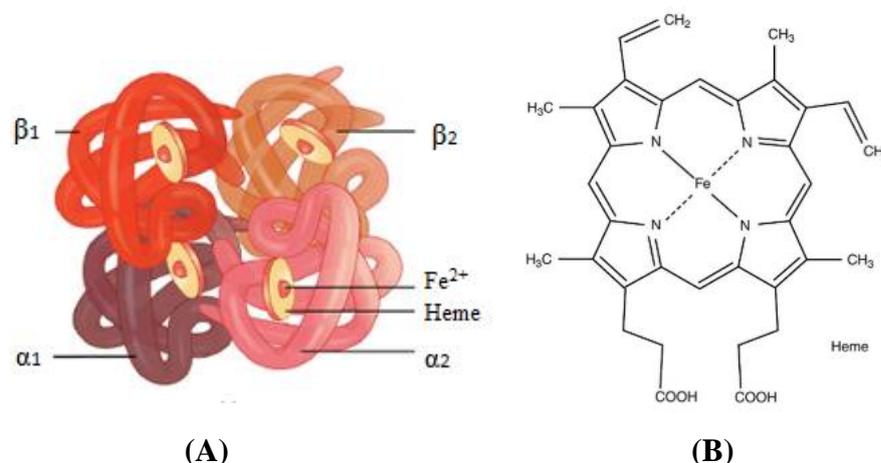


Figura 1. (A) Estrutura quaternária da hemoglobina. (B) Estrutura do heme. (Adaptado de (25))

4.2. Biossíntese da Hemoglobina

A síntese de Hb ocorre nas células precursoras de eritrócitos (eritroblastos), na medula óssea, e envolve a síntese de grupos heme e a síntese de cadeias polipeptídicas. (26)

A síntese do heme decorre ao longo de oito passos no citoplasma e na mitocôndria dos precursores eritrocitários. Inicialmente, na mitocôndria, dá-se a condensação de glicina com succinil coenzima-A. Desta reação resulta o ácido δ -aminolevulínico (ALA) que segue para o citoplasma e, por meio de diversas reações enzimáticas, é convertido em coproporfirinogênio III (COPIII). Este é depois transportado para a mitocôndria e convertido em protoporfirina IX (Figura 2). (27,28)

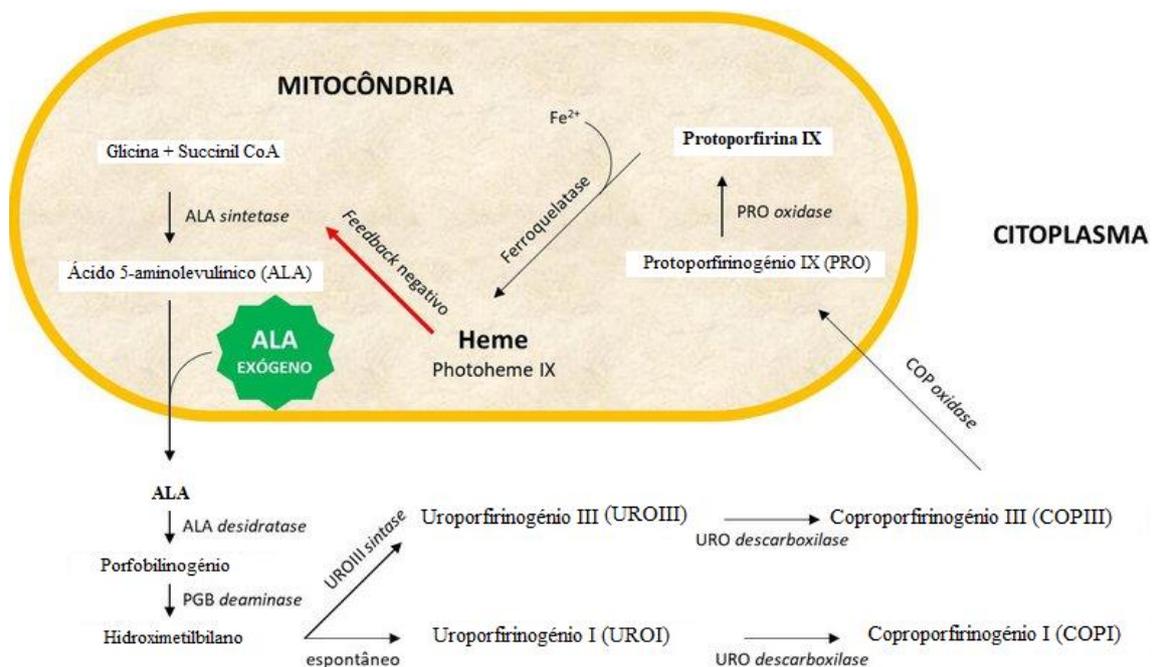


Figura 2. Biossíntese do heme. (Adaptado de (29))

Para a biossíntese do heme é necessário que o ferro esteja biodisponível nos eritroblastos. A transferrina transporta ferro férrico (Fe^{3+}) para os precursores eritrocitários. Posteriormente, o ferro ferroso (Fe^{2+}) entra na mitocôndria e, através da ação da ferroquelatase, liga-se à protoporfirina IX para formar o heme. (27)

Por sua vez, os polipéptidos de globina são sintetizados no citoplasma dos precursores eritrocitários, a partir de genes α -globínicos e β -globínicos, sendo que estes se localizam nos cromossomas 16 e 11, respetivamente. (19)

Como ilustra a **Figura 3**, o *cluster* de genes- α contém dois genes para as cadeias de α globina e o gene ζ . O *cluster* de genes- β contém o único gene para a cadeia de β globina e quatro genes globina-*like* adicionais - um gene ϵ , dois genes γ e um gene δ . (30)

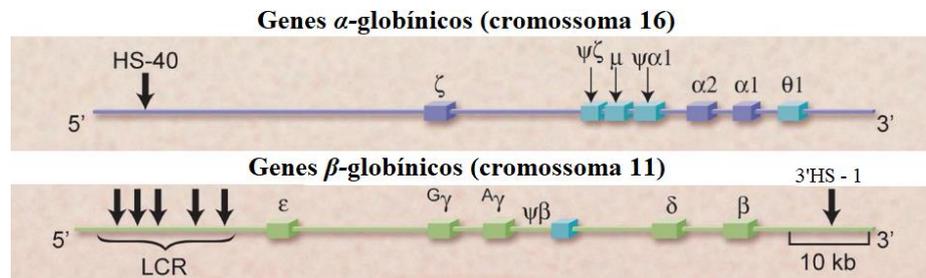


Figura 3. Estrutura dos genes α -globínicos e β -globínicos, nos cromossomas 16 e 11, respetivamente, no ser humano. (Adaptado de (2))

Para que ocorra a síntese de cadeias de globina, as sequências de ácido desoxirribonucleico (ADN) que codificam os genes destas cadeias são transcritas no núcleo do precursor eritrocitário, no sentido 5' para 3'. Assim, formam-se os respetivos ácidos ribonucleicos mensageiros (ARNm) que depois sofrem tradução nos ribossomas sendo, posteriormente, libertados no citoplasma. No final deste processo, serão produzidas as cadeias de globina às quais o heme se ligará. (26,30)

4.3. Funções da Hemoglobina

A Hb tem múltiplas funções. A sua principal função consiste em transportar O_2 para os tecidos, a partir dos pulmões. O O_2 liga-se de forma reversível ao heme e cada molécula de Hb pode transportar até quatro moléculas de O_2 . (19,25)

O transporte de O_2 pela Hb tem vindo a ser explicado, tendo por base o equilíbrio entre duas formas clássicas evidenciadas na **Figura 4** - a forma tensa e a forma relaxada. A forma tensa tem menor afinidade para o O_2 (desoxihemoglobina) e a forma relaxada tem uma grande afinidade para o O_2 (oxihemoglobina). (24,25)

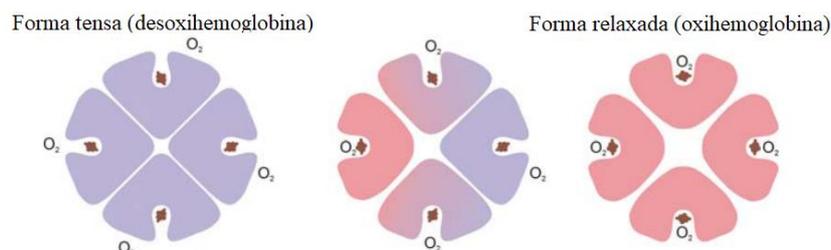


Figura 4. Transição de hemoglobina tensa para hemoglobina relaxada. (Adaptado de (19))

A **Figura 5** ilustra a curva de associação/dissociação Hb-O₂. Esta curva tem um perfil sigmoide que representa o efeito cooperativo entre as subunidades de globina na presença de O₂. Verificamos que quanto maior for a pressão parcial de O₂ maior será a saturação da Hb, ou seja, maior será a afinidade da Hb para o O₂. Contudo, esta afinidade pode ser modificada - deslocada para a direita ou para a esquerda - mediante vários fatores exógenos como, por exemplo, o pH sanguíneo, a temperatura, o dióxido de carbono (CO₂) e 2,3-difosfoglicerato. (19,23)

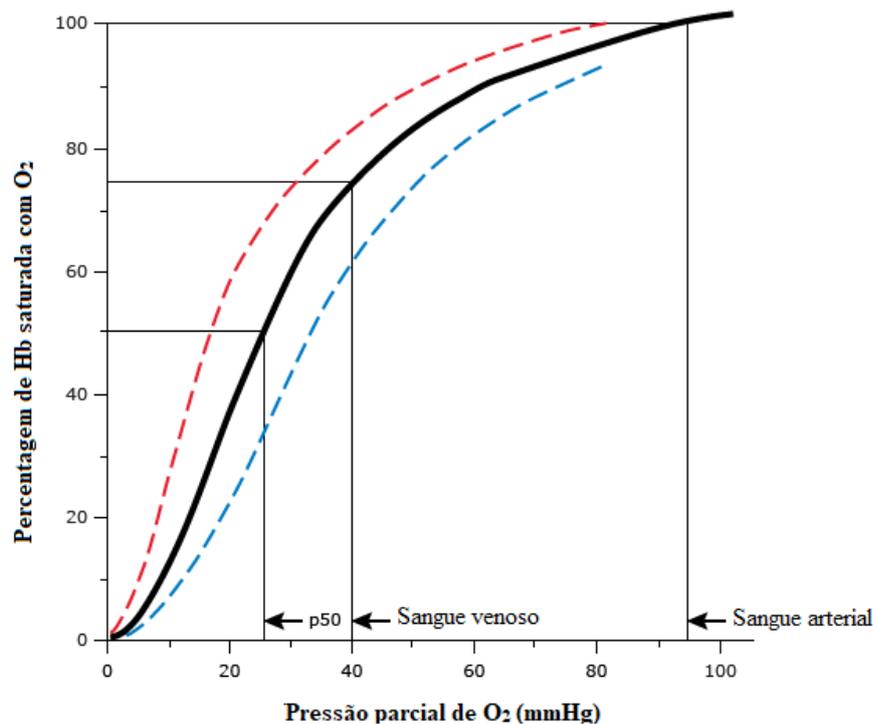


Figura 5. Curva de associação/dissociação de hemoglobina-oxigênio. (Adaptado de (23))

A Hb é, ainda, responsável pelo transporte do CO₂ dos tecidos para os pulmões e pode interagir com outros ligandos, como o monóxido de carbono e o óxido nítrico. Além disso, a Hb pode transportar fármacos para o seu local de ação. (19,23,25)

4.4. Valores de Referência da Hemoglobina

Os níveis normais de Hb foram definidos tendo em conta a distribuição de concentração de Hb numa grande amostra representativa de indivíduos saudáveis. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a Hb como um indicador padrão de boa saúde que varia de acordo com a idade, o género, a presença ou ausência de gravidez e a altitude do local da medição (**Tabela 1**). (31)

Tabela 1. Valores de referência de hemoglobina. (Adaptado de (31))

Idade/ Gênero	Valores de Referência de Hemoglobina (g/dL)
Recém-nascido	13,5 – 18,5
2 meses a 6 meses	9,5 – 13,5
6 meses a 6 anos	11,0 – 14,0
6 anos a 12 anos	11,5 – 15,5
Homens adultos	13,0 – 17,0
Mulheres não grávidas	12,0 – 15,0
Grávidas – 1º trimestre (0-12 semanas)	11,0 – 14,0
Grávidas – 2º trimestre (13-28 semanas)	10,5 – 14,0
Grávidas – 3º trimestre (29 semanas-nascimento)	11,0 – 14,0

4.5. Ontogenia da Hemoglobina

Ao longo do desenvolvimento do ser humano podemos identificar diversas combinações entre as cadeias de globina que originam seis tipos diferentes de hemoglobina. (2)

A **Figura 6** ilustra a expressão dos genes de globina durante as várias fases de desenvolvimento.

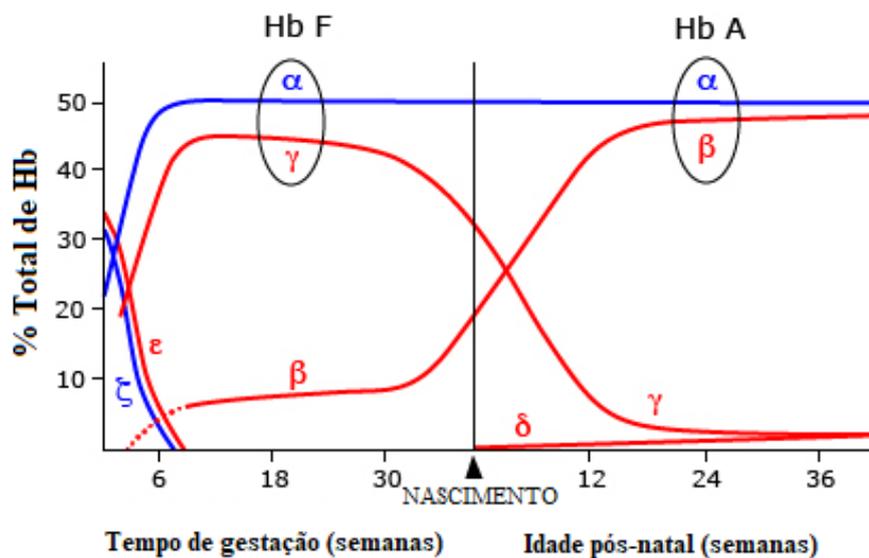


Figura 6. Expressão dos genes de globina desde o desenvolvimento fetal até ao primeiro ano de vida. (Adaptado de (32))

Ao longo do desenvolvimento, a produção de glóbulos vermelhos (GV) ocorre em diferentes locais. No início da vida embrionária os genes ϵ e ζ são expressos, primeiramente, no saco vitelino e na região para-aórtica do feto e, posteriormente, no fígado, resultando na formação das hemoglobinas Gower 1, Gower 2 e Portland. A Hb Gower 1 é constituída por duas cadeias de globina ζ e duas cadeias de globina ϵ ($\zeta_2\epsilon_2$). Por sua vez, a Hb Gower 2 é formada por duas cadeias de globina α e duas ϵ ($\alpha_2\epsilon_2$). A Hb Portland integra duas cadeias de globina ζ e duas γ ($\zeta_2\gamma_2$). (2,32,33)

Durante o desenvolvimento fetal verifica-se uma regulação negativa dos genes ϵ e ζ , seguida de um aumento da expressão dos genes α e γ . Tal facto faz com que haja um aumento de hemoglobina F nos dois últimos trimestres de gestação. (2)

A Hb F, por ter maior afinidade para o O_2 do que a Hb A, permite a transferência preferencial de O_2 da circulação materna para a circulação fetal. A Hb A é constituída por duas cadeias de globina α e duas β ($\alpha_2\beta_2$) e a Hb F é composta por duas cadeias de globina α e duas γ ($\alpha_2\gamma_2$). (2,34)

Aquando do nascimento, os genes α permanecem ativos, os genes γ sofrem uma regulação negativa e os genes β -like (δ e β) sofrem uma regulação positiva, o que se expressa numa diminuição da Hb fetal nos primeiros meses de vida. Assim, ao primeiro ano de vida a Hb A e a Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$) são predominantes. (2,32)

Nos eritrócitos de um adulto normal a Hb A, a Hb A2 e a Hb F são responsáveis por cerca de 97%, 2% e 1% das moléculas de proteína, respetivamente. (2)

A **Tabela 2** sumariza a constituição das hemoglobinas humanas nos diferentes estadios de desenvolvimento suprarreferidos.

Tabela 2. Hemoglobinas humanas durante a ontogenia do ser humano. (Adaptado de (2))

Estadio de Desenvolvimento da Hemoglobina	Embrionário	Fetal	Adulto
Hemoglobina	Hb Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$)		Hb A ($\alpha_2\beta_2$)
	Hb Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$)	Hb F (α_2^G ou $\alpha_2^A\gamma_2$)	Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$)
	Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$)		Hb F ($\alpha_2\gamma_2$)

5. Hemoglobinopatias

As hemoglobinopatias são doenças monogénicas hereditárias, de transmissão autossómica recessiva, que ocorrem devido à existência de mutações que afetam os genes responsáveis pela síntese das cadeias de globina da Hb ou as suas regiões regulatórias. (35,36)

5.1. Classificação

As hemoglobinopatias são classificadas em dois grupos principais - hemoglobinopatias quantitativas e hemoglobinopatias qualitativas. (37)

As hemoglobinopatias quantitativas caracterizam-se pela diminuição da síntese de Hb normal, o que origina anemia, devido à diminuição ou ausência da síntese de cadeias de globina. Este défice gera um desequilíbrio entre as cadeias α e β , levando à acumulação de um tipo de globina, em detrimento do outro. Os principais tipos de hemoglobinopatias quantitativas são a α -talassemia e a β -talassemia. (36,38)

Nas hemoglobinopatias qualitativas, a molécula de Hb sofre alteração na sequência de aminoácidos da cadeia de globina, originando variantes da Hb que podem ser silenciosas ou patológicas. As alterações podem ser mutações pontuais, deleções, inserções ou fusões que envolvem os genes de globina. Consequentemente, a estrutura da molécula de Hb é alterada e a sua função também se poderá alterar. Como exemplo de variantes estruturais da Hb temos a Hb S, Hb C, Hb D, Hb E, Hb Lepore, Hb O-Arab. (37)

5.2. Epidemiologia

As hemoglobinopatias são as doenças genéticas hereditárias mais comuns no mundo afetando, aproximadamente, 7% da população global. Anualmente, nascem 300 000 crianças com hemoglobinopatias muito graves, 83% com Anemia Falciforme (AF) e 17% com talassemias. (9,36,39,40)

Inicialmente, as hemoglobinopatias eram características do Médio Oriente, da Ásia e de África. No entanto, com a migração da população, difundiram-se por todo o mundo, tornando-se um problema de Saúde Pública global. (40) Atualmente, apresentam uma grande prevalência na região do Mediterrâneo, no Médio Oriente, no Subcontinente Indiano, no Sudeste Asiático, no Norte de África e em países do Norte da Europa e da América (**Figura 7**). (5)

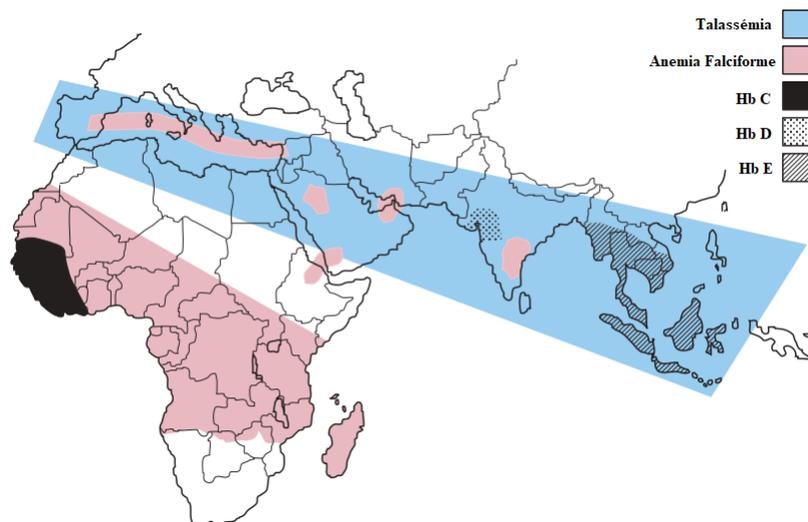


Figura 7. Distribuição geográfica de hemoglobinopatias. (Adaptado de (37))

Em Portugal, a distribuição de portadores de β -talassemia e de Hb S é assimétrica. Verifica-se uma maior prevalência nos distritos do Sul do país, que se deve ao facto destas regiões terem sido ocupadas por Árabes e escravos Africanos. (35,41)

Observa-se uma maior prevalência de portadores de β -talassemia na bacia do rio Mira e no Barlavento Algarvio (**Figura 8. (A)**). Por sua vez, há uma maior prevalência de portadores de Hb S no curso inferior do rio Tejo e nas bacias do rio Sado e Guadiana (**Figura 8. (B)**), regiões onde a Malária foi endémica. (35,42).

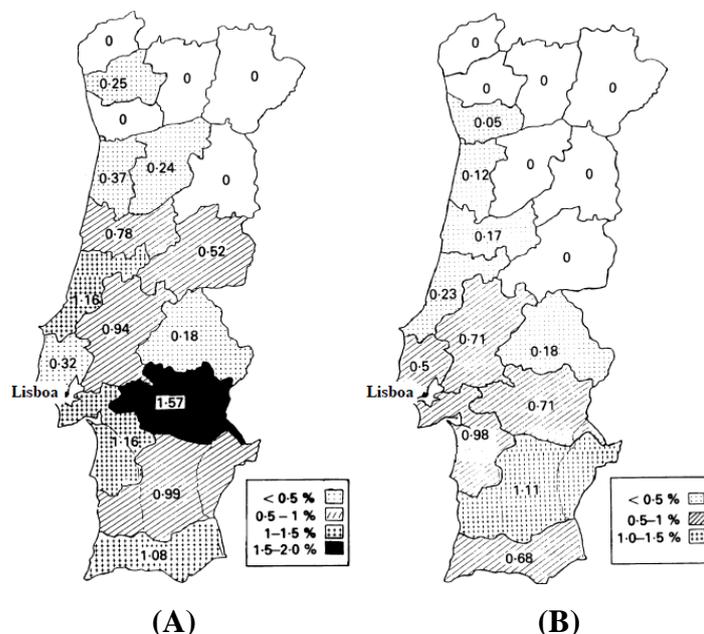


Figura 8. Distribuição geográfica de hemoglobinopatias em Portugal. (A) Prevalência de portadores de β -talassemia. (B) Prevalência de portadores de hemoglobina S. (Adaptado de (42))

Mais recentemente e devido aos fenómenos de migração populacional, nomeadamente dos Países Africanos de Língua Oficial Portuguesa (PALOP), do Brasil e do leste da Europa tem-se verificado que a presença de portadores de hemoglobinopatias constitui um problema que não é restrito a certas regiões devendo, por isso, ser considerado em todo o país. (35)

6. Síndromes Falciformes:

As Síndromes Falciformes (SF) incluem as hemoglobinopatias em que a mutação falciforme (Hb S) pode ser herdada concomitantemente com uma outra mutação do gene *HBB*. Como consequência, a estrutura da Hb altera-se e surgem diversas variantes da Hb. (4,37)

A **Tabela 3** ilustra várias SF que resultam da interação entre a Hb S herdada de um dos pais com outras hemoglobinopatias (como a Hb C e a β -talassemia), bem como a percentagem respectiva de cada variante da Hb. (43,44)

Tabela 3. Variantes das Síndromes Falciformes. (Adaptado de (43,44))

	Síndromes Falciformes	Eletroforese de Hemoglobina (%)				
		S	A	F	A2	Outras
Portador de Hb S	Hb AS	30-45	50-65	2-5	N	-
Doença Falciforme	Hb SS	80-95	-	2-20	N	-
	Hb SC	40-50	-	1-4		C: 40-50
	Hb S/ β^0 – talassemia	75-90	-	2-20	4-6	-
	Hb S/ β^+ – talassemia	50-85	5-30	2-20	4-6	-
	Hb SD-Punjab	40	-	2,5-5	2-3	D-Punjab: 50
	Hb SO-Arab	45	-	4-7		O-Arab: 45
	Hb S/HPFH	60-70	-	25-35	1,5-2,5	-
	Hb SE	60	-	4		E: 30-35

N – Normal

O portador de Hb S não apresenta manifestações hematológicas e está associado a um crescimento e a uma expectativa de vida normal. O termo doença falciforme é usado para descrever um grupo de hemoglobinopatias sintomáticas que têm em comum a formação de células falciformes e as crises associadas. (37,45)

Os genótipos mais comuns que são responsáveis pela doença falciforme são a Hb SS, a Hb SC e a Hb S/ β -talassemia. (4,37)

6.1. Portador de Hemoglobina S

O portador de Hb S apresenta um genótipo heterozigótico simples (Hb AS) para o gene *HBB*. (12,37) Como representado na **Tabela 3**, a eletroforese revela 30% a 45% de Hb S e 50% a 65% de Hb A. O nível de Hb A2 é normal e o nível de Hb F encontra-se dentro dos valores de referência. (45)

De acordo com a OMS, 5% da população mundial é portadora de Hb S. As regiões onde esta condição é mais prevalente são a África Subariana, o Médio Oriente, a região do Mediterrâneo e a Índia. Nos Estados Unidos da América esta mutação afeta cerca de 3 milhões de pessoas e 8% dos Afro-Americanos. (7,8,37)

A elevada prevalência da mutação Hb AS demonstra a necessidade de os portadores de Hb S serem acompanhados a nível de planeamento familiar, uma vez que, como evidencia a **Figura 9**, um casal de portadores de Hb S pode ter filhos sem a doença, filhos portadores de Hb S ou filhos com AF. (7)

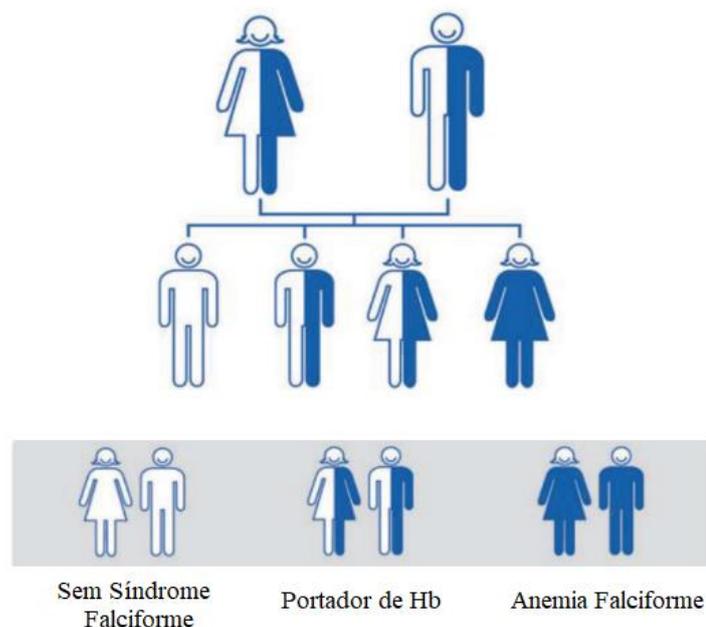


Figura 9. Transmissão genética de um casal de portadores de hemoglobina S. (Adaptado de (46))

Os portadores de Hb S, geralmente, são assintomáticos e não apresentam manifestações clínicas ou hematológicas significativas. Contudo, perante situações extremas de hipoxia os GV podem adquirir forma falciforme e podem ocorrer fenómenos de vaso-oclusão no baço e no cérebro, por exemplo. (37) Foi demonstrado que em situações extremas de desportos de alta

intensidade e de treinos militares, ser portador de Hb S pode aumentar o risco de rabdomiólise e de morte súbita. (8)

Embora raras, estão documentadas algumas complicações nos portadores de Hb S como a hematúria, infecção do trato urinário e enfarte esplênico. A hematúria, *grosso modo*, é transitória e possivelmente está relacionada com a má perfusão das papilas renais. A capacidade de concentração da urina também pode estar comprometida, devido à diminuição da perfusão dos vasos do rim. (12,37)

Contudo, os portadores de Hb S não necessitam de terapêutica farmacológica e a sua esperança média de vida não é afetada por esta condição. (37)

A mutação Hb AS é uma das mutações de Hb mais comuns no mundo com efeito protetor contra a Malária grave. O mecanismo de ação que confere esta proteção é desconhecido. (7,47) No entanto, sabe-se que a proteção conferida pela mutação aumenta com a idade. (48)

A Malária é uma doença infecciosa provocada por um parasita do género *Plasmodium*, que é transmitido aos humanos através da picada de um mosquito fêmea do género *Anopheles*. O parasita, quando inoculado na corrente sanguínea do corpo humano, desenvolve o seu ciclo de vida infetando, principalmente, as células do fígado e os GV. (49)

Anualmente, são diagnosticados 228 milhões casos clínicos de Malária e são identificadas 405 mil mortes devido a esta doença. As crianças africanas apresentam a maior taxa de mortalidade. (48)

Em regiões onde a Malária é endémica ser portador de Hb S confere proteção contra a doença. Acredita-se que esta vantagem seletiva seja o motivo pelo qual a mutação persiste. (8)

6.2. Doença Falciforme

6.2.1. Anemia Falciforme

Sintomas semelhantes aos de Anemia Falciforme (AF) foram identificados pela primeira vez, em 1670. Em 1910, Herrick reportou a situação de um estudante das Caraíbas que apresentava AF. Em 1917, Emmel apercebeu-se que os GV de alguns doentes apresentavam forma falciforme. Em 1927, Hahn e Gillespie descreveram a fisiopatologia da doença e a sua relação com a Hb. (37,50)

6.2.1.1. Epidemiologia

A AF é uma doença hematológica que se estima afetar cerca de 3,2 milhões de pessoas. Anualmente, 176 000 pessoas morrem devido a complicações associadas a esta patologia. (51)

Na África Subsariana, por ano, nascem cerca de 230 000 crianças com AF. Na América do Norte e na Europa, anualmente, nascem 2 600 e 1 300 crianças, respetivamente. Na Índia, estima-se que, anualmente, nasçam 25 000 crianças com esta doença. (37) Nos Estados Unidos da América, em França e no Reino Unido mais de 94% das crianças que nascem com AF sobrevivem até à idade adulta. Porém, na África Subsariana 50% a 90% das crianças podem morrer nos primeiros cinco anos de vida. (52)

6.2.1.2. Etiologia e Fisiopatologia

A Anemia Falciforme ou Drepanocitose corresponde ao estado homozigótico para a Hb S (Hb SS) e é a forma mais grave da doença falciforme. (44) A AF caracteriza-se por uma mutação pontual, *missense*, no gene *HBB* que determina, na Hb, a substituição do ácido glutâmico (Glu) na sexta posição da cadeia de β -globina por uma valina (Val). Esta substituição, de um resíduo hidrofílico de ácido glutâmico por um resíduo hidrofóbico de valina, leva à formação de uma hemoglobina mutante – Hb S ($\alpha_2\beta_2^S$) - nos eritrócitos das pessoas que apresentam esta patologia (**Figura 10**). (14,51,53)

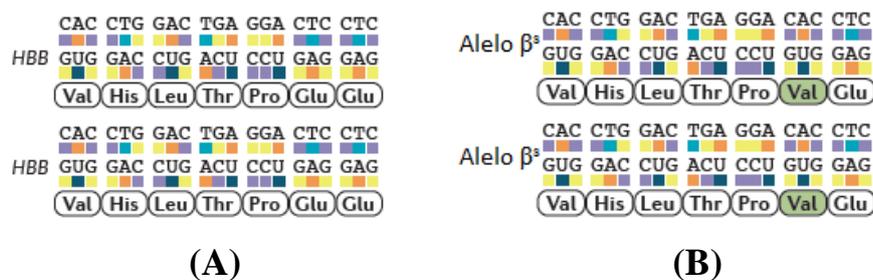


Figura 10. Alterações genéticas no gene *HBB*. (A) Pessoa com genótipo *HBB/HBB*. (B) Pessoa com genótipo de Anemia Falciforme. (Adaptado de (54))

A fisiopatologia da Anemia Falciforme é considerada um ciclo vicioso constituído por quatro processos que englobam a polimerização da hemoglobina S, a vaso-oclusão, a disfunção endotelial e a inflamação (**Figura 11**). (51)

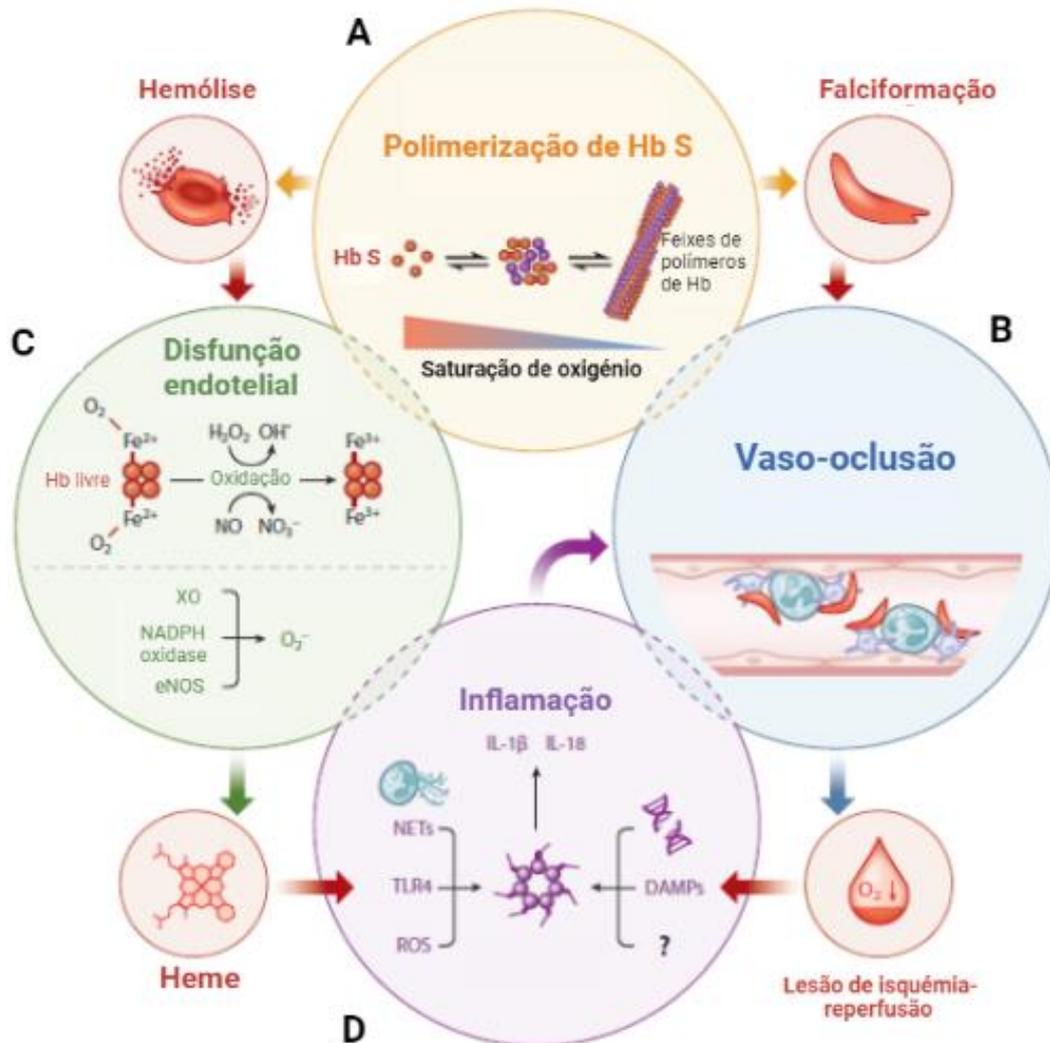


Figura 11. Fisiopatologia da Anemia Falciforme. (A) Polimerização da hemoglobina S. (B) Vaso-oclusão. (C) Disfunção endotelial. (D) Inflamação. (Adaptado de (51))

Os GV que contêm moléculas de Hb mutadas, expostos a um ambiente desoxigenado, sofrem polimerização, formam feixes e tornam-se rígidos (**Figura 11. (A)**). A polimerização da Hb S altera a forma e as propriedades físicas dos GV. Conseqüentemente, estes ficam desidratados, a sua rigidez aumenta e surgem inúmeras anormalidades estruturais, entre as quais se destacam os GV falciformes que, como o nome indica, apresentam forma de foice. (14,51,52)

A rigidez dos GV desoxigenados contribui para fenômenos de vaso-oclusão em quase todos os órgãos do corpo. O contínuo estado de hipoxia gera uma regulação positiva de moléculas de adesão (P-selectina e E-selectina) no endotélio vascular provocando a adesão de

GV, glóbulos brancos e plaquetas. Tal situação contribui para mais eventos vaso-oclusivos e para um estado inflamatório crónico (**Figura 11. (B)**). (14,51,55)

Os feixes de polímeros de Hb também promovem hemólise. A hemólise está subjacente a complicações como o acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão pulmonar e priapismo. (51,52)

A lise de GV faz com que haja libertação de Hb livre na circulação sanguínea. A Hb oxigenada promove a disfunção endotelial ao esgotar as reservas de óxido nítrico (NO) para formar nitrato (NO_3^-). A Hb também pode reagir com peróxido de hidrogénio (H_2O_2), através da reação de Fenton, para formar o radical livre hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) (**Figura 11. (C)**). Níveis aumentados de arginase no plasma e do inibidor de NO podem, ainda, levar a baixos níveis de NO. (12,51)

Grosso modo, o tempo de vida dos GV é de 120 dias. No entanto, na AF, devido ao aumento da hemólise dos GV falciformes, este período reduz-se para 10 a 20 dias. (14,52)

A formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) e de armadilhas extracelulares de neutrófilos (NET - *Neutrophil Extracellular Trap*), a ativação do recetor Toll-Like 4 (TLR4), entre outros fatores, contribuem para a inflamação. A inflamação promove, ainda mais, a vaso-oclusão (**Figura 11. (D)**). (51)

6.2.1.3. Características Clínicas

As manifestações clínicas da AF são muito diversas. Alguns doentes têm uma vida quase normal, sem crises. Porém, outros apresentam crises graves, mesmo na infância. Geralmente, as crianças que apresentam AF são assintomáticas até aos seis meses de idade, devido à presença de Hb F. (12,56)

As crises vaso-oclusivas dolorosas são as manifestações clínicas mais frequentes da AF e ocorrem devido aos fenómenos de vaso-oclusão já referidos. Estas crises podem ser esporádicas e imprevisíveis ou precipitadas por infeção, acidose, desidratação ou desoxigenação (como, por exemplo, alteração da altitude, operações e exercício físico brusco). (56)

Nos bebés a dor surge associada a dactilite, que se caracteriza por ser um edema difuso dos dedos das mãos e/ ou dos pés devido à vaso-oclusão. No entanto, em crianças mais velhas e adultos, a dor surge nos ossos longos das extremidades (úmero, tíbia e fémur), bem como no

tórax e nas costas. (12,57) Podem ocorrer até seis episódios de crises vaso-oclusivas dolorosas por ano, que persistem durante cerca de cinco dias. (37,58)

A Síndrome Torácica Aguda (STA) caracteriza-se por febre e dor torácica e pela presença de infiltrados pulmonares na radiografia do tórax. Hematologicamente, verifica-se uma diminuição repentina de Hb e um aumento do número de plaquetas e leucócitos. (12,37) A STA é frequentemente desencadeada por infecções, eventos embólicos e/ou vaso-oclusão pulmonar. (14)

Doentes com AF apresentam maior suscetibilidade de contrair infecções por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*. As infecções agudas são a causa mais comum de hospitalização nos primeiros três anos de vida. As infecções bacterianas do sangue (septicémias) são exacerbadas pelo efeito de auto-esplenectomia, visto que o baço perde a capacidade de funcionar como um tecido linfóide secundário para eliminar os organismos do sangue. (37)

As crises hemolíticas são manifestações clínicas comuns na AF. Estas crises surgem devido a uma aceleração súbita do processo hemolítico e diminuição da Hb, acompanhados de um aumento de reticulócitos e de icterícia. (12,37,56)

As crises aplásticas são crises em que a medula óssea é suprimida temporariamente. Estas crises caracterizam-se por uma queda abrupta de Hb e de reticulócitos, devido a infecção por Parvovírus ou por deficiência de folato. (56) A maioria das crises aplásticas são de curta duração e não requerem terapia, porém, caso a anemia seja grave e a medula óssea permaneça aplástica, será necessário recorrer a transfusão. (37)

Poderão ocorrer ainda AVCs, bem como úlceras na parte inferior das pernas, devido a estase vascular. Na infância, o baço pode sofrer esplenomegalia. A hipertensão pulmonar é comum. Retinopatia proliferativa, priapismo, danos no fígado e no rim são complicações que também podem ocorrer na AF. (56)

6.2.1.4. Terapêutica Farmacológica

A Anemia Falciforme é uma doença que pode afetar vários sistemas de órgãos e apresenta complicações agudas e crônicas. As crises agudas podem ser desencadeadas por hipotermia, desidratação, esforço físico, tabagismo, entre outros fatores. Aquando de uma crise aguda, o primeiro passo consiste em fornecer analgesia, oxigénio e hidratação. Posteriormente, deve-se direcionar o tratamento para o sistema afetado. (59)

Os doentes com AF devem aderir aos esquemas vacinais recomendados, inclusive para a vacinação pneumocócica. A profilaxia antibiótica com penicilina pode reduzir o número de infecções bacterianas, bem como a mortalidade associada a esta patologia. (59)

Apesar do uso de terapias curativas, como o transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas e, mais recentemente, da terapia genética, ainda em fase experimental, não existem agentes farmacológicos para a cura da AF. Os fármacos atualmente disponíveis visam modificar pontos peculiares da fisiopatologia da doença e, conseqüentemente, diminuir as complicações associadas à mesma. (13,14)

Até 2017, a hidroxiureia era o único fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para diminuir a gravidade da doença. Nos últimos anos, foram aprovados três novos fármacos para tratar a AF: L-glutamina (Endari), crizanlizumab (Adakveo) e voxelotor (Oxbryta). Para tratar a doença pode, ainda, recorrer-se a transfusões sanguíneas, ao transplante de células estaminais hematopoiéticas e à terapia genética (13)

❖ **Hidroxiureia**

A hidroxiureia (HU) foi aprovada, em 1998, pela FDA para reduzir a frequência das crises dolorosas e aumentar a expectativa de vida nos adultos com AF. Em 2017, a FDA aprovou a HU em crianças a partir dos 2 anos com crises dolorosas moderadas a graves. (14,60) Na União Europeia, a HU está autorizada, desde 2007, para a prevenção de crises vaso-oclusivas dolorosas recorrentes, em doentes que apresentem AF sintomática. (61)

A HU, ao inibir a ribonucleosídeo difosfato redutase (enzima que converte ribonucleotídeos em trifosfatos de desoxirribonucleotídeos para síntese e reparação do ADN), inibe a produção de ADN e faz com que haja o aumento da produção de Hb F. Como consequência, há uma diminuição da Hb S. A ausência de cadeia β na Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) significa que esta Hb não é afetada pela mutação falciforme. É importante salientar que embora as propriedades da Hb F sejam um pouco diferentes da Hb A adulta normal, a incorporação da Hb F em GV adultos normais não está associada a um comprometimento funcional. Assim, doentes com AF que apresentem níveis de Hb F mais elevados vão ter manifestações da doença mais leves. (14,59)

Além disso, a HU aumenta a libertação de NO endotelial. Como consequência, o fluxo sanguíneo melhora e há um aumento da vasodilatação. (62) Desta forma, o número de células

falciformes diminui, bem como o número de eventos vaso-oclusivos, anemia e hemólise. Isto traduz-se numa melhor qualidade de vida para o doente. (59)

Geralmente, a HU é bem tolerada e as reações adversas mais frequentes são dor abdominal, náuseas, hiperpigmentação e escurecimento das unhas. (59)

Contudo, a HU tem um efeito prejudicial na espermatogénese. Este efeito pode ser revertido parando a toma de HU. No entanto, é aconselhável que seja feito um crio-armazenamento de espermatozoides antes de iniciar o tratamento com HU. (63,64) Nas mulheres com AF a fertilidade está diminuída e a HU pode aumentar a fertilidade. (65)

❖ **L-glutamina**

A L-glutamina foi aprovada pela FDA, em 2017. A L-glutamina é muito semelhante à HU e reduz as complicações agudas da AF em adultos e crianças com idade superior a 5 anos. Doentes que estejam estabilizados com HU há, pelo menos, 3 meses podem iniciar L-glutamina. A suplementação com L-glutamina diminui o número de eventos falciformes e de hospitalizações e diminui, ainda, o tempo de hospitalização, aquando de um internamento. (59)

Os doentes com AF têm uma Hb alterada e isto torna os GV suscetíveis a danos de oxidação. O *stress* oxidativo aumenta a rigidez dos GV fazendo com que estes apresentem forma de foice. (66) A L-glutamina tem um mecanismo de ação que, apesar de ainda não estar bem determinado, se sabe que está relacionado com a diminuição da suscetibilidade dos GV falciformes ao dano oxidativo. (14,67)

A glutamina tem funções fulcrais no metabolismo celular que incluem a síntese de proteínas e a produção de energia e antioxidantes. O corpo humano produz naturalmente glutamina, porém a L-glutamina aumenta a quantidade de glutamina livre que circula no sangue. Desta forma, as células falciformes podem utilizá-la para gerar moléculas antioxidantes que ajudam a neutralizar o *stress* oxidativo, aumentando o dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (NADH) e a glutathiona reduzida (GSH). Como resultado, os GV recuperam a flexibilidade e migram, diminuindo a frequência de crises vaso-oclusivas. (66,67)

As reações adversas mais comuns são náuseas, cefaleias, dor abdominal, tosse, dor nas extremidades, dor nas costas e dor no peito. (59)

A adesão a esta terapêutica pode ser desafiadora para alguns doentes, visto ser formulada sob a forma de pó que tem de ser administrado duas vezes por dia. (14)

❖ **Crizanlizumab**

O crizanlizumab é um anticorpo monoclonal humanizado, administrado via intravenosa, que foi aprovado pela FDA em 2019. (67) Está indicado para prevenção de crises vaso-oclusivas recorrentes em doentes com AF, com idade superior ou igual a 16 anos. Pode ser administrado adicionalmente ao tratamento com HU ou em monoterapia em doentes em que o tratamento com HU não é conveniente. (68)

Existem diversos ensaios clínicos a decorrer para avaliar a segurança e eficácia do crizanlizumab no tratamento de AF em crianças, bem como para incrementar os dados da sua utilização em adultos. (69)

O crizanlizumab liga-se à P-selectina, bloqueando a sua interação com o ligante da glicoproteína da P-selectina e inibindo a adesão de leucócitos e GV ao endotélio. Ao bloquear a interação com os ligantes da P-selectina, o crizanlizumab diminui a adesão dos eritrócitos, leucócitos, plaquetas e células endoteliais, reduzindo assim a probabilidade de vaso-oclusão. (14,69) Desta forma, os doentes têm menos crises dolorosas. Além disso, o uso deste anticorpo monoclonal está associado a uma baixa incidência de efeitos adversos sendo os mais frequentes prurido, diarreia, artralguas, emese e dor no peito. (62,67)

❖ **Voxelotor**

O voxelotor foi aprovado pela FDA, em 2019, e está indicado no tratamento da anemia hemolítica causada por AF em doentes adultos e pediátricos com idade igual ou superior a 12 anos em monoterapia ou em associação com HU. Trata-se de um fármaco cuja toma é feita por via oral, diariamente. (67,70)

A aprovação pela FDA foi baseada no ensaio clínico HOPE, cujos resultados demonstram que o voxelotor é seguro e eficaz e diminui a hemólise. Estudos adicionais evidenciam que o voxelotor leva à diminuição de eventos vaso-oclusivos, bem como à redução da necessidade de transfusões e visitas hospitalares. (13,71)

O voxelotor tem como alvo a polimerização da Hb S, formando uma ligação covalente reversível com a valina N-terminal da cadeia α da Hb. Isto altera a conformação da Hb S, aumentando a sua afinidade para o O₂ reduzindo, assim, a quantidade de Hb S desoxigenada disponível para polimerizar. Estudos pré-clínicos evidenciam que o voxelotor diminuiu a falciformação dos GV e aumentou a viscosidade do sangue *in vitro*. (14)

As reações adversas mais frequentes do voxelotor incluem cefaleias, diarreia e dor abdominal. (70)

❖ **Transfusões Sanguíneas**

As transfusões podem ser usadas para prevenir complicações associadas à AF. Os objetivos das transfusões sanguíneas são aumentar a capacidade de transportar O₂ e diminuir a produção de Hb S durante vários meses ou mesmo anos. (37,56,72)

As transfusões podem ser administradas de forma aguda para aumentar a capacidade de transportar O₂ e melhorar o fluxo sanguíneo. Neste caso, geralmente, recorre-se a transfusões simples. As principais indicações para transfusão aguda incluem correção de anemia, STA, priapismo, AVCs, entre outros. (73)

As transfusões crónicas têm o intuito de prevenir complicações a longo prazo e são feitas por transfusão simples ou por permuta. As principais indicações para transfusão crónica incluem profilaxia contra AVC recorrente, insuficiência cardíaca, hipertensão pulmonar crónica, dor crónica em doentes que não respondam a HU, entre outros. (73)

Na grávida, as transfusões de manutenção devem ser administradas caso haja evidência de problemas vaso-oclusivos ou relacionados com anemia ou, ainda, caso haja sinais de sofrimento fetal ou de crescimento deficiente. (37)

As transfusões simples envolvem a transfusão de eritrócitos sem remover sangue do doente. São vantajosas por não requererem cuidados de enfermagem especializados e por poderem ser realizadas com acesso venoso periférico. No entanto, associado a este tipo de transfusão há um risco de hiperviscosidade, caso a concentração de Hb seja superior à linha de base do doente. (72,74,75)

As transfusões por permuta podem ser manuais ou automáticas e caracterizam-se pela utilização de um fluxo contínuo que substitui o sangue total do doente pelo do dador. Este método reduz de forma rápida e substancial a concentração de Hb S (< 30%) sem aumentar a viscosidade do sangue. Porém, é necessário um acesso venoso adequado para realizar este tipo de transfusão. (74,75) Comparando com as transfusões simples, este tipo de transfusão reduz o risco de reações hemolíticas subjacentes à transfusão, bem como a aloimunização. Alguns especialistas especulam que a remoção de leucócitos, citocinas e outras proteínas pró-inflamatórias do plasma do doente, durante o procedimento, possa reduzir a propensão de formação de auto e aloanticorpos. (75)

Apesar dos benefícios, inerentes à terapia de transfusão sanguínea, podem ocorrer complicações que limitam o seu uso a longo prazo. Além das complicações previamente referidas, também pode ocorrer sobrecarga de ferro. Para prevenir esta situação, podem utilizar-se quelantes de ferro. (14,37,73)

❖ **Transplante de Células Estaminais Hematopoiéticas**

Atualmente, o transplante de células estaminais hematopoiéticas (TCEH) é a única terapia disponível que cura os doentes com AF. É um procedimento demorado, rigoroso e de alto risco, que só é utilizado quando os benefícios superam os riscos do procedimento e quando há um dador disponível. Apenas 15% dos doentes com AF têm um dador compatível. (14,67) Idealmente, é recomendado que o dador seja um irmão com compatibilidade imunológica, ou seja, com correspondência no tipo de antígeno leucocitário humano (HLA – *Human Leucocyte Antigens*). (76)

O TCEH tem como objetivo eliminar os GV falciformes e as células estaminais hematopoiéticas. Estas são substituídas por células estaminais hematopoiéticas normais, para produzirem células que expressem correção total ou, pelo menos, parcial do fenótipo anormal da Hb. (76)

As fontes de células estaminais hematopoiéticas incluem a medula óssea (transplante de medula óssea), o sangue periférico (transplante de células do sangue periférico) e o sangue do cordão umbilical (transplante de sangue do cordão umbilical) de outra pessoa. (76)

Os resultados clínicos associados ao TCEH têm sido muito favoráveis, contudo muitos adultos não conseguem suportar os regimes mieloablativos necessários. (14) Desta forma, os doentes que realizam TCEH, geralmente têm idade inferior a 17 anos e satisfazem as indicações para o transplante. (37) O TCEH está indicado em casos mais graves, em doentes com crises vaso-oclusivas frequentes que já tomem HU ou sejam intolerantes à HU, em doentes com STA frequente, com historial de AVCs e em doentes com hipertensão pulmonar. (67)

Neste tipo de intervenção os doentes recebem um regime de condicionamento que deve incluir mieloablação (destruição da medula óssea) e imunossupressão. Contudo, os regimes mieloablativos, que utilizam bussulfano e ciclofosfamida, têm toxicidades associadas. Para evitar essa toxicidade foram desenvolvidos regimes de condicionamento de intensidade reduzida que incluem um análogo de purina (fludarabina, cladribina e pentostatina), um agente alquilante ou irradiação total de baixa dose. Imunossupressores como a ciclosporina e o

metotrexato também são utilizados para prevenir possíveis toxicidades associadas ao regime mieloablativo. (76)

❖ Terapia Genética

A AF é uma doença causada por uma mutação genética. Desta forma, a terapia genética é uma boa solução para diminuir as complicações associadas à doença. Além disso, é uma opção curativa atraente, uma vez que a percentagem de doentes elegível para realizar um TCEH é bastante reduzida. (67,74,77)

A terapia genética envolve a colheita de células autólogas que são manipuladas geneticamente *ex vivo* e expostas a um vetor viral que silencia a expressão do gene *BCL11A*. Assim, há um aumento da produção de Hb F (a expressão do gene *BCL11A* determina o bloqueio da produção de Hb F). De seguida, há administração de doses elevadas de quimioterapia mieloablativa, para ablação da medula óssea autóloga e, posteriormente, ocorre a administração de células estaminais hematopoiéticas geneticamente modificadas. (74,77)

A terapia genética, se bem-sucedida, fornece uma alternativa viável para a correção permanente do gene mutado presente na Anemia Falciforme. Porém, é importante salientar que também tem riscos associados. (74)

Comparativamente ao TCEH, a terapia genética permite combater o problema da escassez de dadores e evitar problemas relacionados com a rejeição do transplante. (74)

6.2.1.5. Transmissão Genética

À semelhança das Síndromes Falciformes, a Anemia Falciforme é uma doença autossómica recessiva. A AF apenas se manifesta em pessoas que herdam uma cadeia de β globina mutada de ambos os progenitores. Assim, os doentes com AF apresentam o genótipo Hb SS. (46)

Na **Figura 12** verificamos que, no caso de ambos os elementos do casal serem portadores de Hb S, a probabilidade de terem um filho com genótipo Hb AA (sem doença) é de 25%, com genótipo Hb AS (portador de Hb S) é de 50% e com genótipo Hb SS (com AF) é de 25%. (78,79)

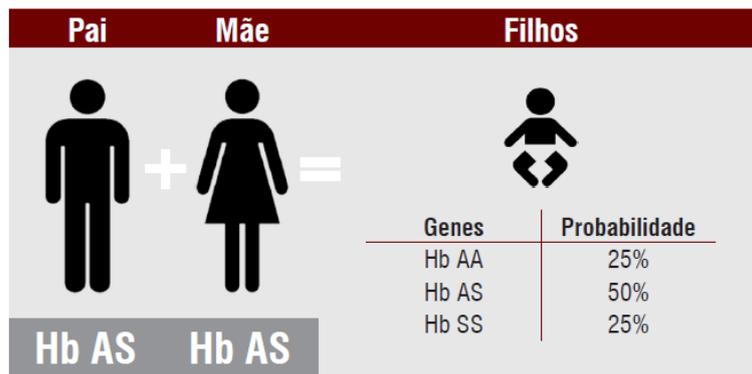


Figura 12. Herança genética de um casal de portadores de hemoglobina S. (Adaptado de (78))

A herança de uma única cópia da mutação de um dos progenitores, uma condição principalmente benigna, traduz-se pela presença do genótipo Hb AS. As pessoas que apresentam este genótipo são portadoras de Hb S. (46)

Como ilustra a **Figura 13**, quando apenas um dos pais é portador de Hb S a probabilidade de o casal ter filhos com genótipo Hb AA (sem doença) e Hb AS (portador de Hb S) é de 50% em ambos os casos. (78,79)

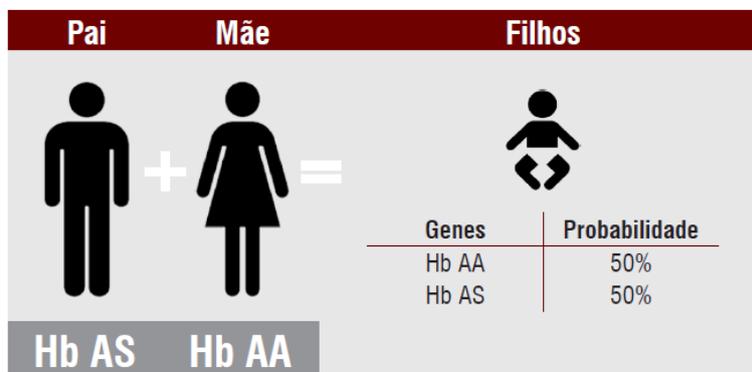


Figura 13. Herança genética de um casal em que um elemento é portador de hemoglobina S. (Adaptado de (78))

6.2.2. Hemoglobinopatia SC

A hemoglobinopatia SC (Hb SC) é a segunda doença mais comum responsável por causar doença falciforme. Em 1950, Itano e Neel utilizaram o método de eletroforese para descrever a Hb SC. Em 1951, Kaplan *et al.* descreveram as manifestações clínicas da Hb SC em três doentes. Em 1961, foram estudados vários casos clínicos de Hb SC. Desde aí, o conhecimento sobre a Hb SC tem vindo a melhorar. (80)

6.2.2.1. Epidemiologia

A emigração de população da África Ocidental difundiu a hemoglobinopatia SC para a Europa e para a América. Em todo o mundo, anualmente, nascem 55 000 crianças com Hb SC. (11) Aproximadamente 30% dos doentes que têm doença falciforme apresentam o genótipo Hb SC. (80)

Estima-se que a hemoglobinopatia SC esteja presente em 25% da população de África Ocidental. Nos Estados Unidos da América a incidência é de 1 em cada 833 nascimentos por ano. (37) Em Gana, o local de origem da mutação, a doença Hb SC é tão prevalente quanto a AF e, em algumas regiões, afeta até 25% da população. (12)

6.2.2.2. Etiologia e Fisiopatologia

A mutação no gene *HBB* leva à formação da Hb S e da Hb C. A co-herança de Hb S e de Hb C no gene *HBB* da Hb leva ao aparecimento da hemoglobinopatia SC. Como ilustra a **Figura 14**, a valina (Val) substitui o ácido glutâmico (Glu) na sexta posição da cadeia de β -globina na Hb S, enquanto a lisina (Lys) substitui o ácido glutâmico (Glu) na Hb C. (11,80)

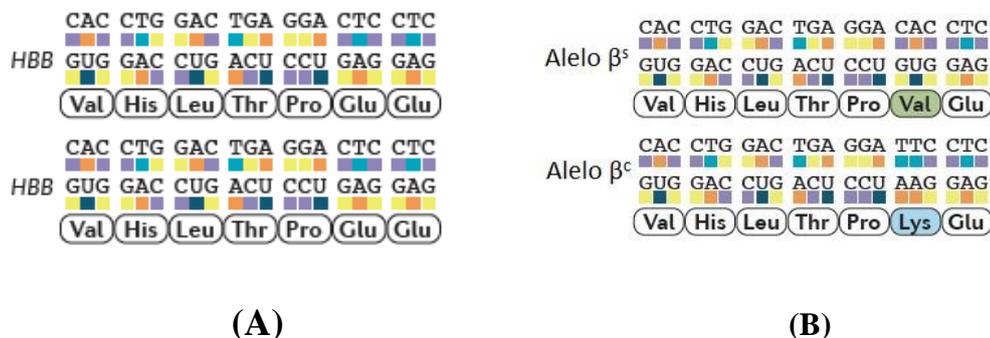


Figura 14. Alterações genéticas no gene *HBB*. (A) Pessoa com genótipo *HBB/HBB*. (B) Pessoa com genótipo Hb SC. (Adaptado de (54))

A fisiopatologia da Hb SC é muito diferente da fisiopatologia da AF. Na hemoglobinopatia SC, os GV apresentam igual quantidade de Hb S e Hb C e um nível baixo de Hb F. Desta forma, a quantidade de Hb S presente na hemoglobinopatia SC é relativamente menor do que na AF. (80,81)

A fisiopatologia da Hb SC é explicada através da interação entre Hb S e Hb C e pela desidratação dos GV, devido à alteração do transportador de membrana K/Cl. (11,80)

Quando os GV estão desidratados, a concentração de Hb S nas células aumenta. Como se verifica uma concentração intra-eritrocitária moderada a alta, as subunidades de Hb S polimerizam e formam moléculas longas e rígidas que tendem a persistir à medida que os GV circulam e obstruem a microcirculação. (11)

A desidratação dos GV aumenta a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). A CHCM é um parâmetro que reflete o estado de hidratação dos GV, o qual depende da concentração de Hb e do conteúdo em água. (82) Apesar do mecanismo não ser totalmente conhecido, sabe-se que o aumento da CHCM resulta da Hb C aumentar a atividade do transportador K/Cl, levando a um efluxo exagerado de K^+ e água. (37)

É importante salientar também que, aquando da presença de elevadas concentrações de Hb C oxigenada, ocorre polimerização e formam-se cristais tetragonais, curtos e espessos, dentro dos GV. No entanto, estes cristais dissolvem-se rapidamente se estiverem na presença de um estado desoxigenado. (11,37)

A Hb F é responsável por impedir a cristalização da Hb C, bem como a polimerização da Hb S. Assim, e à semelhança da terapêutica para a AF, aumentar a Hb F é um dos principais objetivos terapêuticos na Hb SC. (11)

6.2.2.3. Características Clínicas

As manifestações clínicas da Hb SC englobam crises dolorosas, retinopatia proliferativa, sequestração esplénica, priapismo, osteonecrose, AVC, entre outras. (11,80)

As crises dolorosas são as manifestações clínicas mais comuns da Hb SC e estima-se que afetem cerca de 50% das pessoas que apresentam esta patologia. Em 5% dos doentes podem ocorrer eventos dolorosos debilitantes frequentes. (11,80)

A retinopatia proliferativa é uma complicação comum na Hb SC que ocorre em 30% a 70% dos doentes. A retinopatia proliferativa caracteriza-se pelo crescimento excessivo dos

vasos sanguíneos da retina. Na Hb SC os vasos sanguíneos da retina sofrem oclusão, contudo, continua a haver aporte de oxigênio que permite a neovascularização. A neovascularização proliferativa leva a perda de visão, por hemorragia vítrea, e ao descolamento da retina. Esta manifestação clínica é mais comum e mais grave na Hb SC do que na AF. A perda progressiva da visão pode ter início por volta dos 20 anos. Por isso, recomenda-se que os doentes com Hb SC façam um exame oftalmológico anual a partir dos 10 anos. (11,12,80)

O baço é um órgão que se localiza no hipocôndrio esquerdo. (83) Aos 12 anos, cerca de 45% dos doentes com Hb SC apresentam asplenia funcional. Na Hb SC, a esplenomegalia crônica está associada à trombocitopenia em 35% das crianças e em 50% dos adultos. As crises de sequestração esplênica agudas surgem quando há obstrução do fluxo esplênico por GV falciformes, causando acumulação de sangue nos sinusoides esplênicos. 6% a 12% das crianças com Hb SC, a partir dos quatro anos, apresentam este tipo de crises. (11)

O priapismo é uma complicação que ocorre em 20% dos homens com Hb SC. Geralmente, o priapismo ocorre quando os homens atingem a maturidade sexual e pode ser o sinal de apresentação da doença em homens não diagnosticados com Hb SC. O priapismo caracteriza-se por uma ereção indesejada de duração superior ou igual a quatro horas sendo, por isso, uma situação de emergência médica. É causado por uma lesão isquêmica aguda e pode ser contínuo, intermitente ou recorrente. (11)

A osteonecrose ocorre em 12% a 24% dos doentes que apresentam Hb SC. *Grosso modo*, a osteonecrose afeta as grandes articulações (como, por exemplo, ancas e ombros), porém também pode afetar outras articulações. A osteonecrose apresenta-se como dor focal que pode ser precipitada por crises de dor difusa. No entanto, só deve ser considerada quando a dor difusa se resolve e a dor focal persiste. (11)

As taxas de AVC em doentes com Hb SC, embora sejam mais baixas do que AF, são mais elevadas em adultos mais velhos, sendo o AVC hemorrágico o mais comum. (11)

Em doentes com Hb SC poderão ocorrer também complicações renais e complicações hepáticas. (11,80)

6.2.2.4. Terapêutica Farmacológica

Na maioria dos doentes que apresentam hemoglobinopatia SC não é necessário recorrer a tratamento. Apesar da esplenomegalia, a função esplênica permanece normal, não sendo

necessário fazer profilaxia antibiótica a longo prazo. (84) Todavia, é comum realizarem-se transfusões sanguíneas, flebotomia e utilizar HU em doentes com esta patologia. (11)

❖ **Transfusões Sanguíneas**

Ao longo de toda a vida, a maioria dos doentes adultos com Hb SC recebe uma transfusão sanguínea. No entanto, a eficácia da transfusão ainda não está bem demonstrada no tratamento, nem na prevenção de complicações associadas à doença. Desta forma, muitas vezes o uso de transfusões sanguíneas é feito de forma empírica. (11)

Como na Hb SC o valor basal de Hb é superior ao da AF, ao realizar uma transfusão simples, há um maior risco de hiperviscosidade do sangue, enquanto a concentração de Hb S vai diminuindo. Assim, a transfusão por permuta acaba por ser preferencial, tendo por objetivo atingir 15% a 25% de Hb S, de forma que as percentagens de Hb S e Hb C sejam, 30% e 50%, respetivamente. (11)

Há estudos que demonstram melhores resultados maternos e fetais em doentes com Hb SC que receberam transfusões profiláticas durante a gravidez. (84)

❖ **Flebotomia**

A flebotomia tem como objetivo diminuir a concentração de Hb para 95-100 g/L e foi implementada de forma empírica para alguns doentes com Hb SC. A flebotomia diminui a viscosidade do sangue e os níveis de ferro. Desta forma, observou-se uma diminuição da frequência de crises dolorosas e do tempo de hospitalização dos doentes que apresentam esta patologia. (11,80)

❖ **Hidroxiureia**

A falta de dados de segurança e eficácia sobre o uso de HU em doentes com Hb SC impediu que a sua utilização fosse recomendada nestes doentes. Estudos anteriores a 2014, realizados em adultos e crianças com Hb SC, relatam que a HU foi bem tolerada. Contudo, a dose, a duração do tratamento e a eficácia laboratorial variaram. Em 2016, outro estudo veio reiterar que a HU foi bem tolerada e revelou que o seu uso permitiu obter uma concentração estável de Hb, aumento do nível de Hb F e diminuição do número de glóbulos brancos. (11)

A utilização de HU em grávidas ou lactantes não é recomendado. (11)

6.2.2.5. Transmissão Genética

As pessoas que apresentam hemoglobinopatia SC herdam a doença dos pais. Para isso, um dos progenitores tem de ser portador de hemoglobinopatia C (Hb AC) e o outro progenitor tem de ser portador de Hb S (Hb AS). Na **Figura 15** verificamos que se o casal apresentar os genótipos referidos a probabilidade de terem um filho com genótipo Hb AC (portador de Hb C) é de 25%, com genótipo Hb AS (portador de Hb S) é de 25%, com genótipo Hb SC (hemoglobinopatia SC) é de 25% e com genótipo Hb AA (sem doença) é de 25%. (85)

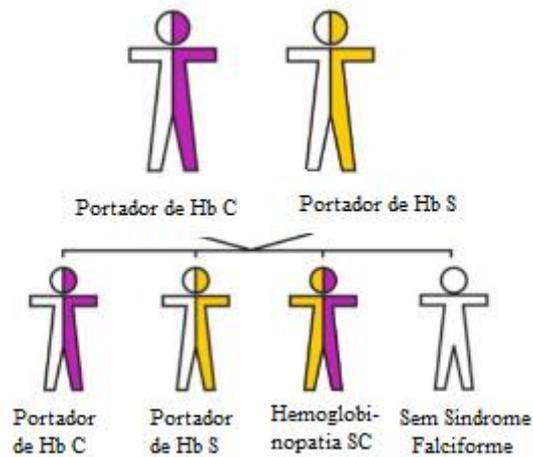


Figura 15. Herança genética da hemoglobinopatia SC. (Adaptado de (85))

6.2.3. Hemoglobinopatia S/ β -talassemia

6.2.3.1. Epidemiologia

A hemoglobinopatia S/ β -talassemia é a causa mais comum de Síndrome Falciforme em doentes com ascendência mediterrânica, incluindo italianos, gregos e turcos. A seguir à Hb SC, no seio das doenças falciformes, a hemoglobinopatia S/ β -talassemia é a segunda heterozigotia composta mais prevalente. (37,86)

6.2.3.2. Etiologia e Fisiopatologia

A hemoglobinopatia S/ β -talassemia, *grosso modo*, origina uma doença semelhante à AF. A sua gravidade depende da produção ou não da cadeia β do gene da β -talassemia afetado. (37)

No caso de não haver síntese da cadeia de β -globina a apresentação clínica da doença é semelhante à da AF, uma vez que a quantidade de Hb S dentro dos GV é comparável à observada na AF. Neste caso, os doentes apresentam genótipo Hb S/ β^0 -talassemia. (12,37,87) Possuem uma concentração de Hb e uma Hb A2 mais elevadas e uma CHCM menor do que os doentes com AF. (12)

Caso haja síntese de uma cadeia de β -globina, a apresentação clínica da patologia assemelha-se à dos doentes que apresentam Hb SC, uma vez que a quantidade de Hb S nos GV é semelhante à observada na Hb SC. Estes doentes apresentam genótipo Hb S/ β^+ -talassemia, e possuem uma maior concentração de Hb e uma menor contagem de reticulócitos, em relação aos doentes com Hb S/ β^0 -talassemia. (12,37,87)

A hemoglobinopatia S/ β^+ -talassemia é classificada de acordo com a percentagem de Hb A presente. O tipo I apresenta 3% a 5% de Hb A, o tipo II 8% a 14% e o tipo III 18% a 25%. (26)

Como referido no **Capítulo 5.**, a β -talassemia surge devido a um defeito no gene *HBB*, que controla a síntese das cadeias de β -globina da Hb. Por sua vez, a AF é causada por uma alteração na própria Hb e caracteriza-se pela presença de Hb S. (86)

Assim, uma pessoa com hemoglobinopatia S/ β -talassemia apresenta alguns GV com forma falciforme. As células falciformes apresentam um tempo de vida inferior ao dos GV normais. Além disso, estas células tendem gerar vaso-oclusão dos vasos sanguíneos e a bloquear o fluxo sanguíneo para algumas partes do corpo. (86)

6.2.3.3. Características Clínicas

Na hemoglobinopatia S/ β -talassemia os GV são hipocrômicos e microcíticos. O esfregaço de sangue da Hb S/ β^0 -talassemia apresenta mais células falciformes do que o da Hb S/ β^+ -talassemia. (26)

A gravidade da doença depende da quantidade de Hb A (Hb normal) herdada. (26) Caso não haja produção de Hb A, como se verifica na Hb S/ β^0 -talassemia, o doente é clinicamente idêntico a um doente com AF. Desta forma, estes doentes podem apresentar episódios de crises dolorosas, STA, hipertensão pulmonar, AVCs, asplenia funcional, sépsis, entre outros. (4)

No entanto, caso a Hb A esteja presente em maior quantidade, como acontece na Hb S/ β^+ -talassemia, o doente apresenta sintomas mais leves da doença falciforme. (86) É importante salientar que doentes com Hb S/ β^+ -talassemia apresentam frequentemente esplenomegalia nos primeiros anos de vida e também nos anos subsequentes. Verificou-se também que doentes adultos, apesar do tratamento com HU, apresentam frequentemente AVC e lesão medular. Contudo, em doentes pediátricos constatou-se que a HU diminui o número de hospitalizações. (12,88)

Comparando os doentes com Hb S/ β^+ -talassemia e com Hb S/ β^0 -talassemia verifica-se que os primeiros apresentam manifestações da doença mais tarde e apresentam úlceras nas pernas, STA e priapismo com menos frequência. (4)

6.2.3.4. Terapêutica Farmacológicas

O tratamento a implementar depende do tipo e da gravidade dos sintomas que o doente apresenta. (89) Porém, o tratamento também pode ser utilizado para prevenir e minimizar complicações futuras que possam ser causadas pela doença. (90)

A educação sobre os cuidados que o doente deve ter é essencial. (91) O tratamento pode incluir a toma diária de antibióticos de forma a prevenir possíveis infeções, a toma de HU para prevenir complicações associadas à doença, analgesia para tratar a dor e transfusões sanguíneas em determinados casos. (90)

Desta forma, os doentes com hemoglobinopatia S/ β -talassemia podem ter uma vida melhor e mais saudável do que os que não recebem tratamento. (90)

6.2.3.5. Transmissão Genética

As pessoas que apresentam hemoglobinopatia S/ β -talassemia herdam a doença dos pais. Para isso, um dos progenitores tem de ser portador de β -talassemia (Hb A β) e outro tem de ser portador de Hb S (Hb AS). Como ilustra a **Figura 16**, em cada gravidez, o casal apresenta uma probabilidade de 25% de ter um filho com hemoglobinopatia S/ β -talassemia, de 25% de ter um filho portador de Hb S (Hb AS), de 25% de ter um filho portador de β -talassemia (Hb S β) e de 25% de ter um filho sem doença (Hb AA). (92)

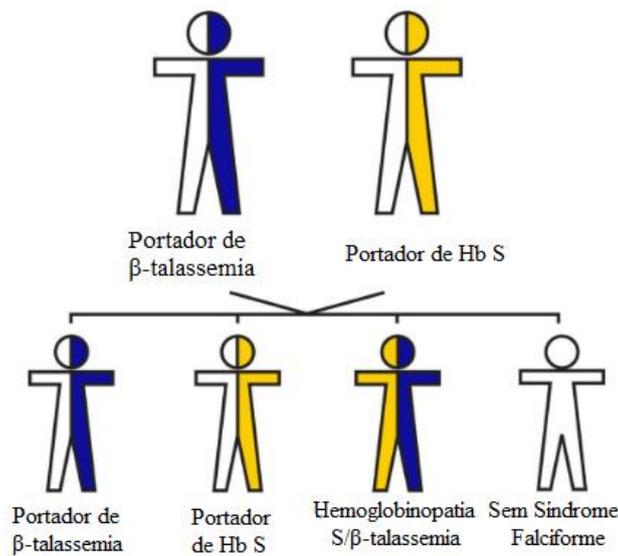


Figura 16. Herança genética da hemoglobinopatia S/ β -talassemia. (Adaptado de (92))

7. Diagnóstico Laboratorial

A detecção de Hb S e o diagnóstico de doença falciforme dependem de exames laboratoriais, nos quais é utilizada uma combinação de testes bioquímicos e moleculares para detetar e confirmar o diagnóstico. (17)

O diagnóstico da doença falciforme baseia-se na análise da molécula de Hb, através de diversos métodos, em que se analisa a presença ou ausência de Hb S, bem como a percentagem de Hb A, Hb F e Hb A2 que os GV apresentam. (93)

Atualmente, os métodos utilizados no diagnóstico da doença falciforme incluem:

- Hemograma;
- Teste de solubilidade da Hb S;
- Eletroforese da Hb;
- Focagem isoelétrica (FIE);
- Cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC);
- Testes genéticos. (17,26,37)

Quando há uma mutação na Hb, os parâmetros hematológicos sofrem alteração. Por este motivo, o hemograma é um dos métodos utilizados, contudo é insuficiente para fornecer um quadro de diagnóstico. (17)

O teste de solubilidade da Hb S é um método muito utilizado, principalmente em países com poucos meios analíticos, por ser fácil de utilizar e económico. Este teste baseia-se no facto da Hb S ser insolúvel em concentrações elevadas de tampão fosfato. Assim, é induzida a polimerização da Hb S, na sua forma reduzida, pela solução tampão de fosfatos contendo ditionito de sódio. Como resultado, a Hb S cristaliza e refrata a luz da solução. O resultado obtido é comparado com controlos positivos e negativos, contra um fundo de papel com riscas. O teste é positivo quando as riscas não são visíveis, devido à turvação da solução. (17,94)

A eletroforese da Hb consiste na separação dos diferentes tipos de Hb (Hb A, Hb F, Hb S e Hb C), através da carga elétrica. Para identificar as diferentes variantes da Hb podem utilizar-se diferentes meios e diferentes pH. É importante salientar que fatores como a carga da Hb, o tamanho dos poros do meio e a concentração da solução tampão influenciam a migração de cada Hb. A separação dos tipos de Hb forma bandas visíveis que podem ser usadas para identificar hemoglobinopatias. (16,17,95)

O método de FIE é um método que separa os diferentes tipos de Hb de acordo com o seu ponto isoelétrico. Neste método, as moléculas de Hb migram num gradiente de pH até atingirem o ponto onde a carga líquida é igual a zero. À medida que as moléculas de Hb migram, as bandas formam-se e são facilmente reconhecidas. Trata-se de um método de alta resolução para separar proteínas, porém é um método dispendioso e que requer pessoal qualificado. (16,17)

No método de HPLC, os diferentes tipos de Hb são separados de acordo com o tempo de retenção. Cada Hb tem um tempo de retenção específico. A identificação de picos de Hb é feita comparando com tempos de retenção de Hb já conhecidos. É importante referir que o equipamento de HPLC é dispendioso e que não permite distinguir tipos de Hb que apresentam o mesmo tempo de retenção. Por este motivo, o método de HPLC, à semelhança dos métodos supracitados, não pode ser utilizado isoladamente como diagnóstico, devendo o resultado ser confirmado por outro método como, por exemplo, testes genéticos. (17,96)

É importante salientar que a ausência de células falciformes não exclui o diagnóstico de doença falciforme. Isto, porque na AF e na hemoglobinopatia S/ β^0 -talassemia é normal encontrar células com forma falciforme. Porém, na Hb SC e na hemoglobinopatia S/ β^+ -talassemia, estas podem estar ausentes. (97)

Existem também técnicas inovadoras que, na sua maioria, ainda estão em fase de investigação, das quais se destacam:

- Técnicas de processamento de imagem;
- Citometria de fluxo;
- Imunoensaio de fluxo lateral;
- Separação baseada na densidade;
- Teste de solubilidade da Hb em papel. (17)

O teste de imunoensaio de fluxo lateral (**Figura 17**) é constituído por três indicadores que detetam a presença da Hb A, Hb S e Hb C. Desta forma, é possível analisar o resultado e perceber se estamos perante uma amostra normal, de um portador ou de um doente que apresenta doença falciforme. Este teste apresenta sensibilidade e especificidade elevadas, fornece resultados em 5 minutos e tem um preço acessível. (17,98)

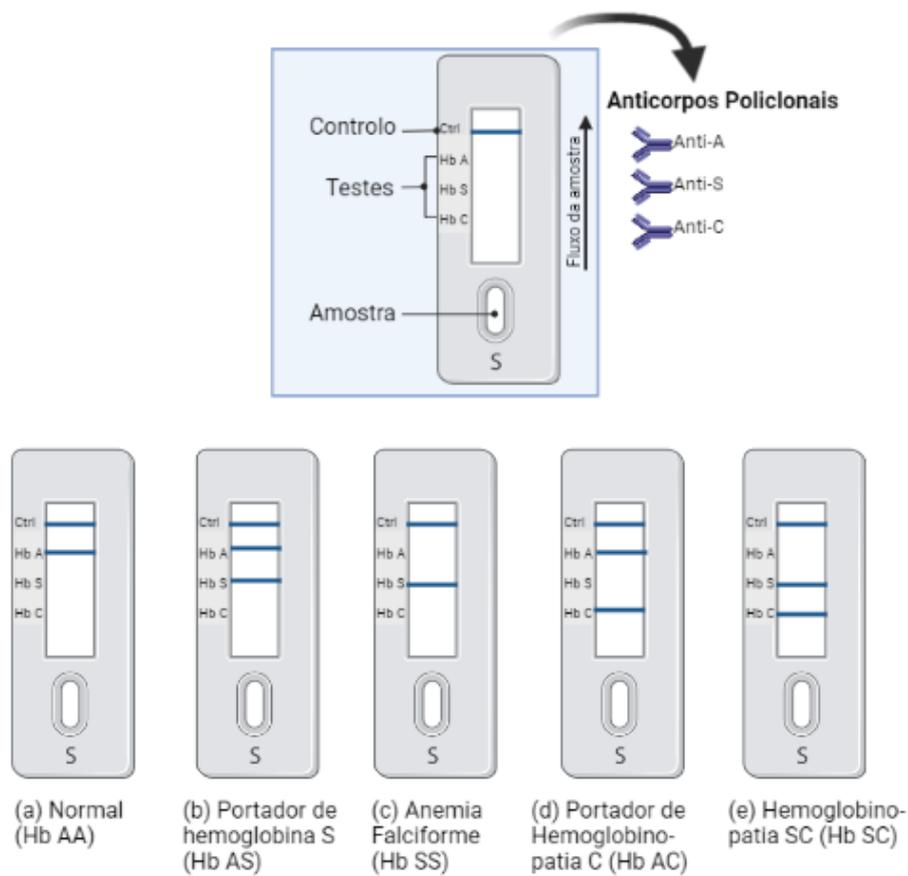


Figura 17. Imunoensaio de fluxo lateral para detetar Síndromes Falciformes. (a) Hemoglobina normal (Hb AA). (b) Portador de hemoglobina S (Hb AS). (c) Anemia Falciforme (Hb SS). (d) Portador de Hemoglobinopatia C (Hb AC). (e) Hemoglobinopatia SC (Hb SC). (Adaptado de (17))

8. Rastreio de Síndromes Falciformes

Os quatro períodos em que é possível realizar o rastreio de Síndromes Falciformes incluem o período de pré-conceção, o período pré-natal, o período neonatal e o período pós-neonatal. (99)

O rastreio de pré-conceção visa identificar progenitores assintomáticos que, no caso de uma possível gestação, podem apresentar filhos com Síndrome Falciforme. (99)

O rastreio pré-natal é um procedimento invasivo que se realiza no início da gravidez, em casais que testam positivo no rastreio de pré-conceção. Para realizar este procedimento é necessário recolher amostras de ADN fetal a partir das vilosidades coriônicas, na 9ª semana de gestação. Estão a ser desenvolvidos novos procedimentos, não invasivos, que permitem detetar ADN fetal na circulação materna a partir da 4ª semana de gestação. (99)

O rastreio neonatal permite identificar bebés com Síndromes Falciformes aquando do nascimento ou logo após os primeiros dias de vida, antes de apresentarem algum sintoma ou complicação, através da análise laboratorial da Hb. O diagnóstico precoce é acompanhado de antibioterapia profilática com penicilina e educação familiar sobre a situação clínica do recém-nascido, de forma a reduzir a taxa de mortalidade nos primeiros anos de vida. (99,100)

O rastreio pós-neonatal é realizado apenas em determinadas regiões, consoante o sucesso dos programas de rastreio e, também, em locais onde há imigração de doentes em risco que não foram previamente testados. (99)

Os programas de rastreio neonatal (*Newborn Screening Programmes*) estão em vigor não só em diversos países da Europa, como também nos Estados Unidos da América, na Índia, em África e no Brasil. (99) Estes programas visam apoiar as pessoas a fazer escolhas informadas, melhorar a saúde infantil e promover uma maior consciencialização. (101)

Em Portugal, em maio de 2021, o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) iniciou um estudo piloto para o rastreio de Drepanocitose, em Lisboa e Setúbal, que identificou uma prevalência de um caso positivo por cada 944 bebés recém-nascidos. Em fevereiro de 2022, o INSA iniciou uma nova fase do estudo piloto que foi alargado a todas as unidades de saúde do país, com vista a aferir a real necessidade de incluir a Drepanocitose no Programa Nacional de Rastreio Neonatal. Desta forma, passará a ser possível comparar, em todo o país, a prevalência de Drepanocitose ao nascimento. (102)

9. O Autocuidado na Doença Falciforme

Na doença falciforme o autocuidado tem como principais focos controlar a dor e prevenir complicações associadas à doença. Assim, viver com doença falciforme requer, da parte do doente e/ou da parte do cuidador, que se siga um conjunto de recomendações, de forma a melhorar a qualidade de vida do doente. (103,104)

As recomendações passam por ter acompanhamento médico especializado, prevenir infecções, aderir à vacinação recomendada, ter uma boa adesão à terapêutica, utilizar vestuário de acordo com o clima, evitar temperaturas frias e altitudes elevadas, estar atento ao corpo e aprender hábitos saudáveis. Os hábitos saudáveis incluem ter uma alimentação saudável, manter a hidratação, descansar, evitar bebidas alcoólicas e realizar exercício físico com moderação. (103,105,106)

É muito importante que o doente e/ou o cuidador compreendam a doença, as complicações associadas à mesma e, ainda, que compreendam quais os fatores de risco que desencadeiam a doença falciforme. É fulcral que estejam presentes em todas as consultas médicas e exames laboratoriais, de forma a assegurar a monitorização da doença. (106)

Para garantir uma maior compreensão da doença falciforme e de forma a garantir suporte aos doentes, existem inúmeras associações, nacionais e internacionais, de apoio aos doentes que dispõem de uma série de materiais e atividades de sensibilização. (107,108)

10. Conclusão e Perspetivas

A Hb tem como principal função transportar O₂ para os tecidos. Quando há uma anomalia na síntese das cadeias de globina da Hb ou nas suas regiões regulatórias, estamos na presença de uma hemoglobinopatia.

As Síndromes Falciformes englobam as hemoglobinopatias em que a Hb S pode ser herdada concomitantemente com outra mutação do gene *HBB*. Assim, há uma alteração na estrutura da molécula da Hb e surgem diferentes variantes de Hb.

Os portadores de Hb S e as pessoas com doença falciforme apresentam Síndrome Falciforme. Os portadores de Hb S não têm manifestações clínicas significativas. Em contrapartida, associadas à doença falciforme surgem manifestações clínicas como as crises vaso-oclusivas dolorosas, devido aos GV que apresentam forma falciforme, STA, dactilite, AVCs, priapismo, entre outras. Dentro da doença falciforme, a AF é a mais prevalente, seguida da hemoglobinopatia SC e da hemoglobinopatia S/ β -talassemia.

A HU é um fármaco que é utilizado há muitos anos na doença falciforme, porém existem alguns doentes que são refratários ou que não respondem ao tratamento da forma esperada. Felizmente, estão a surgir, cada vez mais, novas terapêuticas, como o crizanlizumab e o voxelotor, das quais os doentes podem beneficiar. Por isso, é crucial que continue a existir investigação em doenças raras, nomeadamente, na Drepanocitose.

Atualmente, o TCEH é a única terapia curativa. No entanto, o transplante tem muitas limitações e, por isso, é necessária mais investigação de forma a incrementar os dados de segurança do mesmo. Tem-se verificado cada vez mais progressos ao nível da terapia genética, estando já ensaios clínicos em curso. Assim, especula-se que cada vez mais doentes sejam elegíveis para o tratamento e que, conseqüentemente, a qualidade de vida dos mesmos seja melhor.

A doença falciforme é cada vez mais comum em todo o mundo, porém tem uma grande prevalência em África e nos Estados Unidos da América, sendo que as taxas de mortalidade são maiores nos países em desenvolvimento. Desta forma, é importante tentar colmatar esta situação de modo que todas as pessoas tenham a mesma possibilidade de serem acompanhadas por profissionais de saúde. É igualmente importante dar voz a campanhas de Saúde Pública neste âmbito, bem como aumentar a visibilidade e o papel das Associações de doentes.

O diagnóstico laboratorial é fulcral, uma vez que permite implementar medidas que diminuam a morbidade e a mortalidade. O diagnóstico laboratorial só está completo quando há um segundo método que confirma o resultado obtido em primeira instância. Os métodos de diagnóstico mais utilizados para detetar a doença falciforme incluem o hemograma, a eletroforese da Hb e a HPLC. Algumas técnicas inovadoras estão a ser desenvolvidas.

A par do diagnóstico, o rastreio neonatal é uma medida que permite identificar recém-nascidos com Drepanocitose e, também, portadores da doença. Desta forma, estas crianças podem ser acompanhadas nos Serviços de Saúde, logo desde o nascimento, de forma a evitar possíveis complicações. Assim, os pais e/ou cuidadores são informados não só acerca da doença e das suas manifestações clínicas, como também sobre todos os cuidados a ter.

Citando Jacinto de Magalhães “uma gota de sangue, obtida através de uma simples picada, pode mudar o rumo de uma vida”.

Referências Bibliográficas

1. Steensma DP, Shampo MA, Kyle RA. Max Perutz and the Structure of Hemoglobin. *Mayo Clin Proc.* 2015;90(8).
2. AN S. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine ASH 50th anniversary review Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. Vol. 112, *Blood.* 2008.
3. Teixeira A, Garcia C, Ferreira T, Dias A, Trindade C, Barroso R. Rastreio Neonatal de Hemoglobinopatias: A Experiência de um Hospital de Nível II na Área Metropolitana de Lisboa. *Acta Pediatr Port.* 2018;49.
4. Elliott P Vichinsky M. Overview of compound sickle cell syndromes [Internet]. 2022. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/overview-of-compound-sickle-cell-syndromes>
5. Risoluti R, Colah R, Materazzi S. Editorial: Frontiers in hemoglobinopathies: New insights and methods. *Front Mol Biosci.* 2021;8(March):8–10.
6. Pellegrino A. Sickle cell disease. *US Pharm.* 2007;32(12).
7. Pecker LH, Naik RP. The current state of sickle cell trait: Implications for reproductive and genetic counseling. *Blood and Hematol 2018 American Society of Hematology Educ Progr.* 2018;132.
8. Benenson I, Porter S, Vitale T. Sickle Cell Trait: What Every Nurse Practitioner Should Know. *J Nurse Pract.* 2018;14(9).
9. Traore M, Zohoncon T, Ouedraogo P, Ouattara A, Obiri-Yeboah D, Tao I, et al. Hemoglobin AE, AO-Arab and SO-Arab Genotypes in Burkina Faso: Hematological Parameters, Genotypic and Allelic Frequencies of Hemoglobinopathies. *J Hum Clin Genet.* 2020;2(1).
10. K Sathi B. Hemoglobin SC Disease: Phenotypic Variability and Therapeutic Options. *Am J Biomed Sci Res.* 2020;7(5).
11. Lydia H. Pecker, Beverly A. Schaefer LL-J. Knowledge Insufficient: The Management of Haemoglobin SC Disease. *Br J Haematol.* 2017;176(4).
12. John P. Greer, George M. Rodgers, Bertil Glader, Daniel A. Arber, Robert T. Means Jr., Alan F. List et al. *Wintrobe's Clinical Hematology.* 14th Editi. LWW; 2019.
13. Vissa M, Vichinsky E. Voxelotor for the treatment of sickle cell disease. *Expert Rev Hematol.* 2021;14(3).
14. Neumayr LD, Hoppe CC, Brown C. Sickle cell disease: current treatment and emerging therapies. *Am J Manag Care.* 2019;25(18).
15. Jesús EG de. Sickle-cell gene therapies offer hope — and challenges [Internet]. 2022. Available from: <https://www.sciencenewsforstudents.org/article/gene-therapy-sickle-cell-disease-esrick-genetics>
16. Ilyas S, Simonson AE, Asghar W. Emerging point-of-care technologies for sickle cell disease diagnostics. *Clin Chim Acta.* 2020;85–91.
17. Arishi WA, Al-hadrami HA, Zourob M. Techniques for the detection of sickle cell disease: A review. *Micromachines.* 2021;22.

18. Saha D, Patgaonkar M, Shroff A, Ayyar K, Bashir T, Reddy KVR. Hemoglobin Expression in Nonerythroid Cells: Novel or Ubiquitous? *Int J Inflam*. 2014;8.
19. Thomas C, Lumb AB. Physiology of haemoglobin. *Contin Educ Anaesthesia, Crit Care Pain*. 2012;251–6.
20. Nascimento FAP, Silva D da C. Drepanocitose. 2007;
21. Thom CS, Dickson CF, Gell DA, Weiss MJ. Hemoglobin variants: Biochemical properties and clinical correlates. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013;3(3).
22. Hussain KK, Moon JM, Park DS, Shim YB. Electrochemical Detection of Hemoglobin: A Review. *Electroanalysis*. 2017;29:2190–9.
23. Martin H Steinberg M. Structure and function of normal hemoglobins [Internet]. 2021. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/structure-and-function-of-normal-hemoglobins>
24. Clark KD. Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and other Body Fluid Proteins. *Subcell Biochem*. 2020;94:945–82.
25. Panawala L. What is the Function of Hemoglobin in the Human Body PAN - Biotech : PANfect Reagents - Efficient Cell Transfection What is the Structure of Hemoglobin. *Pediaa*. 2017;7.
26. Ronald Hoffman, MD; Edward J. Benz, Jr., MD; Leslie E. Silberstein M. Hematology, Basic Principles and Practice. 7th Editio. Elsevier. 2018.
27. Chung J, Chen C, Paw BH. Heme metabolism and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol*. 2012;19(3).
28. Chiabrando D, Mercurio S, Tolosano E. Heme and erythropoiesis: More than a structural role. *Haematologica*. 2014;99(6).
29. Guilherme Pinheiro Santos. Uso da Terapia Fotofinâmica no Tratamento do Doente Oncológico: Revisão de Literatura. 2018;52.
30. Pelechano V. Automating the development of information systems with the MOSKitt open source tool. *Proceedings - International Conference on Research Challenges in Information Science*. 2012.
31. Tobergte DR, Curtis S. O Uso Clínico do Sangue na Medicina, Obstetrícia, Pediatria e Neonatologia, Cirurgia e Anestesia, Traumas e Queimaduras. *J Chem Inf Model*. 2013;53(9).
32. Patrick T McGann, MD, MSCharles T Quinn, MD M. Methods for hemoglobin analysis and hemoglobinopathy testing [Internet]. 2021. Available from: https://www.uptodate.com/contents/methods-for-hemoglobin-analysis-and-hemoglobinopathy-testing?search=hemoglobin-synthesis&source=search_result&selectedTitle=15~150&usage_type=default&display_rank=15
33. Steven Fiering, David IK Martin EEB. Globin Synthesis. In: *Encyclopedia of Life Sciences*. 2001. p. 87–134.
34. Elliott P Vichinsky, MDClifford M Takemoto M. Hemoglobin variants including Hb C, Hb D, and Hb E [Internet]. 2021. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/hemoglobin-variants-including-hb-c-hb-d-and-hb-e>
35. Miranda A, Costa S, Seuanes F, Gaspar G, Picanço I, Seixas T. Estudo bioquímico de

- portadores de hemoglobinopatias. Inst Nac Saúde Doutor Ricardo Jorge. 2013;
36. Huits R, Feyens A-M, Lonneville N, Peyrassol X, Adam A-S, Gulbis B, et al. Diagnosis and clinical relevance of co-inheritance of haemoglobin D-Punjab/ β^+ -thalassemia traits in an immigrant Afghan family. *J Clin Pathol*. 2022;
 37. Keohane EM, Otto CN, Walenga JM. *Hematology Clinical Principles and Applications*. 2016.
 38. Warghade S, Britto J, Haryan R, Dalvi T, Bendre R, Chheda P, et al. Prevalence of hemoglobin variants and hemoglobinopathies using cation-exchange high-performance liquid chromatography in central reference laboratory of India: A report of 65779 cases. *J Lab Physicians*. 2018;
 39. Santis V. Foreword-Advances in Hemoglobinopathies: A new section of *Acta Biomedica*. *Acta Biomed*. 2021;92(4).
 40. Makkawi M, Alasmari S, Hawan AA, Al Shahrani MM, Dera AA. Hemoglobinopathies: An update on the prevalence trends in Southern Saudi Arabia. *Saudi Med J*. 2021;42(7).
 41. Costa SN, Madeira S, Sobral MA, Delgadinho G. Hemoglobinopatias em Portugal e a intervenção do médico de família. *Rev Port Clínica Geral*. 2016;32(6).
 42. Martins MC, Olim G, Melo J, Magalhaes HA, Rodrigues MO. Hereditary anaemias in Portugal: Epidemiology, public health significance, and control. *J Med Genet*. 1993;30(3).
 43. A Victor Hoffbrand, Douglas R Higgs DMK and ABM. *Postgraduate Haematology*, Seventh Edition. Wiley. 2016.
 44. Vaz A, Capelo J, Martins B, Henriques P. Dores osteo-articulares: Um caso da doença da HbSC/alfa-talassémia. *Acta Med Port*. 2011;24(3).
 45. McCavit TL. Sick cell disease. *Pediatr Rev*. 2012;33(5).
 46. McCormick M, Osei-Anto HA, Martinez RM. Addressing sickle cell disease. *Addressing Sickle Cell Disease*. 2021.
 47. Kotila TR. Sickle Cell Trait: A Benign State? *Acta Haematol*. 2016;136(3):147–51.
 48. Zehner N, Adrama H, Kakuru A, Andra T, Kajubi R, Conrad M, et al. Age-Related Changes in Malaria Clinical Phenotypes during Infancy Are Modified by Sickle Cell Trait. *Clin Infect Dis*. 2021;73(10):1887–95.
 49. Malaria P to end. What is Malaria? [Internet]. 2022. Available from: <https://endmalaria.org/about-malaria/what-malaria>
 50. Steensma DP, Kyle RA, Shampo MA. Walter Clement Noel—First Patient Described With Sickle Cell Disease. *Mayo Clin Proc*. 2010;85(10):e74–5.
 51. Sundd P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2019;14.
 52. Inusa BPD, Hsu LL, Kohli N, Patel A, Ominu-Evbota K, Anie KA, et al. Sickle cell disease—genetics, pathophysiology, clinical presentation and treatment. *Int J Neonatal Screen*. 2019;5(2).
 53. Quinteros M. Anemia de Células Falciformes. 2012;14(2).
 54. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Prim*. 2018;4.

55. Salinas Cisneros G, Thein SL. Recent Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. *Front Physiol.* 2020;11(May).
56. A. Victor Hoffbrand; Paul A. H. Moss. *Hoffbrand's Essential Hematology.* Seventh Ed. 2016.
57. Abboud MR. Standard management of sickle cell disease complications. *Hematol Oncol Stem Cell Ther.* 2020;13(2).
58. Chekroun M, Chérifi H, Fournier B, Gaultier F, Sitbon IY, Ferré FC, et al. Oral manifestations of sickle cell disease. *Br Dent J.* 2019;226(1).
59. Monus T, Howell CM. Current and emerging treatments for sickle cell disease. *J Am Acad Physician Assist.* 2019;32(9).
60. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert S V., et al. Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med.* 1995;332(20):1317–22.
61. European Medicines Agency. EU/3/03/154: Orphan designation for the treatment of sickle cell syndrome [Internet]. Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/orphan-designations/eu303154>
62. Piccin A, Murphy C, Eakins E, Rondinelli MB, Daves M, Vecchiato C, et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. *Eur J Haematol.* 2019;102(4):319–30.
63. Berthaut I, Bachir D, Kotti S, Chalas C, Stankovic K, Eustache F, et al. Adverse effect of hydroxyurea on spermatogenesis in patients with sickle cell anemia after 6 months of treatment. *Blood.* 2017;130(21).
64. Sahoo LK, Kullu BK, Patel S, Patel NK, Rout P, Purohit P, et al. Study of seminal fluid parameters and fertility of male sickle cell disease patients and potential impact of hydroxyurea treatment. *J Appl Hematol.* 2016;7(3).
65. Lydia H. Pecker, Sarah Hussain, Jaanvi Mahesh, Ravi Varadhan, Mindy S. Christianson SL. Diminished ovarian reserve in young women with sickle cell anemia. 2022;194(6).
66. Endari (L-glutamine) for Sickle Cell Disease [Internet]. 2021. Available from: <https://sicklecellanemianews.com/endari-l-glutamine/>
67. Leibovitch JN, Tambe A V., Cimpeanu E, Poplawska M, Jafri F, Dutta D, et al. L-glutamine, crizanlizumab, voxelotor, and cell-based therapy for adult sickle cell disease: Hype or hope? *Blood Rev.* 2022;8.
68. Resumo das Características do Medicamento, Adakveo [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/adakveo-epar-product-information_pt.pdf
69. Stevens DL, Hix M, Gildon BL. Crizanlizumab for the Prevention of Vaso-Occlusive Pain Crises in Sickle Cell Disease. *J Pharm Technol.* 2021;37(4).
70. Resumo das Características do Medicamento, Oxbryta [Internet]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/oxbryta-epar-product-information_pt.pdf
71. Shah N, Lipato T, Alvarez O, Delea T, Lonshteyn A, Weycker D, et al. Real-world effectiveness of voxelotor for treating sickle cell disease in the US: a large claims data analysis. *Expert Rev Hematol.* 2022;15(2):167–73.

72. Howard J. Sickle cell disease: When and how to transfuse. *Hematol (United States)*. 2016;625–31.
73. Abboud MR. Standard management of sickle cell disease complications. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2020;13(2):85–90.
74. Meier ER. Treatment Options for Sickle Cell Disease. *Pediatr Clin North Am*. 2018;65(3):427–43.
75. Sharma D, Ogbenna AA, Kassim A, Andrews J. Transfusion support in patients with sickle cell disease. *Semin Hematol*. 2020;39–50.
76. Oringanje C, Nemecek E, Oniyangi O. Hematopoietic stem cell transplantation for people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;2020(7).
77. Falcon JK and C. Gene therapy for sickle cell disease : where we are now ? *Soc Hematol*. 2021;174–80.
78. Ana Margareh Alves, Maria Cândida Alencar de Queiroz, Miranete Trajano de Arruda PIC de A. Doença Falciforme - Conhecer para Cuidar. Ministério da Saúde. 2015;40.
79. National Center on Birth Defects and Developmental Disorders. What You Should Know About Sickle Cell Trait What. National Heart Lung and Blood Institute. 2017;2.
80. Sathi BK. Hemoglobin SC Disease : Phenotypic Variability and Therapeutic Options. *Am J Biomed Sci Res*. 2020;7(5).
81. Rees DC, Thein SL, Osei A, Drasar E, Tewari S, Hannemann A, et al. The clinical significance of K-CL cotransport activity in red cells of patients with HbSC disease. *Haematologica*. 2015;100(5).
82. Huisjes R, Bogdanova A, van Solinge WW, Schiffelers RM, Kaestner L, van Wijk R. Squeezing for life - Properties of red blood cell deformability. *Front Physiol*. 2018;9(656).
83. Debra A. Vedro BM. Hemoglobin Sickle Cell (SC) Disease. *Texas Dep Heal*. 2015;2.
84. Bibek Karna SKJ. Hemoglobin C Disease [Internet]. 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559043/>
85. Hemoglobin C Disease [Internet]. St. Jude Children’s Research Hospital. 2022. Available from: <https://www.stjude.org/treatment/disease/sickle-cell-disease/diagnosing-sickle-cell/hemoglobin-c-trait.html>
86. Health ID of P. Sickle Cell Beta Thalassemia Disease [Internet]. 2022. Available from: http://www.idph.state.il.us/HealthWellness/fs/sickle_cell_beta_thalassemia.htm
87. Costa FF, Conran N. Sickle Cell Anemia: From Basic Science to Clinical Practice. *Hematol Center, Sch Med Sci Univ Campinas*. 2016;319–37.
88. Papadopoulou E, Teli A, Theodoridou S, Gompakis N EM. Safety and Efficacy of Hydroxyurea in Children and Adolescents with Sickle/Beta-Thalassemia: The Greek Experience. *Haematologica*. 2015;19(2):172–5.
89. Sciences NC for AT. Sickle Beta Thalassemia [Internet]. 2022. Available from: <https://rarediseases.info.nih.gov/diseases/10333/sickle-beta-thalassemia/diagnosis>
90. Administration HR& S. S, beta-thalassemia [Internet]. 2022. Available from: <https://newbornscreening.hrsa.gov/conditions/s-beta-thalassemia>
91. Nicklaus Children’s Hospital. Sickle Beta + Thalassemia [Internet]. 2022. Available

- from: <https://www.nicklauschildrens.org/conditions-we-treat/sickle-beta-thalassemia>
92. St. Jude Children’s Research Hospital. Sickle beta (S β) thalassemia disease [Internet]. 2022. Available from: <https://www.stjude.org/treatment/disease/sickle-cell-disease/diagnosing-sickle-cell/beta-thalassemia-trait.html>
 93. Makani J, Ofori-Acquah SF, Nnodu O, Wonkam A, Ohene-Frempong K. Sickle Cell Disease: New Opportunities and Challenges in Africa. *Sci World J.* 2013;16.
 94. Marilena Oshiro, Adelino Poli Neto, Karen Miguita, Cecília Waranabe DP. Estudo comparativo entre os testes de solubilidade, falcização e gel-centrifugação para detecção populacional da hemoglobina S. 1999;58(2):53–6.
 95. Yunus, Alapan, Arwa Fraiwan, Erdem Kucukai, M. Noman Hasan, Ryan Ung, Myeongseop Kim, Isaac Odame, Jane A. Little UAG. Emerging Point-of-Care Technologies for Sickle Cell Disease Screening and Monitoring. *HHS Public Access.* 2016;13(12):1073–93.
 96. Nair S. Potential Pitfalls in Using HPLC and its Interpretation in Diagnosing HbS. *J Rare Dis Res Treat.* 2018;3(3).
 97. Division of Hematology, Cincinnati Children’s Hospital Medical Center; Department of Pediatrics U of CC of M. Sickle Cell Disease in Childhood: From Newborn Screening Through Transition to Adult Medical Care. *Pediatr Clin North Am.* 2013;60(6):1363–81.
 98. BioMedomics. Sickle SCAN [Internet]. 2022. Available from: <https://www.biomedomics.com/products/hematology/sicklescan/>
 99. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Prim.* 2018;4:1–22.
 100. Thaker P, Colah RB, Patel J, Raicha B, Mistry A, Mehta V, et al. Newborn Screening for Sickle Cell Disease Among Tribal Populations in the States of Gujarat and Madhya Pradesh in India: Evaluation and Outcome Over 6 Years. *Front Med.* 2022;8.
 101. Luis F, Moncayo G. Standards for the Clinical Care of Adults with Sickle Cell Disease in the UK. 2018.
 102. Jorge IN de SDR. Instituto Ricardo Jorge alarga estudo piloto para o rastreio neonatal da drepanocitose [Internet]. 2022. Available from: <https://www.insa.min-saude.pt/instituto-ricardo-jorge-alarga-estudo-piloto-para-o-rastreio-neonatal-da-drepanocitose/>
 103. Matthie N, Jenerette C. Understanding the Self-Management Practices of Young Adults with Sickle Cell Disease. *J Sickle Cell Dis Hemoglobinopathies.* 2017;76–87.
 104. Matthie N. Sickle Cell Disease: The Role of Self-Care Management. Graduate Thesis and Dissertation. 2013.
 105. Druye A, Robinson B, Nelson K. Self-management recommendations for sickle cell disease: A Ghanaian health professionals’ perspective. *Heal Sci Reports.* 2018;9.
 106. Novartis. Manual for Sickle Cell Disease. 2021.
 107. Associação Portuguesa de Pais e Doentes com Hemoglobinopatias [Internet]. 2022. Available from: <https://www.appdh.org.pt/>
 108. Division of Blood Disorders. Living Well With Sickle Cell Disease: Self-Care Toolkit. National Center on Birth Defects and Developmental Disabilities. 2018.