



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Vanessa Monteiro Voll

**Avaliação da capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia
falciforme**

Rio de Janeiro

2020

Vanessa Monteiro Voll

Avaliação da capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme



Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade do Estado do Rio de Janeiro: Nutrição.

Orientadora: Prof.^a Dra. Marta Citelli dos Reis

Rio de Janeiro

2020

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CEH/A

V923 Voll, Vanessa Monteiro.
Avaliação da capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia
falciforme / Vanessa Monteiro Voll. – 2020.
100 f.

Orientadora: Marta Citelli dos Reis.
Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto
de Nutrição.

1. Nutrição – Teses. 2. Anemia falciforme – Teses. 3. Sobrecarga de Ferro –
Teses. I. Reis, Marta Citelli dos. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Instituto de Nutrição. III. Título.

es CDU 612.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta
dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Vanessa Monteiro Voll

Avaliação da capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 17 de dezembro de 2020.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Marta Citelli dos Reis (orientadora)
Instituto de Nutrição - Uerj

Prof^a. Dr^a. Cláudia dos Santos Cople Rodrigues
Instituto de Nutrição - Uerj

Prof^a. Dr^a. Elizabeth Accioly
Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ

Rio de Janeiro
2020

DEDICATÓRIA

À minha família, que sempre acreditou em meu potencial e de ser merecedora de grandes conquistas.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pelo desenvolvimento dessa dissertação, pois Ele que me deu calma nos momentos de insegurança e mostrou-me que sou capaz de desenvolver um bom trabalho. Sem Ele seria tudo mais difícil, então fica o meu eterno agradecimento.

Agradeço também à minha orientadora Marta Citelli dos Reis por ter aceitado me orientar e feito isso de forma tão dedicada e atenciosa. Sem ela, nada disso seria possível. Muito obrigada por me orientar, incentivar e me proporcionar tanto conhecimento. A Marta é aquela orientadora que faz do impossível, possível, que corre atrás junto com o aluno, se dedicando ao máximo para que o trabalho seja concluído com sucesso.

À Juliana Omena, minha dupla durante todo esse período. Meu eterno agradecimento a essa pessoa que vivenciou e compartilhou comigo todas as angústias e conquistas. Sempre do meu lado me auxiliando em dúvidas e dificuldades que surgissem. A vitória da conclusão desse trabalho também é dela.

À minha família, pais e irmãos, que vivenciaram junto comigo todo o tempo dedicado ao trabalho, me apoiando e incentivando a cada segundo. Tenho consciência que todo esse apoio é importante e fundamental para que o trabalho flua de maneira mais tranquila e com menos estresses, mesmo em um contexto turbulento.

Às meninas integrantes do NUTRIFAL, que acompanharam toda a trajetória, dando apoio, ajudando no que fosse necessário e deixando o processo mais leve.

À querida Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), por esses 8 anos de acolhida, me proporcionando muitos sorrisos, conquistas e amadurecimento. São muitos anos sendo a minha segunda casa, então o carinho e cuidado que tenho por ela são imensos.

Ao Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e ao Instituto de Hematologia de Arthur Siqueira Cavalcanti (Hemorio) por permitirem a realização da pesquisa nas referidas instituições.

Ao Laboratório de Desenvolvimento Analítico (LaDA) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial ao Prof. Dr. Ricardo Erthal Santelli e ao Prof. Bernardo Ferreira Braz, pela realização das análises e cálculos para obtenção dos valores de absorção do Fe⁵⁷, parte fundamental do trabalho.

Ao Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional (LIAN) e ao Laboratório de Fisiopatologia e Bioquímica da Nutrição, pela utilização de seus espaços.

Ao Dr. Gustavo Federico Jauregui, que nos ajudou com a realização dos exames de ressonância magnética no HUPE, enriquecendo ainda mais o estudo.

Aos professores que compuseram as bancas de qualificação e defesa, Prof^a. Dr^a. Cláudia dos Santos Cople Rodrigues, Prof^a. Dr^a. Elizabeth Accioly, Prof. Dr. Cristiano Siqueira Boccolini, Prof^a. Dr^a. Jorginete de Jesus Damião Trevisani e Prof^a. Dr^a. Sylvia Thomas, pelas valiosas contribuições para a construção desta dissertação.

Aos professores e colegas do Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde da UERJ.

Ao Ministério da Saúde e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo financiamento deste projeto.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela bolsa de mestrado concedida.

A todos os participantes e seus responsáveis que concordaram com a participação deste estudo, pela confiança e disponibilidade. Sem vocês este trabalho não seria possível, muito obrigada!

A vida é movimento, a vida é esforço, é marchar para frente, escalar montanhas, ascender em direção a futuras revelações, nada é mais perigoso do que querer descansar.

Mira Alfassa

RESUMO

VOLL, Vanessa. *Avaliação da Capacidade de Absorção de Ferro em Crianças com Anemia Falciforme*. 2020. 100 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia caracterizada por inflamação, fenômenos de vaso-oclusão e hemólises crônicas. Fatores intrínsecos à doença podem influenciar de forma positiva ou negativa na síntese da hepcidina, hormônio responsável pela homeostase de ferro. A eritropoiese intensa e a anemia hemolítica podem ocasionar a redução deste hormônio, acarretando aumento da absorção intestinal deste micronutriente. No entanto, a sobrecarga de ferro transfusional observada em alguns pacientes, assim como o quadro inflamatório, poderiam levar ao aumento da produção de hepcidina e, conseqüentemente, reduzir a absorção intestinal de ferro. Estudos clínicos realizados em adultos, observaram que as concentrações séricas deste hormônio diferiram em função da carga de ferro, tendo os participantes com sobrecarga deste mineral e AF apresentado maiores concentrações de hepcidina se comparados aos participantes com AF sem sobrecarga e aos controles sem a doença. Estes dados sugerem que os indivíduos expostos à carga excessiva de ferro não precisariam reduzir a ingestão de alimentos ricos neste micronutriente, orientação comumente prescrita por profissionais de saúde. Contudo, estes resultados ainda não são suficientes para estabelecer uma abordagem nutricional segura para estes indivíduos, visto que a estimativa da capacidade de absorção de ferro precisa ser melhor compreendida. Estas informações são importantes especialmente para as crianças, porque a redução do consumo de determinadas fontes alimentares como carnes e feijões, pode levar à deficiência de micronutrientes fundamentais para o seu crescimento e desenvolvimento. Assim, o objetivo deste estudo é avaliar a capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme. Este é um estudo experimental, realizado com 14 crianças (idade mediana: 8,0 anos; intervalo interquartil: 7 – 9 anos) divididas nos seguintes grupos e pareadas por sexo, cor/raça e idade: controle, composto por indivíduos sem a doença (n=2); AF sem sobrecarga de ferro (n=8); e AF com sobrecarga de ferro (n=4). A avaliação da capacidade de absorção de ferro foi realizada por meio da marcação de um alimento padronizado (100 mL de suco de laranja) com o isótopo estável ^{57}Fe (5 mg). Amostras de sangue foram obtidas no tempo basal e 14 dias após a ingestão do isótopo, sendo a relação isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ determinada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). O percentual de absorção de ^{57}Fe foi estatisticamente diferente entre os três grupos estudados (3,9%, crianças com AF e sobrecarga de ferro; 18,2%, crianças com AF e sem sobrecarga de ferro; e 12,7%, crianças sem a respectiva doença). No grupo de crianças com AF sem sobrecarga de ferro foi encontrada correlação positiva de grau moderado entre ferritina e hepcidina ($r = 0,762$; $p < 0,05$) e correlação negativa de grau forte entre ferritina e percentual de absorção de ^{57}Fe ($r = -0,962$; $p < 0,05$). No mesmo grupo, o percentual de HbS foi fortemente correlacionado com o percentual de absorção de ferro ($r = 0,976$; $p < 0,05$). O percentual de absorção de ^{57}Fe não se correlacionou com a hepcidina e com a concentração hepática de ferro em nenhum dos grupos. Possivelmente, devido ao pequeno número amostral do grupo com sobrecarga, não foi encontrada correlação entre absorção de ferro e ferritina. O percentual de absorção de ferro intestinal encontrado nas crianças com AF e sobrecarga de ferro sugere que talvez não sejam necessárias as recomendações de restrição de alimentos fontes de ferro às quais estes indivíduos são frequentemente submetidos.

Palavras chave: Hepcidina. Ferritina. Sobrecarga de Ferro. Crianças. Anemia falciforme. Isótopos estáveis.

ABSTRACT

VOLL, Vanessa. *Intestinal iron absorption in children with sickle cell anemia*. 2020. 100 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Sickle cell anemia (SCA) is a hemoglobinopathy characterized by inflammation, vaso-occlusion phenomena and chronic hemolysis. Hepcidin is the hormone mainly responsible for iron homeostasis and intestinal absorption. Recent studies have observed that iron load influences in serum hepcidin concentrations. To establish a safe nutritional approach, the estimation of the iron absorption capacity needs to be better understood, especially for children, who have a high rate of growth and development. Evaluate the iron absorption capacity in children with sickle cell anemia. Experimental study, carried out with 14 children (Median = 8.0 years; Interquartile range: 7 - 9 years). Three groups participated in the study: the control group, comprised of individuals without SCA (n=2); those with the disease but without iron overload (n=8); and those with the disease and iron overload (n=4). The evaluation of the iron absorption capacity was performed by marking a standardized food (100 mL of orange juice) with the stable isotope ^{57}Fe (5 mg). Blood samples were collected at baseline and 14 days after ingestion of the isotope and the isotopic relationship between $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ was provided by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). In the group of children with SCA without iron overload, a moderate positive correlation was found between ferritin and hepcidin ($r = 0.762$; $p < 0.05$) and a strong negative correlation between ferritin and ^{57}Fe absorption percentage ($r = -0.962$; $p < 0.05$). In the same group, the HbS percentual was strongly correlated with the percentage of iron absorption ($r = 0.976$; $p < 0.05$). The percentage of ^{57}Fe absorption did not correlate with hepcidin and liver iron concentration in any of the groups. The ^{57}Fe absorption percentage was statistically different among the three groups studied (3.9%, children with SCA and iron overload; 18.2%, children with SCA and without iron overload; and 12.67%, children without the disease). The percentage of intestinal iron absorption found in children with SCA and iron overload suggests that the recommendations for restriction of iron source foods, to which these individuals are frequently submitted, may not be necessary.

Keywords: Hepcidin. Iron overload. Children. Sickle cell anemia. Stable isotopes.

RESUMEN

VOLL, Vanessa. *Evaluación de la capacidad de absorción de hierro en niños con anemia de células falciformes*. 2020. 100 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

La anemia de células falciformes (ACF) es una hemoglobinopatía caracterizada por inflamación, fenómenos de vasooclusión y hemólisis crónica. La hepcidina es la hormona principal responsable de la homeostasis del hierro y la absorción intestinal. Estudios recientes han observado que la carga de hierro influye en las concentraciones séricas de hepcidina. Para establecer un enfoque nutricional seguro, es necesario comprender mejor la estimación de la capacidad de absorción de hierro, especialmente para los niños, que tienen una alta tasa de crecimiento y desarrollo. Evaluar la capacidad de absorción de hierro en niños con anemia de células falciformes. Estudio experimental, realizado con 14 niños (mediana = 8.0 años; rango intercuartil: 7-9 años). Tres grupos participaron en el estudio: el grupo de control, compuesto por individuos sin ACF (n = 2); aquellos con la enfermedad pero sin sobrecarga de hierro (n = 8); y aquellos con la enfermedad y sobrecarga de hierro (n = 4). La evaluación de la capacidad de absorción de hierro se realizó marcando un alimento estandarizado (100 mL de jugo de naranja) con el isótopo estable ^{57}Fe (5 mg). Las muestras de sangre se ajustaron al inicio y 14 días después de la ingestión del isótopo, con una relación isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ proporcionada por espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente (ICP-MS). El grupo de niños con ACF sin sobrecarga de hierro tuvo una correlación positiva moderada entre ferritina y hepcidina ($r = 0,762$; $p < 0,05$) y una fuerte correlación negativa entre ferritina y porcentaje de absorción de ^{57}Fe ($r = -0,962$; $p < 0,05$). En el mismo grupo, la HbS obtuvo una fuerte correlación positiva con esta última ($r = 0,976$; $p < 0,05$). No hubo correlación significativa entre el porcentaje de absorción de ^{57}Fe y hepcidina y concentración de hierro hepático en ninguno de los grupos. El porcentaje medio de absorción de ^{57}Fe fue estadísticamente diferente entre los tres grupos estudiados (3,9%, niños con ACF y sobrecarga de hierro; 18,2%, niños con ACF y sin sobrecarga de hierro; y 12,67%, niños sin la enfermedad). El porcentaje de absorción intestinal de hierro que se encuentra en los niños con ACF y sobrecarga de hierro sugiere que las recomendaciones para la restricción de alimentos con fuentes de hierro, a las que estos individuos se someten con frecuencia, pueden no ser necesarias.

Palabras clave: Hepcidina. Sobrecarga de hierro. Niños. Anemia de células falciformes. Isótopos estables.

PRINCIPAIS ACHADOS

Esta pesquisa possibilitou identificar a diminuição percentual de absorção de ferro intestinal nas crianças com anemia falciforme e sobrecarga de ferro, sugerindo que não se fariam mais necessárias as recomendações de restrição do consumo de alimentos fonte de ferro às quais estes indivíduos são frequentemente submetidos.

Não foi encontrada correlação da hepcidina, hormônio considerado o principal regulador da absorção de ferro, com os percentuais de absorção deste mineral. No entanto, a ferritina, conhecida por ser a proteína de reserva de ferro, apresentou correlação negativa com o percentual de absorção deste micronutriente, ou seja, quanto maior a concentração sérica de ferritina, menor é a absorção de ferro.

O desenvolvimento de mais estudos acerca do tema, contendo um número maior de participantes que contemplem a presença ou a ausência de sobrecarga de ferro faz-se necessário para melhor compreensão dos mecanismos de regulação da absorção do ferro e das variáveis envolvidas nesse processo. Entretanto, os resultados deste trabalho já podem auxiliar no aprimoramento da abordagem nutricional voltada a estes pacientes.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 - Valores diários de UL, EAR, AI ou RDA para ferro de lactentes até os 13 anos de idade	154
Quadro 2 - Administração da suplementação profilática de sulfato ferroso nos diferentes grupos populacionais	15
Figura 1 – Ação da hepcidina no metabolismo de ferro	25
Figura 2 – Fluxograma dos participantes do estudo	35
Figura 3 – Fluxograma do protocolo de estudo	36
Quadro 3 - Parâmetros utilizados no ICP-MS para a determinação da relação isotópica	40
Figura 4 – Diagrama esquemático do ICP-MS.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características gerais dos grupos participantes do estudo	54
Tabela 2 – Características específicas dos participantes com anemia falciforme	55
Tabela 3 – Características laboratoriais dos participantes do estudo.....	56
Tabela 4 – Correlação entre a hepcidina sérica (ng/mL) e as variáveis contínuas por grupo..	58
Tabela 5 - Concentração de ferro hepático ($\mu\text{mol/g}$) e do percentual de absorção de ferro (%) por grupo	59
Tabela 6 - Correlação entre percentual de absorção de ferro (%) e as variáveis contínuas por grupo	60
Tabela 7 – Percentual de absorção de ferro, de ferritina, de hepcidina séricas, concentração hepática de ferro (LIC) e concentração esplênica de ferro de cada um dos participantes do estudo	61

LISTA DE SÍMBOLOS

^{54}Fe	isótopo estável de ferro-54
^{56}Fe	isótopo estável de ferro-56
^{57}Fe	isótopo estável de ferro-57
^{58}Fe	isótopo estável de ferro-58
^{60}Ni	isótopo estável de níquel-60
%	porcentagem
$\pm$	mais ou menos
$^{\circ}\text{C}$	grau Celsius
μL	microlitro
Cl^{-}	íon cloro
Fe^{2+}	ferro no estado ferroso
Fe^{3+}	ferro no estado férrico
g	grama
K^{+}	potássio
Kg	quilograma
mg	miligrama
mL	mililitro
ng/mL	nanograma por mililitro
ppm	partes por milhão
W	watts

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	anemia falciforme
ANOVA	análise de variância (analysis of variance)
AVE	acidente vascular encefálico
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CGAN	Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
CTLF	capacidade total de ligação de ferro à transferrina
DAB	Departamento de Atenção Básica
Dcytb	redutase citocromo b duodenal
DECIT	Departamento de Ciência e Tecnologia
DF	doença falciforme
DMT-1	transportador de metal divalente 1 (divalent metal transporter 1)
DNA	ácido desoxirribonucleico
EDTA	ácido etilenodiaminotetraacético
ERFE	eritroferrona
FPN	ferroportina
HbF	hemoglobina fetal
HbS	hemoglobina S
IA	insegurança alimentar
IEHE	Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti
IL-6	interleucina-6
IMC	índice de massa corporal
LIC	concentração hepática de ferro (liver iron concentration)
PCR	proteína C reativa

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	10
1	REFERENCIAL TEÓRICO	12
1.1	Desenvolvimento infantil	12
1.1.1	<u>Necessidades de ferro na infância</u>	13
1.2	Doença falciforme	16
1.2.1	<u>Fisiopatologia e quadro clínico da doença</u>	17
1.2.2	<u>Tratamento da doença falciforme</u>	18
1.3	Metabolismo do ferro	21
1.3.1	<u>Absorção e transporte de ferro</u>	22
1.3.2	<u>Homeostase do ferro</u>	23
1.4	Sobrecarga de ferro na doença falciforme: toxicidade e tratamento	26
1.4.1	<u>Parâmetros de mensuração do ferro</u>	27
1.5	Nutrição na doença falciforme	28
1.6	Testes de absorção	29
3	OBJETIVO	33
3.1	Objetivos específicos	33
4.	MÉTODO	34
4.1	Desenho do estudo	34
4.2	Aspectos éticos	34
4.3	População do estudo	34
4.3.1	<u>Grupos de crianças com anemia falciforme</u>	34
4.3.2	<u>Grupo controle: crianças sem anemia falciforme</u>	35
4.4	Etapas do estudo	35
4.4.1	<u>Análises laboratoriais</u>	37
4.4.2	<u>Capacidade de absorção de ferro</u>	37
4.4.2.1	Dose utilizada do isótopo ^{57}Fe	37
4.4.2.2	Preparo do sulfato ferroso isotopicamente marcado com ^{57}Fe	38
4.4.2.3	Administração do isótopo	39
4.4.2.4	Determinação da relação isotópica entre ^{56}Fe / ^{57}Fe por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)	39

4.4.4	<u>Ficha clínica de pesquisa</u>	42
4.4.5	<u>Ressonância magnética</u>	43
4.4.6	<u>Financiamento</u>	43
4.5	Análise estatística	44
5	RESULTADOS	45
5.1	ARTIGO: Absorção intestinal de ferro em crianças com anemia falciforme	45
	CONCLUSÃO E PERSPECTIVA	67
	REFERÊNCIAS	68
	APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Hospital Universitário Pedro Ernesto	79
	APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os participantes oriundos do Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (IEHE)	81
	APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes sem a Doença Falciforme	84
	APÊNDICE D – Ficha clínica da pesquisa de participantes com a doença falciforme	87
	APÊNDICE E – Ficha clínica da pesquisa de participantes sem a doença falciforme	89
	ANEXO A – Ofício de Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde do Brasil manifestando interesse na realização da pesquisa	91
	ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto	93
	ANEXO C – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (IEHE)	96

INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é a hemoglobinopatia mais prevalente no mundo e é responsável por elevadas taxas de mortalidade nos primeiros anos de vida (IBGE, 2018). Devido à alta incidência, é considerada um problema de saúde pública (ASARE et al., 2018).

A doença originou-se na África e foi trazida para as Américas pela imigração forçada de escravos africanos (ASARE et al., 2018). Estima-se que a cada ano cerca de 275.000 nascidos-vivos tenham DF (MODELL; DARLISON, 2008) e sua incidência varia de acordo com a região, sendo sua frequência proporcional à população de descendentes africanos (FEUCHTBAUM et al., 2012).

No Brasil, a DF distribui-se de forma heterogênea, tendo maior prevalência de heterozigotos para o gene da doença nas regiões norte e nordeste (6% a 10%), enquanto nas regiões sul e sudeste a prevalência varia de 2% a 3% (CANÇADO, 2007). Segundo estimativas do Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), a cada ano nascem no Brasil cerca de 3.500 crianças com DF (BRASIL, 2013a). O estado do Rio de Janeiro é o segundo do país com a maior proporção de nascidos-vivos com DF, onde para cada 1.300 nascidos-vivos, um tem a doença (BRASIL, 2014), enquanto para o traço falciforme, a proporção é de 1:21 (JESUS, 2010).

A DF é geneticamente determinada pela produção da hemoglobina S (HbS) e quanto ao seu principal mecanismo fisiopatológico, destaca-se a alteração da hemácia para um formato de foice, a qual é menos flexível e possui menor sobrevida comparada à hemácia saudável (RHEA; MOLINARO, 2014). Essa alteração estrutural é responsável pelo aumento da viscosidade sanguínea, que conduz a fenômenos de vaso-occlusão e de hemólise (BALLAS, 2002; STUART; NAGEL, 2004). Devido à complexidade de sua fisiopatologia, não há um tratamento específico para a doença, porém a terapia de transfusão sanguínea é uma prática recorrente, pois permite melhora do fluxo sanguíneo e da capacidade de oxigenação, reduzindo o avanço de complicações clínicas (INATI; KHORIATY; MUSSALAM, 2011).

No entanto, apesar dos reconhecidos benefícios desta terapia, ela pode levar ao aumento da concentração de ferro corporal e ao desenvolvimento de um quadro de sobrecarga de ferro (JOSEPHSON et al., 2007). Nessa condição clínica, o ferro circula em sua forma livre, que é altamente reativa, culminando em danos celulares e teciduais e até mesmo em fibrose e insuficiência funcional de diferentes órgãos (CANÇADO, 2007; WARD, 2010). Considerando os aspectos relacionados à alimentação, os poucos estudos a respeito do tema apresentam lacunas no entendimento sobre o real impacto que o ferro dietético pode ter na

contribuição dessa condição. Em uma tentativa de não agravar esse quadro, muitos profissionais de saúde adotam a conduta de restringir o consumo de fontes alimentares deste micronutriente (OHEMENG; BOADU, 2017), o que para as crianças, que apresentam elevada velocidade de crescimento e desenvolvimento, pode levar à deficiência de micronutrientes fundamentais para o seu desenvolvimento (BLACK, 2012).

Em 2005 foi instituída a Política Nacional de Atenção às Pessoas com Doença Falciforme e de outras hemoglobinopatias por meio da Portaria nº 1391, publicada em 16 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005). A Política tem por objetivo reduzir a morbimortalidade da doença no Brasil e trazer melhor qualidade de vida a todos estes indivíduos (BRASIL, 2005). Todavia, apesar dos esforços para que as políticas públicas voltadas à atenção da DF sejam empregadas em larga escala no nosso país, ainda hoje a doença tem baixa visibilidade e é pouco debatida no meio acadêmico e científico.

Considerando essa realidade, em 2010 foi criado o Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL), uma parceria entre o Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) com a Coordenação de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde. O NUTRIFAL tem como objetivo definir as principais demandas nutricionais das pessoas com doença falciforme, a fim de aprimorar o cuidado nutricional a estes indivíduos, implementar pesquisas na área de nutrição e elaborar diretrizes voltadas para este grupo.

Desta forma, o presente estudo é uma emenda do projeto original, denominado “Avaliação do risco de sobrecarga de ferro por fontes alimentares, suplementação medicamentosa profilática e/ou fortificação com micronutrientes em pó em pessoas com anemia falciforme. ”, e integra uma das linhas de pesquisa desse centro de referência e visa contribuir para o aumento de conhecimento da absorção de ferro na doença falciforme, em especial em crianças com anemia falciforme. Embora o aumento da hepcidina – hormônio regulador da homeostase de ferro – nos indivíduos com DF e sobrecarga de ferro já tenha sido documentado, indicando uma possível diminuição da absorção intestinal deste micronutriente, aspectos como a estimativa da capacidade de absorção de ferro precisam ser aprofundados para elucidar as lacunas existentes a respeito do seu metabolismo e, futuramente, auxiliar na criação de protocolos e de diretrizes que norteiem a conduta nutricional voltada a estas pessoas.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 Desenvolvimento infantil

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define como criança, pessoas com 19 anos ou menos (exceto em situações que a lei nacional defina um indivíduo como adulto em idade precoce). Entretanto, nessas diretrizes há uma subdivisão, sendo considerado adolescente, pessoas entre 10 e 19 anos e como lactentes, as crianças menores de 1 ano (OMS, 2013). No Brasil, segundo o Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), Lei 8.069, de 13 de julho de 1990, consolidada pelo Decreto nº 9.579, de 22 de novembro de 2018, é considerada criança o indivíduo até 12 anos de idade incompletos.

As crianças constituem um grupo com alta morbimortalidade (BRASIL, 2002). No entanto, segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), 2018, há algumas décadas ocorre a redução nas taxas de mortalidade infantil. Comparando os anos de 2001, 2016 e 2017, as taxas foram de 32,7:1000, 13,3:1000 e 12,8:1000 nascidos vivos, respectivamente (IBGE, 2018). Essa diminuição pode ser atribuída à melhora na assistência pré-natal e ao aumento ao acesso adequado de saneamento básico (SILVA; PAES, 2019).

Quanto à distribuição dos níveis de mortalidade pelo país, essa não é homogênea (OLIVEIRA; LUIZ, 2019), variando de acordo com as condições de vida e com os cuidados oferecidos na atenção à saúde da criança, dentre eles a segurança alimentar e nutricional, saneamento básico e vacinação (UNICEF, 2018). Em média, as taxas de mortalidade em crianças menores de cinco anos de idade em áreas rurais são 50% mais altas comparadas às áreas urbanas (UNICEF, 2018). Esses dados despertam um alerta para a identificação de subpopulações expostas aos maiores riscos, e salienta a importância do desenvolvimento e implementação de ações visando o abrandamento dos mesmos.

O período da infância até dois anos de vida é caracterizado pela velocidade de crescimento e desenvolvimento acelerada, período este, decisivo para a saúde durante a vida adulta e formação de hábitos alimentares adequados (BRASIL, 2018). É a fase de maior vulnerabilidade aos distúrbios de crescimento (BRASIL, 2002). Esse, por sua vez, é caracterizado pelo aumento do tamanho corporal, um processo contínuo e dinâmico que sofre influência tanto de fatores intrínsecos quanto extrínsecos, podendo ser considerado um dos indicadores de melhor avaliação da saúde da criança. Destacam-se como fatores extrínsecos: a alimentação, a saúde, a higiene, a habitação, os cuidados gerais e os outros fatores de riscos associados à pobreza (BRASIL, 2002a; JENSEN; BERENS; NELSON, 2017).

Para o acompanhamento do crescimento e do ganho de peso são utilizados os valores de referência das curvas da OMS de 2006, para as crianças menores de cinco anos, e as de 2007, para a faixa etária dos cinco aos 19 anos (BRASIL, 2012). Este acompanhamento permite sinalizar o crescimento adequado, identificar precocemente anormalidades, intervir nos casos de desvios e impedir o desenvolvimento de agravos já encontrados (BRASIL, 2002).

No caso de crianças com AF, historicamente observa-se a presença de desnutrição e atraso de crescimento (CHAWLA et al, 2013) devido à baixa ingestão energética, associada a complicações clínicas inerentes à doença (OHEMENG, BOADU, 2017). No entanto, tem sido observado aumento na prevalência de excesso de peso (CHAWLA et al, 2013). O estudo de Botelho e colaboradores (2019) identificou coexistência de baixo peso (16,2%), de déficit de estatura (35,1%) e de sobrepeso (16,2%) na amostra estudada de crianças brasileiras com AF. Esses dados são preocupantes, uma vez que se sabe que o cuidado nutricional é importante para a melhor qualidade de vida e prognóstico da doença (MATARATZIS; ACCIOLY; PADILHA, 2010).

A alimentação tem papel fundamental em todo o processo de crescimento, de desenvolvimento e de manutenção da saúde, porém são muitos os desafios a serem superados para a prática de uma alimentação adequada e saudável no início da vida. No Brasil, já houve avanços na implementação de políticas públicas que garantam o direito à saúde e à alimentação para as crianças e os adolescentes. No entanto, a realidade de muitas famílias ainda é determinada pela falta de recursos e baixa cobertura dessas políticas. (BRASIL, 2018).

O estudo de Santos et al (2019) identificou que 62,2% das famílias das crianças com DF estudadas estavam em condições de insegurança alimentar, estando 11,1% em insegurança alimentar média e 7,9% em insegurança alimentar grave. Esses valores correspondem ao dobro da média nacional, mostrando maior vulnerabilidade desse grupo (SANTOS et al, 2019).

1.1.1 Necessidades de ferro na infância

A velocidade de crescimento nos primeiros meses de vida é intensa, o que demanda maior atenção à ingestão de calorias e de micronutrientes para evitar o surgimento de carências nutricionais (BLACK, 2012).

Em relação ao ferro, as reservas adquiridas durante a gestação são suficientes apenas para os primeiros quatro a seis meses de vida em um lactente a termo. O lactente pré-termo, nascido com menos de 37 semanas de gestação, ou com baixo peso ao nascer, acumula menos ferro do que o nascido a termo. Isso se deve ao fato de que o terceiro trimestre se constitui

como o período no qual ocorre aumento de peso e de armazenamento de ferro mais significativos (BRASIL, 2012b; BRASIL, 2007a).

Dessa forma, apesar do leite materno possuir pequena quantidade desse micronutriente, esse apresenta alta biodisponibilidade, não havendo necessidade de suplementação de ferro até os seis meses de vida em recém-nascidos a termo, com peso adequado ao nascer e aleitamento materno exclusivo. Caso a criança não esteja em aleitamento materno exclusivo, a suplementação deve ser iniciada a partir dos quatro meses de idade, concomitante à introdução da alimentação complementar (BRASIL, 2012b). Como demonstra a tabela 1, após o esgotamento da reserva, o organismo depende do ferro dietético para evitar o desenvolvimento de um quadro de anemia ferropriva (IOM, 2001; BRASIL, 2007a; BRASIL, 2012b).

Quadro 1- Valores diários de UL, EAR, AI ou RDA para ferro de lactentes até os 13 anos de idade

Estágio da Vida	Ferro		
	UL (mg)	EAR (mg)	AI ou RDA (mg)
Lactentes			
0 - 6 m	40	ND	0,27
7 - 12 m	40	6,9	11
Crianças			
1 - 3 a	40	3	7
4 - 8 a	40	4,1	10
Homens			
9 – 13 a	40	5,9	8
Mulheres			
9 – 13 a	40	5,7	8

Fonte: Adaptado IOM, 2001.

UL (do inglês, *Tolerable Upper Intake Level*): limite superior tolerável de maior ingestão; é o maior nível de ingestão continuada de um nutriente que, com uma dada probabilidade, não coloca em risco a saúde da maior parte dos indivíduos. EAR (do inglês, *Estimated Average Requirement*): mediana da distribuição das necessidades de um nutriente em um grupo de indivíduos saudáveis do mesmo sexo e estágio de vida; atende às necessidades de 50% da população. AI (do inglês, *Adequate Intake*): valor de consumo recomendável. RDA (do inglês, *Recommended Dietary Allowances*): deriva do EAR e deve atender às necessidades de um nutriente para 97% a 98% dos indivíduos saudáveis do mesmo sexo e estágio de vida. ND: não foi possível estabelecer este valor.

A primeira infância consiste no período que abrange os primeiros seis anos completos ou os setenta e dois meses de vida da criança, segundo o Decreto nº 9.579, de 22 de novembro de 2018. É a fase de maior risco de anemia por deficiência de ferro devido a fatores como: as baixas reservas de ferro ao nascer, a alta velocidade de crescimento, as perdas desse mineral, e a ingestão dietética inadequada (BRASIL, 2007a). A carência desse micronutriente é a principal causa de anemia e tem se observado o aumento progressivo de sua prevalência no

público infantil, sendo considerada um dos principais problemas de saúde pública (BLACK, 2012; BRASIL, 2007a). A deficiência de ferro não deve ser negligenciada, pois, apesar de evidências controversas, tem sido associada a defeitos motores e mentais, podendo acarretar em sequelas para toda a vida do indivíduo (LOZOFF, 2007).

Com o objetivo de prevenir e de controlar essa situação, foi adotado como estratégia pelo MS a adoção de várias medidas, como o Programa Nacional de Suplementação de Ferro (PNSF), a política de fortificação obrigatória das farinhas de trigo e de milho com ferro e com ácido fólico, ações de educação alimentar e nutricional para alimentação adequada e saudável, controle de infecções e de parasitoses, e acesso à água e esgoto sanitariamente adequado (BRASIL, 2012b).

A fortificação das farinhas de trigo e de milho foram implementadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pela Resolução RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002 (BRASIL, 2002b), e revista pela RDC nº 150, de 13 de abril de 2017 (BRASIL, 2017) e consiste no enriquecimento obrigatório das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico, contendo teores de 4 a 9 mg ferro/ 100 g de farinha – utilizando-se como compostos o sulfato ferroso ou fumarato ferroso.

O PNSF, desenvolvido desde 2005, consiste em suplementação profilática com sulfato ferroso para todas as crianças de seis a 24 meses de idade e gestantes ao iniciarem o pré-natal até o terceiro mês pós-parto, além de suplementação de gestantes com ácido fólico (Quadro 1) (MS, 2013).

Quadro 2 - Administração da suplementação profilática de sulfato ferroso nos diferentes grupos populacionais

Público	Conduta*	Periodicidade
Crianças de seis a 24 meses	1 mg de ferro elementar/Kg	Diariamente até completar 24 meses
Gestantes	40 mg de ferro elementar e 400 µg de ácido fólico	Diariamente até o final da gestação
Mulheres no pós-parto e pós-aborto	40 mg de ferro elementar	Diariamente até o terceiro mês pós-parto e até o terceiro mês pós-aborto

Fonte: Ministério da Saúde, 2013

* Essas condutas estão de acordo com as recomendações oficiais da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2001; 2012); da Sociedade Brasileira de Pediatria (2013) para prevenção e controle da deficiência de ferro, e da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia (2012), para prevenção de defeito no tubo neural.

O manual de orientações gerais do PNSF destaca a necessidade do acompanhamento individual de crianças e de gestantes que apresentem alguma doença que cursa com acúmulo

de ferro, como DF, talassemia e hemocromatose, para que seja avaliada a viabilidade da suplementação. Não se deve descartar a suplementação para essas crianças até os 24 meses de idade, pois as chances de cursarem com anemia por falta de ferro, na fase de crescimento, são as mesmas (BRASIL, 2013), até onde se sabe. No entanto, o estudo de Botelho e colaboradores (2019), realizado no Rio de Janeiro - Brasil, detectou alto consumo de ferro comparado às recomendações nutricionais em crianças com faixa etária média de 3,9 anos. Stettler e colaboradores (2001), em estudo realizado com crianças e adolescentes afro-americanas diagnosticadas com AF com idade média de 7,3 anos, identificaram que uma dieta balanceada oferece baixo risco para deficiência de ferro, não sendo necessária a suplementação.

Em sua revisão sistemática, Lönnerdal (2017) verificou que a suplementação de ferro em crianças com concentrações de ferro sérico adequadas pode trazer efeitos deletérios à saúde, como: diarreia, interação com os elementos traços, como o cobre e o zinco, diminuição da velocidade de crescimento e de ganho de peso, alteração da microbiota intestinal (com aumento de bactérias patogênicas), aumento de marcadores inflamatórios e prejuízo no desenvolvimento motor e cognitivo. Contudo, os mecanismos responsáveis por tais desfechos negativos ainda não estão completamente elucidados (LÖNNERDAL, 2017).

1.2 Doença falciforme

A DF é uma hemoglobinopatia hereditária e genética que determina a alteração da conformação da hemoglobina normal (HbA), ocasionando a produção da hemoglobina S (HbS). Essa alteração é resultante de uma mutação que promove a troca de uma adenina por uma timina (GAG → GTG) no sexto códon do gene da β -globina, localizado no cromossomo 11, provocando a codificação da valina ao invés do ácido glutâmico (BALLAS, 2002; BRASIL, 2002; CONRAN; FRANCO-PENTEADO; COSTA, 2009).

Existem diversos genótipos da DF, dentre eles: HbSS, HbSC, HbSD, HbSE, e S-talassemias. A HbS em homozigose (HbSS) e a HbS β^0 são consideradas anemia falciforme (AF). Quando há o provimento de apenas um dos alelos do gene anormal (Hb AS), considera-se que esse indivíduo não tem a doença e sim, o traço falciforme, uma condição assintomática (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002).

Um dos principais mecanismos fisiopatológicos da doença é a alteração da hemácia para um formato de foice, evento conhecido como falcização. A hemácia falciforme, por sua vez, tem como característica ser mais densa e rígida e com menor sobrevivência, de 120 dias – vida média de uma hemácia normal – para cerca de 10 a 20 dias (RHEA; MOLINARO, 2014).

Esse quadro é caracterizado pelo aumento da viscosidade sanguínea, que conduz a fenômenos de vaso-oclusão, responsável por explicar a maioria das manifestações clínicas da doença, e de hemólise (BALLAS, 2002; STUART; NAGEL, 2004).

A gravidade fenotípica varia muito entre os indivíduos com DF, podendo ter casos assintomáticos até formas bem graves, onde ocorre diversas intercorrências e hospitalizações frequentes. Pessoas com genótipo HbSS (AF) apresentam, em geral, quadro clínico mais grave da doença. Uma queixa frequente é a crise álgica que pode acometer qualquer segmento do corpo (região lombar, tórax, membros e extremidades), explicadas pela ocorrência de hipóxia, de eventuais lesões teciduais e de inflamação (BALLAS et al., 2012). As manifestações clínicas variam de acordo com a faixa etária. As mais frequentes até os 6 anos de idade são: bacteremia, crise álgica, sequestro esplênico agudo, síndrome coronariana aguda (SCA) e acidente vascular encefálico (AVE), e na adolescência já é possível observar a presença de lesão crônica de órgãos (INATI, 2009).

1.2.1 Fisiopatologia e quadro clínico da doença

O primeiro processo que desencadeia as alterações fisiopatológicas ocorridas na DF é a polimerização da desoxi HbS. Devido à mutação, tornam-se possíveis novos contatos intermoleculares, que dão origem a um pequeno agregado de hemoglobina polimerizada. Conforme há a diminuição do percentual de saturação de oxigênio da hemoglobina, ocorre o progresso da polimerização, com contínua adição de HbS. Esses agregados maiores, organizados paralelamente, formam feixes de polímeros que modificam a arquitetura e flexibilidade da hemácia, dando origem à hemácia falciforme. Outra consequência da polimerização é a desidratação celular. O mecanismo que explica tal desfecho, é a ativação excessiva, estimulada por edema e por acidificação celular, do canal de transporte dos íons potássio e cloro (K^+Cl^-), ocorrendo perda de água e de íons potássio (K^+) e consequente desidratação celular (BALLAS, 2002; BRASIL, 2002).

Devido a estas modificações, as hemácias falciformes tendem a se aglomerar nos vasos sanguíneos obstruindo-os, fenômeno denominado de vaso-oclusão. Por conseguinte, há o impedimento da oxigenação adequada de muitos tecidos corporais, bem como a ativação e a migração de neutrófilos para o local acometido, formando um ambiente pró-inflamatório (ZENNADI et al., 2008). Ademais, há também a depleção do óxido nítrico (NO), importante vasodilatador que age inibindo a ativação plaquetária e a adesão de moléculas, o que pode contribuir para a vasoconstrição e a intensificação da inflamação (BUNN et al., 2010).

Além da vaso-oclusão, outra alteração fisiopatológica importante, é a hemólise crônica (RHEA; MOLINARO, 2014). Este fenômeno ocorre devido o sequestro e a destruição dos eritrócitos, de forma prematura, pelo sistema monocítico fagocitário e, quando aumentada, pode levar à anemia hemolítica crônica. Este quadro é caracterizado pelo aumento dos reticulócitos, pela elevação da bilirrubina e pela presença de icterícia (KATO et al., 2006).

Quanto à variabilidade clínica da DF, pode ser explicada por fatores genéticos ou adquiridos. Dentre os fatores genéticos, observa-se que a gravidade clínica associa-se com o grau de anemia, com os fatores que podem influenciar no processo de polimerização da HbS, e com o genótipo da doença (BALLAS et al., 2010; ZAGO; PINTO, 2007). Em relação aos fatores adquiridos, o nível socioeconômico, as variações na qualidade da alimentação, o acesso à assistência médica e até mesmo os fatores climáticos (temperatura, umidade, qualidade do ar e altitude) contribuem para a gravidade da evolução clínica (BRASIL, 2002a; TEWARI et al., 2015; ZAGO; PINTO, 2007).

Existem diversas complicações clínicas na DF que podem comprometer a qualidade de vida dos indivíduos com a doença - as úlceras de perna, a necrose óssea, a retinopatia e os cálculos biliares – ou até afetar diretamente órgãos vitais, levando ao risco de morte, de infecções e de complicações cardiorrespiratórias, insuficiência renal e AVE (ZAGO; PINTO, 2007). Em relação especificamente ao AVE, é importante ressaltar que esta é uma das mais graves complicações que ocorrem nesta hemoglobinopatia, atingindo 7-13% das crianças com AF (MAZUMDAR et al., 2007). Outro sintoma muito comum na infância, é a síndrome mão-pé, caracterizada por crises de dor nos pequenos vasos sanguíneos das mãos e dos pés, acarretando inchaço, dor e vermelhidão no local (BRASIL, 2002a)

1.2.2 Tratamento da doença falciforme

Com relação aos cuidados às pessoas com AF, já foi relatado no presente trabalho a complexidade da fisiopatologia da doença, não havendo um tratamento específico para a mesma. Em sua maioria, são de natureza paliativa, com o objetivo de preservar a saúde dos indivíduos, fornecer melhor qualidade de vida e diminuir as intercorrências. Dentre eles, estão: medidas de prevenção, de diagnóstico e de cuidado precoce de infecções, aconselhamento para evitar condições climáticas adversas e orientações para uma boa nutrição e adequada ingestão hídrica (BALLAS, 2002; BRASIL, 2002a). Além disso, acompanhamento ambulatorial - 2 a 4 vezes ao ano - e orientações educativas sobre a doença aos familiares e ao indivíduo com

DF contribuem para o bem-estar mental e social, sendo aconselhado o acompanhamento em um único centro de atendimento (BRASIL, 2002a).

Apesar do aumento da expectativa de vida nos últimos anos - de 15 anos de idade em 1970, para 40 anos em 1990- crianças em seus primeiros anos de vida têm alta taxa de mortalidade. Contudo, manejos clínicos como diagnóstico precoce a partir da triagem neonatal, cuidados para a prevenção e o tratamento de infecções, identificação de risco para AVE, transfusões de sangue regularmente agendadas, realização anual e sempre que necessário de exames de rotina, intervenções terapêuticas antecipadas, acesso ao tratamento hospitalar e atendimento integral demonstram melhorar a sobrevida em crianças (BRASIL, 2002a; WANG et al., 2011; ASARE et al., 2018).

As principais estratégias terapêuticas no tratamento da DF são: o uso de medicamentos, principalmente hidroxiureia, e transfusões sanguíneas. Apesar disso, vários estudos iniciais têm sido encorajadores para o desenvolvimento de novos medicamentos que tenham como alvo a adesão celular, as vias inflamatórias, a polimerização da hemoglobina, a coagulação e a ativação plaquetária. Desse modo, espera-se que em um futuro breve existam novos tratamentos para a DF (TELEN, 2016).

O uso de hidroxiureia tem trazido repercussões muito positivas no tratamento tanto de adultos quanto de crianças com DF (BRASIL, 2002a). Este medicamento é capaz de induzir a produção da hemoglobina fetal (Hb F), a qual não tem sua estrutura afetada na DF. Dessa forma, tem o potencial de interferir no processo de polimerização, reduzindo a falcização das hemácias e consequente taxa hemolítica e crises vaso-oclusivas (TELEN, 2016). Além do aumento na síntese de HbF, a hidroxiureia também reduz o número de glóbulos brancos e plaquetas, reduzindo potencialmente seus papéis na adesão vascular (PLATT, 2008).

Devido ao grande número de hemácias produzidas em decorrência da hemólise característica da doença, as reservas de ácido fólico em pessoas com DF geralmente encontram-se esgotadas. Assim, a suplementação com esta vitamina faz-se necessária, visando atender o aumento dos níveis de hemoglobina e contribuindo com uma melhor resposta aos reticulócitos. A diretriz do *National Heart, Lung and Blood Institute* para a DF recomenda a suplementação na dose de 1 mg de ácido fólico/ dia (NDEFO et al., 2008).

As transfusões sanguíneas permitem melhora na capacidade de oxigenação e da perfusão microvascular, diminuição da viscosidade do sangue, correção da anemia e redução da proporção de hemácia falciforme na circulação, reduzindo o avanço de complicações clínicas (JOSEPHSON et al., 2007; DRASAR et al., 2011; INATI; KHORIATY; MUSSALAM, 2011). Apesar de existirem evidências de que a terapia transfusional é eficaz

no tratamento de DF, não há recomendações que estabeleçam um padrão de cuidado, resultando em práticas transfusionais diferentes (JOSEPHSON et al., 2007).

As transfusões podem ser intermitentes ou crônicas. Transfusões intermitentes/esporádicas são aquelas administradas geralmente em quadros agudos, sendo empregadas no intuito de tratar várias manifestações da DF, como melhorar a capacidade do transporte de oxigênio do sangue e a hemólise, em episódios de síndrome torácica aguda, em crises de sequestro esplênico ou no período pré-operatório. Já as transfusões crônicas/regulares são realizadas de forma programada, com o objetivo de prevenir as complicações graves ou a progressão da doença (JOSEPHSON et al., 2007), como na hipertensão pulmonar, na insuficiência renal crônica e na prevenção de AVE – primário ou recorrente – em crianças, por meio da diminuição da HbS a menos de 30% da hemoglobina total circulante no sangue (PEGELow et al., 1995; BALLAS, 2002). Na prevenção de AVE, a terapia com transfusão crônica é considerada padrão ouro, tendo 90% de eficácia na prevenção de AVE em crianças de alto risco (MAZUMDAR et al., 2007; DEDEKEN et al., 2018).

Apesar do reconhecimento dos benefícios clínicos da transfusão, existem complicações associadas a esse procedimento. Quando realizada regularmente, está associada ao aumento do risco de sobrecarga de ferro, aloimunização – formação de anticorpos - e aumento da exposição a doenças infecciosas (MAZUMDAR, 2007). A sobrecarga de ferro pode ser explicada pelo fato de que cada unidade de sangue transfundido contém cerca de 200-250 mg deste mineral e fisiologicamente o organismo humano não é capaz de aumentar sua excreção. Em indivíduos hígidos, o ferro encontra-se no organismo em quantidades constantes, cerca de 4g (GANZ, 2007), enquanto em pessoas que realizam a terapia de transfusão de forma rotineira – com mais de uma transfusão mensal – observa-se o armazenamento de 5 a 10 g de ferro ao ano (HOFFBRAND; TAHER; CAPPELLINI, 2012).

Isso possibilita o desenvolvimento de danos ao indivíduo, levando em consideração que o ferro em sua forma livre, ou seja, não ligado à transferrina, é altamente reativo. Agentes quelantes de ferro foram desenvolvidos para prevenir esse diagnóstico, porém, na ausência de um tratamento adequado, o ferro excedido deposita-se gradativamente em órgãos e tecidos, como: fígado, baço, miocárdio, glândulas endócrinas e medula óssea. Essa deposição pode promover lesão celular e tecidual, fibrose e insuficiência funcional (CANÇADO, 2007). Em muitos casos, esta sobrecarga não é reconhecida e, conseqüentemente, não tratada (BALLAS, 2001). Assim, devido à incerteza do histórico transfusional dos pacientes com DF, deve-se verificar anualmente as concentrações de ferritina sérica para avaliar a presença da sobrecarga de ferro (COATES; WOOD, 2017).

1.3 Metabolismo do ferro

Para melhor compreensão sobre os efeitos da sobrecarga de ferro, faz-se necessário o entendimento do metabolismo deste mineral. O ferro é um componente essencial da hemoglobina e da mioglobina, tendo papel fundamental no transporte de oxigênio. Além disso, participa de uma gama de processos metabólicos no organismo humano, como catálise de reações químicas, geração de energia celular, síntese de DNA, tendo também um importante papel nos citocromos da mitocôndria, mediando a transferência de elétrons (MCDERMID; LÖNNERDAL, 2012).

Os níveis de ferro são mantidos constantes na corrente sanguínea de pessoas saudáveis, por meio da ação da hepcidina, hormônio responsável pela homeostase do ferro (HENTZE et al., 2010; MUCKENTHALER et al., 2017). Em termos de requerimento diário deste micronutriente, a síntese de hemoglobina é responsável pela maior demanda, atingindo cerca de 80% das necessidades. A obtenção do ferro ocorre a partir da reciclagem de hemácias senescentes (20-25 mg/dia), de tecidos de armazenamento de ferro e, em menor quantidade, da absorção intestinal fornecida pela dieta (1-2 mg/dia) (HENTZE; MUCKENTHALER; ANDREWS, 2004; MUCKENTHALER et al., 2017).

No que diz respeito ao ferro proveniente da alimentação, esse encontra-se em duas formas: ferro não-heme (inorgânico), encontrado em grãos, vegetais e alimentos de origem animal, e o ferro heme, proveniente exclusivamente de alimentos de origem animal. O ferro heme é encontrado em menor quantidade nas dietas (5-10% da ingestão diária total desse mineral), porém apresenta maior biodisponibilidade quando comparado ao ferro não heme (SHARP; SRAI, 2007; MCDERMID; LÖNNERDAL, 2012). Entende-se como biodisponibilidade, a fração de um nutriente ingerido que é absorvida e que tem potencial para suprir as demandas fisiológicas em determinados tecidos (HURRELL, 2002).

Quanto à reciclagem de hemácias, os macrófagos do baço, a medula óssea e as células de Kupffer reconhecem as alterações bioquímicas na superfície de hemácias senescentes, ocorrendo uma sinalização para que haja a eliminação das mesmas (FERNANDEZ-BOYANAPALLI et al., 2009; BACK et al., 2014). As hemácias interagem com os receptores específicos nos macrófagos, que levam à fagocitose, processo no qual ocorre a degradação de componentes destes glóbulos vermelhos e, conseqüentemente, a devolução do ferro que estava no seu interior para uma nova síntese de hemácias (KNUTSON; WESSLING-RESNICK, 2003).

1.3.1 Absorção e transporte de ferro

A absorção de ferro heme e não heme, ocorre prioritariamente no duodeno. Indivíduos saudáveis absorvem, aproximadamente, 10% do ferro dietético, o que corresponde a cerca de 1 mg a 2 mg. A biodisponibilidade deste micronutriente é influenciada por diversos fatores: teor de ferro dos alimentos, o tipo de ferro e presença de outros constituintes da dieta, como fatores antinutricionais. A absorção também é regulada de acordo com as demandas metabólicas, com base na quantidade de ferro armazenada no organismo e seus requisitos (SHARP; SRAI, 2007).

O ferro heme possui biodisponibilidade cerca de oito vezes maior quando comparado à forma inorgânica; assim, mesmo que a ingestão de ferro seja menor, ele pode representar um terço do ferro absorvido pelo organismo humano (SHARP; SRAI, 2007; PORTER; GARBOWSKI, 2014). Sua absorção ocorre por mecanismos ainda não totalmente esclarecidos, sendo a proteína HRG-1 (do inglês, *Heme Responsive Gene*, também conhecida como SLC48A1) seu único transportador reconhecido (RAJAGOPAL et al., 2008; ANDERSON; FRAZER, MCLAREN, 2009; MUCKENTHALER et al., 2017). Sabe-se que, no meio intracelular, o ferro contido em seu interior é liberado da protoporfirina por meio da ação da enzima heme oxigenase 1 (FERRIS et al., 1999; HENTZE et al., 2010).

A absorção de ferro não heme é influenciada por componentes da dieta, podendo ser aumentada ou inibida por eles. Os fitatos, encontrados em cereais, e os compostos fenólicos, presentes em chás, chocolates e café, são inibidores da absorção de ferro na forma inorgânica por formarem complexos insolúveis no intestino (FAIRWEATHER-TAIT; HURREL, 1996; DIAZ et al., 2003).

Já o ácido ascórbico é considerado um intensificador de absorção do mesmo. Para o ferro inorgânico ser incorporado pela célula, necessita ser reduzido da sua forma férrica (Fe^{3+}) a íon ferroso (Fe^{2+}), ação realizada pela redutase citocromo b duodenal (Dcytb) - proteína presente na borda em escova no duodeno - e o ácido ascórbico atua como agente redutor, contribuindo com o aumento da biodisponibilidade desse mineral. Após a redução, o Fe^{2+} é carregado para o interior do enterócito pelo transportador de metal divalente DMT-1 (do inglês, *divalent metal transporter 1*) (MCKIE, 2008; PORTER; GARBOWSKI, 2014).

O ferro presente nos enterócitos pode seguir dois caminhos. Quando há baixa necessidade deste micronutriente, permanecerá estocado e será eliminado quando houver a descamação do epitélio intestinal. Ele é armazenado sob a forma de ferritina (solúvel, capaz de manter o ferro ligado à proteína, evita formação de precipitados tóxicos) e hemossiderina

(extremamente insolúvel, permite a formação de agregados de ferro). (TAKAMI; SAKAIDA, 2011).

Contudo, em situações que haja necessidade de ferro, o mineral irá atravessar a membrana basolateral por meio da proteína exportadora de ferro, ferroportina (FPN), também presente em hepatócitos e macrófagos do sistema reticuloendotelial. Exportado para o plasma, será transportado pela transferrina (Tf), uma glicoproteína sintetizada pelo fígado, capaz de captar átomos de ferro e facilitar a sua liberação para as células (ANDERSON; FRAZER, MCLAREN, 2009; COATES, 2014). A Tf sérica possui grande afinidade pelo ferro em seu estado férrico, logo, o Fe^{2+} é oxidado a Fe^{3+} pela ação da hefestina e ceruloplasmina, presentes na membrana basolateral do enterócito e na circulação, respectivamente (ZHANG; ENNS, 2009).

Em geral, o ferro ocupa somente 20-30% dos sítios de ligação desta glicoproteína, porém situações em que a capacidade de ligação da Tf encontra-se totalmente saturada, o ferro circula pelo soro sob a forma de ferro não ligado à Tf, sendo potencialmente tóxico (DE DOMENICO; WARD; KAPLAN, 2008; INATI; KHORIATY; MUSSALAM, 2011). O ferro livre atua como catalizador de reações oxidativas e na síntese de superóxidos e de radicais hidroxilas, que quando convertidos em peróxido de hidrogênio causam a peroxidação lipídica de diversas organelas citoplasmáticas. Por consequência, levam ao estresse oxidativo, com a oxidação de lipídeos e de proteínas, culminando em danos celulares (WARD, 2010). Órgãos como o fígado, o coração e também o sistema endócrino são particularmente expostos ao acúmulo de ferro (WORWOOD, 2002).

O ferro é internalizado na célula por meio da interação do complexo ferro-transferrina ao receptor de transferrina (TfR), localizado na superfície da maioria das células (COATES, 2014). A clivagem deste receptor dará origem ao receptor solúvel de transferrina sérica (sTfR), que poderá ter sua concentração na circulação reduzida, em situações como hipoplasia da série vermelha e insuficiência renal ou aumentada, como observado em anemias hemolíticas, dentre elas a anemia falciforme (SKIKNE, 2008).

1.3.2 Homeostase do ferro

Em adultos saudáveis, a perda de ferro ocorre por meio da descamação da epiderme e do trato gastrointestinal, pelas secreções corpóreas e pelo sangramento menstrual (GREEN et al. 1968; SHARP; SRAI, 2007). No entanto, o organismo humano não possui um mecanismo fisiológico específico que possa aumentar a eliminação do ferro quando esse se encontra em

excesso. Deste modo, a regulação das concentrações deste mineral depende de alguns mecanismos intracelulares e sistêmicos imprescindíveis na aquisição, na estocagem e na exportação, visando evitar a falta ou um possível excesso de ferro (PORTER; GARBOWSKI, 2014).

No que diz respeito à regulação intracelular, as proteínas reguladoras de ferro (IRP1 e IRP2, do inglês *iron regulatory protein*) são capazes de controlar a expressão dos genes que modulam a captação, o armazenamento, a utilização e a exportação deste micronutriente, isto é, aqueles que codificam o DMT-1, a ferritina e a ferroportina. Sistemicamente, um componente-chave fundamental é a hepcidina, hormônio polipeptídico circulante, responsável por controlar a entrada de ferro no plasma, formado a partir da transcrição do gene HAMP (DE DOMENICO; WARD; KAPLAN, 2008).

A atuação da hepcidina no metabolismo de ferro foi apresentada, primeiramente, em estudos com camundongos, em que a deleção do gene HAMP foi capaz de provocar o acúmulo de ferro no baço e no tecido hepático destes animais, enquanto a expressão exacerbada do mesmo gene levou à uma grave anemia (PIGEON et al., 2001). Apesar de nos últimos anos terem sido publicados estudos a respeito da ação desse hormônio na DF, os dados presentes na literatura ainda são limitados – grande parte realizado com poucos indivíduos e/ou com uso de faixas etárias muito amplas ou não definidas – e controversos.

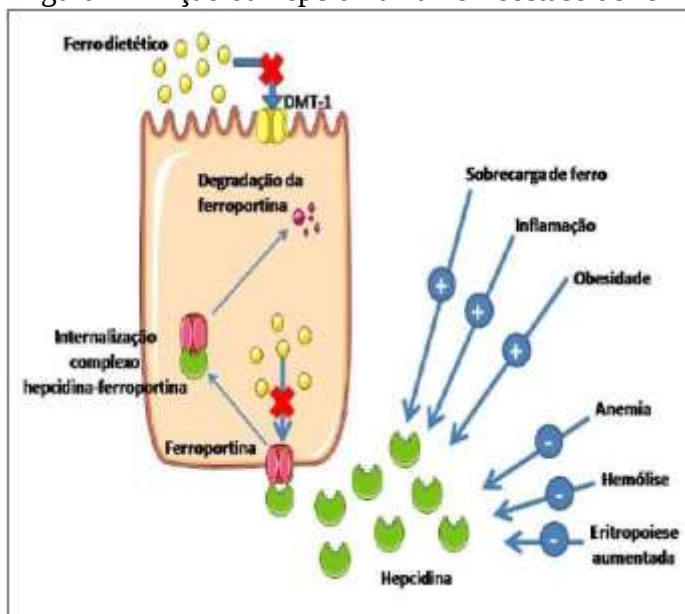
A ação da hepcidina na homeostase do ferro ocorre por meio da sua interação com a FPN. Com o objetivo de deter o efluxo de ferro, forma-se o complexo hepcidina-ferroportina, que será internalizado na célula e degradado. Por consequência, é bloqueada a passagem do ferro, havendo o acúmulo intracelular deste mineral, especialmente nos hepatócitos, nos enterócitos e nos macrófagos. Isso acarreta em uma baixa saturação da transferrina sérica e na diminuição da quantidade de ferro disponível para o processo de eritropoiese (NEMETH et al., 2004; DE DOMENICO; WARD; KAPLAN, 2008). Além de agir sobre a ferroportina presente em enterócitos, a hepcidina também é capaz de inibir a transcrição do DMT-1, reduzindo a absorção intestinal de ferro (DONOVAN; ROY; ANDREWS, 2006; MENA et al., 2008).

Com relação à sua síntese, os hepatócitos são considerados os produtores predominantes (GANZ; NEMETH, 2012). Todavia, embora seja sintetizada majoritariamente no fígado, órgãos e células como o coração (MERLE et al., 2007), tecido adiposo (BEKRI et al., 2006), monócitos e macrófagos (THEURL et al., 2008) também são capazes de produzir hepcidina em menor escala (STEINBICKER; MUCKENTHALER, 2013). Alguns fatores que podem regular sua síntese de forma positiva ou negativa.

Em situações de sobrecarga de ferro, nota-se o aumento da expressão de hepcidina no intuito de reduzir a quantidade de ferro circulante no plasma (OMENA et al., 2018). Isto também ocorre na presença de quadros inflamatórios com a liberação de interleucinas, como a interleucina-6 (IL-6), capaz de ativar a produção deste hormônio diretamente nos hepatócitos (GANZ; NEMETH, 2006). Ainda, a obesidade apresenta-se também como um fator que pode provocar o aumento da concentração de hepcidina, visto que a leptina – adipocina produzida pelo tecido adiposo – parece ter um papel no metabolismo de ferro, com características semelhantes à IL-6 (CHUNG et al., 2007).

Na presença de fatores como anemia e hipóxia, por mecanismos de ação semelhantes, ocorre a regulação negativa da expressão de hepcidina, objetivando o aumento da biodisponibilidade de ferro por aumentar sua reciclagem por macrófagos do sistema reticuloendotelial, bem como sua absorção intestinal. Deste modo, a exportação de ferro pelos enterócitos e macrófagos do sistema reticuloendotelial é facilitada, aumentando a disponibilidade de ferro para a eritropoiese (NICOLAS et al., 2002) (Figura 1).

Figura 1 – Ação da hepcidina na homeostase de ferro



Fonte: Adaptado de CARDOSO (2018)

Em estudos que avaliam a concentração de hepcidina na DF, é fundamental que as peculiaridades da doença sejam consideradas, principalmente no que diz respeito à diferenciação dos indivíduos com e sem sobrecarga de ferro transfusional, fator que parece estar intimamente ligado à concentração deste hormônio. Além das influências ligadas ao metabolismo do ferro, outros fatores intrínsecos à DF também devem ser considerados, como a atividade eritropoiética e a inflamação (KARAFIN et al., 2015).

1.4 Sobrecarga de ferro na doença falciforme: toxicidade e tratamento

A anemia falciforme está incluída no grupo de doenças mais frequentemente associadas à sobrecarga de ferro (BRASIL, 2013a). Por sua vez, segundo Darbari e colaboradores (2006), a sobrecarga deste mineral é considerada uma das principais causas de morte em adultos com DF, assim como a hipertensão pulmonar, a insuficiência renal, a infecção, a cirrose hepática, a pneumonia, a síndrome torácica aguda, dentre outros. Nesse mesmo estudo, a sobrecarga de ferro foi significativamente associada à cirrose hepática, a deposição de ferro no miocárdio e a fibrose miocárdica – embora o comprometimento cardíaco ainda seja pouco relatado em indivíduos com DF (MELONI et al., 2014).

Fatores como a quantidade de ferro em excesso e o tempo de exposição do organismo a este mineral, influenciam nos sinais e sintomas clínicos da pessoa com sobrecarga. Sabe-se que quanto maior a taxa de transfusão do paciente com a DF, maiores são suas chances de apresentar a sobrecarga de ferro (INATI et al., 2010). Inicialmente, apresentam-se como fadiga, artrite e dores abdominais. Pelo fato do fígado ser considerado o principal sítio de armazenamento de ferro (CANÇADO, 2007; BRASIL, 2013a), os sinais clínicos relacionados a este fenômeno podem variar desde hepatoesplenomegalia, fibrose portal até a cirrose hepática e, conseqüentemente, pode levar à insuficiência hepática (OLIVIERI, 2001; DARBARI et al., 2006).

Há poucas evidências sobre os riscos à saúde associados à sobrecarga de ferro em crianças com DF. Mazumdar e colaboradores (2007) tinham como um de seus objetivos comparar os benefícios e riscos de seis estratégias utilizadas para prevenção primária do AVE em crianças com DF (INATI, 2009). A adoção de duas estratégias foi capaz de evitar cerca de 40% dos casos de AVE isquêmicos e incapacitação relacionada, refletindo em menor número de mortes por sobrecarga de ferro: 1) realização de triagem anual em crianças com idade entre 2 e 10 anos e alto risco de AVE e 2) realização de transfusões profiláticas até os 18 anos de idade. No entanto, o número de indivíduos que compunha a amostra era limitado (MAZUMDAR et al., 2007).

Em alguns casos, como na realização de transfusões crônicas recorrentes, a terapia de quelação de ferro torna-se de grande importância para o aumento da sobrevida dos indivíduos com DF (MAZUMDAR et al., 2007). Essa estratégia tem por objetivo a prevenção do acúmulo de ferro no organismo, a partir de um balanço negativo desse mineral - isto é, quantidade de ferro quelada e excretada maior que a quantidade de ferro transfundido - e também prevenir danos teciduais causados por essa sobrecarga (CANÇADO, 2007). Atualmente, o quelante

mais utilizado pelos indivíduos com DF é o deferasirox, que apresenta grande afinidade e especificidade pelo ferro. Após a quelação, é eliminado em sua maioria pelas fezes (STEINHAUSER et al., 2004). Sua meia-vida plasmática é longa (8-16h), sendo este medicamento capaz de promover uma quelação eficaz por 24h com doses baixas, o que contribui com maior adesão ao tratamento e, por sua vez, melhora a qualidade de vida dos usuários (INATI; KHORIATY; MUSSALAM, 2011).

1.4.1 Parâmetros de mensuração do ferro

Métodos diretos ou indiretos podem ser utilizados para mensurar a quantidade de ferro no organismo humano e identificar um quadro de sobrecarga desse micronutriente (ANGELUCCI et al., 2008; REMACHA et al., 2013).

A biópsia é um método direto, considerado padrão-ouro por ser capaz de avaliar com precisão a sobrecarga de ferro em um tecido específico, caracterizando também seu padrão de acúmulo no órgão analisado. A partir da quantificação de concentração de ferro por grama de tecido hepático, é possível detectar de maneira fidedigna a quantidade total de ferro no organismo. A concentração hepática de ferro (LIC, do inglês *liver iron concentration*) até o valor de 2 mg/g de peso seco do tecido hepático, é considerada adequada. Concentrações de 3 mg a 7 mg/g de peso seco configuram risco leve de complicações e, quando superior à 7 mg/g de peso seco, risco moderado (BRITTENHAM, 2011), sendo indicado o início da terapia de quelação de ferro a partir deste valor (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002). Entretanto, pelo fato de ser um procedimento invasivo, que pode envolver possíveis complicações, é pouco utilizado (AULT; JONES, 2009).

O método mais comum na prática clínica, é a dosagem de ferritina sérica, por ser de fácil realização, de boa reprodutibilidade e de baixo custo (CANÇADO, 2007). Esse método avalia de forma indireta a quantidade de ferro, sendo caracterizado como quadro de sobrecarga quando os valores forem iguais ou superiores a 1000 ng/mL. Esse valor já é indicativo para o início da terapia com quelantes de ferro (PORTER, GARBOWSKI, 2013). A sobrecarga severa é considerada em casos em que as concentrações de ferritina estejam acima de 2500 ng/mL (ANGELUCCI et al., 2008; THURET, 2013).

Apesar de ser caracterizada como uma das principais ferramentas que auxiliam no monitoramento da quantidade de ferro no organismo, é importante ressaltar que esta proteína sofre a influência de fatores como inflamação, hepatopatias, neoplasias e o uso excessivo de bebidas alcoólicas, capazes de afetar os resultados encontrados (IANNOU et al., 2004;

KOHGO et al., 2008; SMILEY; DAGOGO-JACK; UMPIERREZ, 2008). No que diz respeito à DF, a ferritina pode estar elevada em situações em que haja infecções e crises vaso-oclusivas, não necessariamente refletindo a piora do quadro de sobrecarga de ferro (BALLAS, 2001).

Outro marcador que também pode ser utilizado para avaliar o estado corporal de ferro e é pouco alterado por quadros inflamatórios, é o receptor solúvel de transferrina sérica (sTfR). Em ocasiões de fornecimento inadequado de ferro, observa-se uma regulação positiva deste receptor, levando a célula a captar o ferro de uma forma mais eficiente (BAKER et al., 2010). Na DF, Tancabelic e colaboradores (1999) notaram o aumento das concentrações de sTfR em indivíduos não-transfundidos regularmente, devido à alta demanda de ferro exigida pela intensa atividade eritropoiética. Em pacientes que realizavam transfusões crônicas, os níveis destes receptores apresentaram-se menores do que no referido grupo, porém, quando comparados a indivíduos saudáveis, eram consideravelmente elevados. Esses achados indicam que a atividade eritropoiética nesta hemoglobinopatia encontrava-se acima do normal mesmo com a realização de transfusões regulares – resultado também corroborado por Fertrin e colaboradores (2014).

Exames de imagens, como a ressonância magnética nuclear, também podem ser utilizados para mensurar a concentração de ferro no organismo humano. É uma técnica não invasiva, segura e capaz de estimar as concentrações hepática, esplênica e cardíaca de ferro. A dificuldade em sua aplicação está na disponibilidade do aparelho para a realização do exame nos centros de saúde e a qualificação técnica de profissionais para realizá-lo (AULT; JONES, 2009).

1.5 Nutrição na doença falciforme

O curso da DF e as complicações decorrentes podem levar à baixa ingestão alimentar, podendo acarretar em carência de macro e micronutrientes e, em crianças, no atraso da maturação esquelética e sexual (ZEMEL et al., 2002). Apesar da importância da adequação de nutrientes no tratamento clínico, há poucos dados na literatura científica sobre a nutrição voltada para pessoas com a doença.

No que tange especificamente ao ferro, como seu metabolismo não foi totalmente esclarecido, muitos profissionais de saúde adotam a conduta de restringir o consumo de fontes alimentares deste micronutriente. Tem sido sugerido que a dieta para as pessoas com DF deve ser baixa em alimentos fontes de ferro (OHEMENG; BOADU, 2017). No trabalho “Avaliação da ingestão de ferro em adultos com anemia falciforme” de Teixeira (2020), mais de 50%

(57,2%) dos participantes receberam a orientação, por profissionais de saúde, para restrição de alimentos fontes de ferro. Há muitas vezes também, o incentivo ao consumo de chás e café durante as grandes refeições, a fim de reduzir a biodisponibilidade de ferro (VILLELA; ROCHA, 2008). Embora sejam preventivas, estas condutas podem levar à redução da biodisponibilidade de outros minerais, como o zinco, um micronutriente presente em alimentos ricos em ferro, contribuindo para o desenvolvimento de um quadro de deficiência deste mineral, achado clínico comum em crianças com DF (ZEMEL et al., 2002).

Por outro lado, as pessoas com DF estão expostas às ações de políticas públicas que visam à prevenção da anemia ferropriva, como o PNSF e a fortificação de farinhas de trigo e milho mencionados anteriormente no presente trabalho (BRASIL, 2013). Ainda que estas medidas sejam destinadas à população brasileira em geral, desconhece-se ainda a sua segurança para indivíduos que possam cursar com o acúmulo deste micronutriente. Até o presente momento, os dados a respeito da absorção intestinal de ferro na DF impossibilitam a garantia de que estas ações não causem malefícios a este grupo.

As publicações a respeito da hepcidina indicam que este hormônio tende a ter sua produção aumentada em situações de DF e sobrecarga de ferro, sugerindo que nestes casos os indivíduos expostos à carga excessiva deste mineral não precisariam reduzir a ingestão de alimentos ricos em ferro. Em contrapartida, em pessoas que não cursam com sobrecarga, a supressão da síntese de hepcidina parece ocorrer devido ao aumento da eritropoiese, o que poderia levar ao aumento da absorção de ferro (OMENA et al., 2018).

Contudo, estes resultados ainda não são suficientes para o estabelecimento de recomendações quanto à ingestão alimentar ou nutricional de ferro, sendo necessário aprofundar o conhecimento sobre alguns aspectos do metabolismo de ferro na doença falciforme. A avaliação do grau de absorção de ferro na presença ou na ausência da sobrecarga deste micronutriente torna-se essencial para elucidar estas questões.

1.6 Testes de absorção

Os testes de absorção têm como objetivo principal avaliar a biodisponibilidade de alguns minerais, assim como estudar o *turnover* e os efeitos de doenças na absorção/metabolismo de micronutrientes (ABRAMS, 1999).

A biodisponibilidade de ferro é determinada pela medição da fração deste mineral ingerido na alimentação, capaz de ser absorvida pelo trato gastrointestinal, armazenada e incorporada à molécula de heme, sendo influenciada por fatores como: necessidades

nutricionais do indivíduo, estados fisiológicos e patologias (BRIGIDE et al., 2011). O teste oral de absorção de ferro é um dos métodos mais utilizados para avaliar a absorção intestinal deste micronutriente em humanos, podendo ser realizado de diferentes formas.

Uma de suas aplicações mais frequentes, consiste na ingestão de tabletes ou elixires de sais ferrosos, por exemplo, sulfato ou citrato ferroso, para posterior análise de fatores como o ferro sérico, a ferritina sérica, a capacidade total de ligação de ferro à transferrina (CTLF), o receptor de transferrina e/ou o percentual de saturação de transferrina sérica (JOOSTEN; VANDER ELST; BILLEN, 1997; JENSEN et al., 1998; KOBUNE et al., 2011). São realizadas coletas de sangue no tempo basal e após a ingestão dos sais, a fim de avaliar a diferença de concentração dos marcadores mencionados.

Apesar destes testes serem relativamente simples e de baixo custo, existem algumas desvantagens em sua realização. Uma delas é o fato destes marcadores bioquímicos serem influenciados pela presença de inflamação e hepatopatias, sendo necessário uma análise cuidadosa (COOK et al., 2005). Destacam-se também, as diversas punções venosas em um curto período de tempo, implicando em um maior desconforto para o participante (KOBUNE et al., 2011).

Dadas estas dificuldades, outro método que pode ser empregado é o enriquecimento de seus isótopos, radioativos ou estáveis. Como a maior parte do ferro absorvido é incorporada aos glóbulos vermelhos, a grande vantagem desta técnica é poder estimar, de fato, a fração do micronutriente em questão que é biodisponível – seja ele proveniente tanto da absorção intestinal quanto da reciclagem de hemácias e da mobilização dos estoques de ferro (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2012).

O uso de radioisótopos não é adequado em estudos com crianças e indivíduos com diferentes patologias. A radioatividade pode ser nociva ao organismo, já que células vivas expostas à radiação podem sofrer mudanças em suas características físico-químicas, sendo destruídas ou alteradas por meio da ionização celular (HAN; YU, 2011). Logo, o uso de isótopos estáveis de ferro apresenta-se como uma alternativa, já que pode ser aplicado em diversos grupos populacionais de interesse (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2012).

A partir dos anos 80 começaram a ser realizados estudos pediátricos com o uso de isótopos estáveis (FOMON; ZIEGLER; NELSON, 1993; KASTENMAYER et al., 1994; CHEN et al., 2005). Até o presente momento, não foram encontrados riscos ou efeitos adversos na administração destes isótopos, o que torna segura a sua administração (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2012).

Outra vantagem deste método é que mais de um isótopo pode ser administrado no mesmo indivíduo simultaneamente (via oral e/ou intravenosa), possibilitando a comparação de biodisponibilidades (JUNQUEIRA-FRANCO et al., 2018) e até mesmo para avaliar interações de micronutrientes entre si, do ferro com o zinco (O'BRIEN et al., 2000) e com o cálcio (ABRAMS et al., 1996), além de fitatos e polifenóis (PETRY et al., 2012).

Especificamente em relação ao ferro, existem quatro tipos de isótopos estáveis presentes em quantidades fixas no ambiente e nos alimentos. Sua abundância ocorre naturalmente, em diferentes proporções: ^{54}Fe (5,8%); ^{56}Fe (91,8%); ^{57}Fe (2,1%); ^{58}Fe (0,3%), sendo os de menor abundância (^{58}Fe e ^{57}Fe) os mais utilizados em pesquisas a respeito de nutrição humana (WALCZYK; BLANCKENBURG, 2005).

A marcação de um alimento ou bebida com isótopos estáveis pode ser extrínseca ou intrínseca e sua avaliação pode ocorrer por meio da análise da incorporação do isótopo de ferro nas hemácias após duas semanas da sua administração (INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY, 2012). O principal método analítico usado atualmente para a análise dos isótopos estáveis é a espectrometria de massa, que identifica a quantidade e o tipo de substâncias químicas presentes em uma amostra.

Na prática clínica essa análise é pouco explorada, porém, para fins de pesquisa, a sua utilização é de extrema importância, podendo identificar características dentro de uma população que carregue uma determinada predisposição para absorver o ferro de forma menos ou mais eficiente – e que levaria ao risco de desenvolvimento de uma deficiência ou sobrecarga de ferro, por exemplo (WALCZYK; BLANCKENBURG, 2005).

Atualmente, não há na literatura estudos com isótopos estáveis que avaliem a absorção de ferro em pessoas com DF. Levando em consideração que a análise destes isótopos se apresenta como uma boa ferramenta para avaliar o metabolismo deste micronutriente, sua utilização pode ser extremamente útil para esclarecer as lacunas ainda existentes quanto à absorção de ferro nesta hemoglobinopatia, seja em indivíduos com ou sem sobrecarga de ferro.

2 JUSTIFICATIVA

Os dados na literatura a respeito da absorção de ferro em indivíduos com DF são limitados. Ainda que algumas publicações tenham observado o aumento da concentração da hepcidina em indivíduos adultos com DF e sobrecarga de ferro, não se pode afirmar que esse aumento seja suficiente para regular adequadamente a entrada de ferro no organismo. Sendo assim, alguns aspectos ainda precisam ser estudados e aprofundados para avaliar o risco de desenvolvimento e/ou agravamento da sobrecarga de ferro. Esta lacuna no conhecimento sobre a capacidade absorptiva dos indivíduos com DF dificulta a elaboração de um protocolo nutricional adequado a estes pacientes, que vise, por exemplo, uma melhor orientação quanto à recomendação da ingestão de alimentos fontes de ferro, seja na presença ou ausência dos quadros de sobrecarga de ferro.

Além disso, a população de estudo faz parte de um grupo vulnerável, sendo constituída por crianças com uma hemoglobinopatia grave. Tratando-se de indivíduos que estão em período de intenso crescimento e desenvolvimento, o ferro é um mineral que não deve ser negligenciado. Uma conduta visando uma dieta pobre do mesmo, pode promover carência nutricional em um grupo que já se encontra em situação de risco. Portanto, devido às suas características biológicas e peculiaridades, faz-se necessária a realização de estudos visando elucidar a capacidade de absorção do ferro em crianças com DF e, assim, subsidiar a construção e aprimoramento de prescrições dietéticas e diretrizes que norteiem a conduta nutricional nestes casos.

A Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde do Brasil manifestou interesse na pesquisa, pois estes resultados trarão informações relevantes a respeito do risco que as pessoas com DF e sobrecarga de ferro estão expostos ao consumirem as fontes alimentares de ferro ou alimentos fortificados, como é o caso das farinhas de trigo e de milho.

3 OBJETIVO

Avaliar a capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme.

3.1 Objetivos específicos

- Comparar as taxas de absorção de ferro intestinal entre os grupos: controle sem a AF; com AF sem sobrecarga de ferro; com AF e sobrecarga de ferro; por meio da técnica de marcação com isótopo estável (^{57}Fe).
- Avaliar se a concentração de hepcidina sérica se relaciona com a capacidade de absorção intestinal de ferro.
- Comparar, entre os três grupos, o comportamento das variáveis laboratoriais: hematócrito, hemoglobina, ferritina, ferro sérico, capacidade total de ligação de ferro (CTLF), transferrina e hepcidina sérica.

4 MÉTODO

4.1 Desenho do estudo

Trata-se de um estudo experimental, tendo como desfecho a avaliação da capacidade da absorção de ferro em crianças com anemia falciforme, com a presença ou ausência de sobrecarga de ferro.

4.2 Aspectos éticos

O presente projeto de pesquisa foi submetido para apreciação ética por meio da Plataforma Brasil (<http://aplicacao.saude.gov.br/plataformabrasil>) e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, sob o parecer número 2.695.418 (Anexo B), e do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (IEHE) – Hemorio –, sob o número 419/17 (Anexo C). Todos os responsáveis pelos participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) antes de ingressar na pesquisa (Apêndices A, B e C), conforme a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

4.3 População do estudo

Foram incluídas no presente estudo, crianças de 2 a 12 anos de idade incompletos. Optou-se pela amostragem não probabilística, de conveniência, sendo os grupos participantes da pesquisa compostos por indivíduos com e sem anemia falciforme.

Ao todo, foram avaliadas 14 crianças, sendo divididas em três grupos: o grupo A composto por crianças com AF e sobrecarga de ferro (n=4); o grupo B, formado por crianças com AF sem sobrecarga de ferro (n=8); por fim o grupo C, com crianças sem AF (n=2). A coleta foi realizada no período de outubro de 2019 a agosto de 2020. No entanto, no período de março a julho de 2020, as coletas foram interrompidas devido o isolamento social durante a pandemia de Covid-19 e retomadas em agosto, para coleta do grupo controle.

4.3.1 Grupos de crianças com anemia falciforme

Critérios de inclusão para os grupos de indivíduos com AF: crianças de 2 a 12 anos de idade incompletos com genótipo HbSS atendidas no Ambulatório de Anemia Hemolítica

do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti (IEHE), conhecido como Hemorio. As crianças para serem incluídas não poderiam ter sido hospitalizadas nem realizado transfusões sanguíneas nos 15 dias anteriores à avaliação.

Os pontos de corte adotados para classificação de sobrecarga de ferro foram: ferritina sérica igual ou maior a 1000 ng/mL (PORTER, GARBOWSKI, 2013) e/ou concentrações de ferro no fígado maiores que 40 μ mol/g (LABRANCHE et al, 2018) pelo exame de imagem (ressonância magnética em 1.5 Tesla Optima MR360 - GE MEDICAL SYSTEMS – método T2*) e/ou valores indicativos de sobrecarga de ferro no baço também avaliados por exame de ressonância magnética. Não há na literatura valores de referência de concentração de ferro no baço para diagnóstico de sobrecarga de ferro, logo, ele é feito a partir do laudo médico baseando-se na morfologia e na concentração de ferro do órgão. Foi definido como critério de exclusão, crianças que fizessem uso de eritropoietina e/ou medicamentos para diabetes mellitus.

4.3.2 Grupo controle: crianças sem anemia falciforme

O grupo sem AF foi constituído pareando-se as variáveis sexo, cor/raça e idade com os demais grupos.

Os critérios de inclusão estabelecidos foram: crianças sem AF de 2 a 12 anos de idade incompletos, que não foram hospitalizadas e não realizaram transfusões sanguíneas nos 15 dias anteriores à avaliação. Foi adotado como critério de exclusão: crianças com alguma outra hemoglobinopatia e/ou doenças hematológicas e/ou doenças autoimunes; e/ou com concentrações de ferritina sérica menores que 10 ng/mL para meninas e menores que 20 ng/mL para meninos; e/ou crianças que fizessem uso de medicamentos para diabetes mellitus.

4.4 **Etapas do estudo**

A primeira etapa do estudo consistiu na sensibilização dos responsáveis das crianças para a importância da participação na pesquisa.

O convite para a participação foi realizado por nutricionistas do NUTRIFAL no momento em que, no Hemorio, os pacientes aguardavam a realização de exames laboratoriais previamente solicitados pelos médicos da instituição.

No que tange às crianças sem AF, foi realizada divulgação do projeto por meio de mídias sociais, solicitando participantes e exaltando a importância da participação no presente estudo.

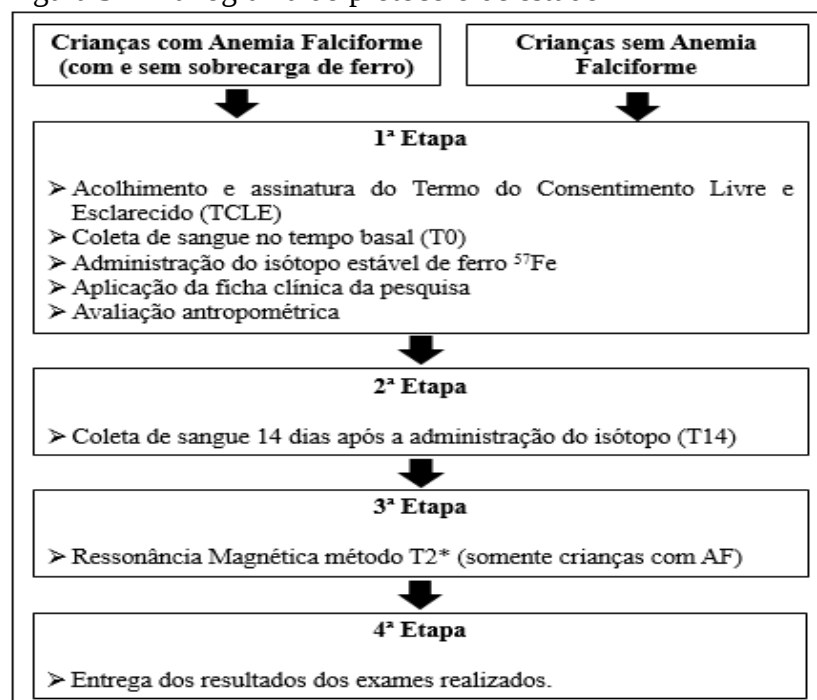
Antes da assinatura do termo, todas as etapas da pesquisa e todos os itens presentes no TCLE foram explicados aos responsáveis pelas crianças participantes do estudo.

Os participantes com AF atendidos no Hemorio realizaram a primeira etapa em sua instituição de tratamento. Inicialmente, após feito o convite e assinado o TCLE, foi solicitada a coleta de sangue para a realização de análises laboratoriais. Logo após ao exame, o participante realizou a ingestão de uma preparação padronizada contendo o isótopo de ferro ^{57}Fe para, em seguida, ser realizada a avaliação antropométrica (peso e estatura). Finalizados esses procedimentos, os responsáveis das crianças realizaram o preenchimento da ficha clínica da pesquisa. A segunda etapa ocorreu 14 dias após a administração do referido isótopo, sendo realizada a segunda coleta de sangue, no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional (LIAN), localizado no Instituto de Nutrição da UERJ, para as crianças com AF. Para o grupo de crianças sem a doença, as duas etapas da pesquisa seguiram os mesmos procedimentos, porém realizadas na residência dos participantes. A decisão de ir à residência dos participantes foi tomada a fim de evitar sua exposição ao coronavírus, vírus responsável pela pandemia que ocorreu no período da coleta.

O convite para a realização da terceira etapa, foi realizado ao final da segunda coleta de sangue apenas para o grupo de crianças com AF. Essa etapa foi realizada no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) em até cinco meses após a primeira etapa da pesquisa.

O fluxograma do protocolo de estudo está descrito na Figura 2.

Figura 3 – Fluxograma do protocolo de estudo



Fonte: O autor, 2020.

4.4.1 Análises laboratoriais

Os exames laboratoriais desta pesquisa consistiram em: determinação do hemograma completo, hepcidina sérica, ferritina, ferro sérico, capacidade total da ligação do ferro à transferrina (CTLF), parâmetros de inflamação como interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), bem como a incorporação de ferro nos eritrócitos, nos participantes com e sem AF.

Para análises hematológicas, o sangue foi coletado em tubos com anticoagulante (heparina sódica); para análises sorológicas e bioquímicas, foram utilizados tubos de coleta com gel ativador de coágulo para a extração de soro.

A composição isotópica de ferro dos participantes da pesquisa foi determinada pelo Laboratório de Desenvolvimento Analítico (LaDA) do Instituto de Química localizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

As análises de hemograma completo, ferritina, ferro sérico, hepcidina sérica, CTLF, IL-6 e PCR foram realizadas no Laboratório de Fisiopatologia e Bioquímica da Nutrição, no Instituto de Nutrição da UERJ.

A determinação do hemograma foi realizada com auxílio do contador automatizado Sysmex® XP-300 (*Roche®, Kobe, Japão*); ferro sérico (*Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil*) e capacidade total de ligação de ferro (*Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil*) por método colorimétrico; ferritina (*Elabscience®, Wuman, China*), hepcidina-25 bioativa (*Elabscience®, Wuman, China*), proteína C reativa (*Elabscience®, Wuman, China*) e interleucina-6 (*Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha*) foram determinadas em soro por método imunoenzimático (ELISA, do inglês: *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) com as absorbâncias determinadas em leitor de microplacas ASYS UVM-340 (*Biochrom®, Cambridge, Inglaterra*). A determinação da relação isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ ocorreu por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (*Thermo Fisher Scientific iCAP® Qc, Bremen, Alemanha*).

4.4.2 Capacidade de absorção de ferro

4.4.2.1 Determinação da dose utilizada do isótopo ^{57}Fe

A capacidade de absorção de ferro foi determinada pela técnica de marcação com isótopo estável ^{57}Fe , no qual cada indivíduo é o seu próprio controle (KASTENMEYER et al., 1994; CHEN et al., 2005; IAEA, 2012) e a absorção foi calculada com base na mudança das

razões isotópicas de ferro encontrada no sangue 14 dias após a ingestão do alimento marcado com ^{57}Fe .

Para a definição da dose de ^{57}Fe a ser administrada no presente estudo, foi realizado um levantamento bibliográfico acerca da utilização deste isótopo estável em estudos com adultos e crianças saudáveis. Observou-se que nas diferentes publicações a respeito do tema, as dosagens de ^{57}Fe variavam entre 5 mg e 7,5 mg (VAN DEN HEUVEL et al., 1998; FIDLER et al., 2003; JUNQUEIRA-FRANCO et al., 2018).

Com base nestes dados, foi realizado um teste-piloto para definir a melhor dose a ser administrada para avaliar a capacidade de absorção de ferro. Assim, dois voluntários adultos sem doença falciforme receberam as diferentes doses do isótopo ^{57}Fe (5 mg e 7,5 mg, respectivamente) – sob a forma de sulfato ferroso – diluídos em 100 mL de suco de laranja sem açúcar e conservantes. Importante ressaltar que a escolha desta bebida se deve ao fato de ser rica em vitamina C, potencializando a absorção de ferro.

Para a realização do teste-piloto, cada indivíduo realizou a coleta de sangue nos seguintes tempos: tempo zero (basal, antes da administração do isótopo), quarto, sétimo, décimo primeiro, décimo quarto, vigésimo e trigésimo primeiro dias após a ingestão do ^{57}Fe . Essas diversas coletas foram realizadas com o objetivo de construir uma curva de incorporação do ferro administrado às hemácias até que fosse atingido um platô de concentração.

O sangue foi coletado em tubos anticoagulantes de EDTA, heparina sódica e citrato de sódio, tendo como objetivo identificar o melhor meio de coleta para não causar interferências na avaliação do ferro.

Após cada coleta, foram separados para análise o sangue total, o plasma e o concentrado de hemácias de cada indivíduo.

Para a obtenção do concentrado de hemácias, 1 mL de sangue foi centrifugado durante 10 minutos a uma velocidade de 1000 x g, retirou-se o *buffy-coat* e foram adicionados 2 mL de solução de ácido nítrico 65% m/m bidestilado a sub-ebulição concentrado para pré digestão da amostra. O processo de mineralização da amostra para posterior determinação da relação isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ está descrito na seção 4.4.2.4.

Após avaliada a capacidade de absorção de ferro nas duas dosagens do isótopo, identificou-se que as dosagens obedeciam ao mesmo padrão de absorção. Com o objetivo de oferecer a menor quantidade de ferro para os participantes da pesquisa, optou-se por utilizar a dosagem de 5 mg do isótopo.

4.4.2.2 Preparo do sulfato ferroso isotopicamente marcado com ^{57}Fe

O ferro elementar enriquecido em ^{57}Fe foi adquirido por meio da empresa Cambridge Isotope Laboratories (*Cambridge Isotope Laboratories Inc, Massachusetts, EUA*).

Para o preparo do sulfato ferroso isotopicamente marcado, 24,72 mg de ^{57}Fe foram transferidos para um balão volumétrico de 10 mL e, em seguida, adicionados 12 microlitros de ácido sulfúrico concentrado (98%) (*Merck, Darmstadt, Alemanha*) e água ultrapurificada – obtida de um sistema Milli-Q®, modelo Direct 8 (*Merck Millipore, Massachusetts, EUA*) – a fim de submergir o sólido. Esta mistura foi fechada e deixada durante 24 horas em uma atmosfera inerte e posteriormente purgada com nitrogênio, com o objetivo de manter essa atmosfera redutora, ou seja, diminuindo o potencial de oxidação deste ferro a Fe^{3+} .

Após o período de 24 horas, verificou-se que não havia mais material sólido presente e o frasco foi levado ao volume final de 10 mL, sendo utilizada novamente a água ultrapurificada. Ao final do preparo, alíquotas foram retiradas a fim de obter uma massa de ^{57}Fe de 5 mg; para isso, foram utilizados um volume de 2 mL da solução-mãe, respectivamente.

4.4.2.3 Administração do isótopo

Previamente à coleta de sangue da primeira etapa do presente estudo, os voluntários foram orientados a permanecerem em jejum por um período de 10 horas.

Antes da administração do isótopo estável, foi coletada uma amostra de 30 mL de sangue de cada participante para a realização das análises laboratoriais já descritas.

Após este primeiro procedimento, 5 mg de isótopo estável ^{57}Fe – sob a forma de sulfato ferroso – foram diluídos em 100 mL de suco de laranja sem açúcar e conservantes (marca Do Bem®), a exemplo do que foi realizado no teste-piloto. Padronizou-se o uso de 100 mL de suco com o objetivo de garantir que todos os indivíduos fizessem a ingestão de um mesmo volume.

Em seguida, foi fornecido a cada participante um pacote de 40 g de biscoito do tipo polvilho salgado, de sabor natural e sem conservantes (marca Líder de Minas®). Os responsáveis dos participantes foram orientados a não fornecerem às crianças, alimentos e bebidas durante o período de 2 horas após a administração do ^{57}Fe , a fim de que não houvesse interferência na absorção do isótopo.

4.4.2.4 Determinação da relação isotópica entre ^{56}Fe / ^{57}Fe por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS)

Para determinar a relação isotópica entre ^{56}Fe / ^{57}Fe , foi utilizado 0,1g do concentrado de hemácias, diluídos em 1mL de água ultrapurificada. Deste volume de 1 mL, 500 μL foram mineralizados em um frasco de micro-ondas vedado e a ele adicionados 1 mL de peróxido de hidrogênio (30%) e 1mL de ácido nítrico 65% m/m bidestilado a sub-ebulição concentrado.

A mistura resultante foi levada ao forno de micro-ondas, a 175 °C, por 10 minutos e posteriormente resfriada em temperatura ambiente. Após este procedimento, o conteúdo foi avolumado com água ultrapurificada até 5 mL.

Desta forma, o extrato resultante foi analisado pela técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*), onde as condições do equipamento são apresentadas no Quadro 3.

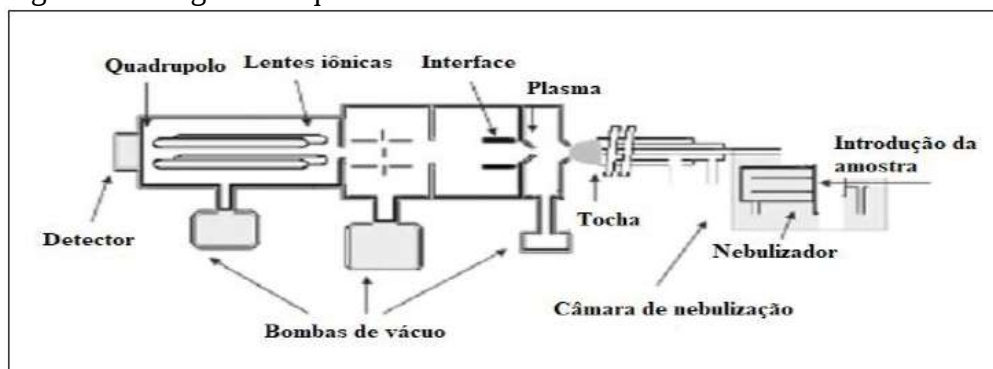
Quadro 3 - Parâmetros utilizados no ICP-MS para a determinação da relação isotópica

Parâmetro	ICP-MS
Potência do Plasma (W)	1550
Vazão do gás do plasma – argônio (L min^{-1})	14
Vazão do gás auxiliar – argônio (L min^{-1})	0,8
Vazão do gás do nebulizador – argônio (L min^{-1})	1,08
Vazão do gás de colisão – hélio (mL min^{-1})	5
Isótopos monitorados	^{54}Fe , ^{56}Fe , ^{57}Fe , ^{58}Fe , ^{60}Ni

A ICP-MS é uma técnica analítica utilizada para a determinação de elementos em uma amostra, por meio de isótopos e razões isotópicas. Nesta técnica, é utilizada a espectrometria de massa de íons produzidos através de um plasma indutivamente acoplado (GINÉ-ROSIAS, 1999; AMMANN, 2007). Um espectro de massa é um gráfico do sinal do íon em função da razão massa/carga e, a partir destes espectros, a massa do íon molecular e seus fragmentos são utilizados para determinar a composição elementar ou assinatura isotópica de um composto.

Os espectrômetros de massa do tipo ICP-MS são compostos basicamente pelas seguintes seções: sistema de introdução de amostras, uma fonte de íons no extremo do aparelho, a interface (sistema para extração e focalização dos íons), um analisador de massas em sua porção central (no caso do presente trabalho, do tipo quadrupolo) e um sistema de detecção de íons (BARBOUR, 2011), como observado na Figura 3.

Figura 4 – Diagrama esquemático do ICP-MS



Fonte: Adaptado de GERVASIO e colaboradores (2003).

O sistema de introdução de amostra do ICP-MS é constituído por uma bomba peristáltica, um nebulizador e uma câmara de nebulização. A amostra (sólida ou líquida) é introduzida no nebulizador, por ação da bomba peristáltica, e convertida em um aerossol por ação de um fluxo de gás constante (o argônio). Na câmara de nebulização, as pequenas partículas de aerossol passam para o plasma, também por intermédio do gás argônio (GERVASIO et al., 2003; IAEA, 2012).

O plasma é um gás parcialmente ionizado e que contém moléculas, radicais átomos, íons e elétrons livres (BARBOUR, 2011). É formado em um fluxo de argônio que flui por meio de três tubos concêntricos de quartzo, que constituem a tocha. Esta tocha de quartzo é posicionada concentricamente à bolina de indução, que por sua vez está acoplada a um gerador de radiofrequência. Os fluxos de argônio através da tocha mantêm o plasma, além de refrigerarem as paredes e transportar o aerossol formado anteriormente (KRUG et al., 2001; GERVASIO et al., 2003). A alta temperatura do plasma (aproximadamente 6000 °C) é capaz de ionizar a amostra (IAEA, 2012).

A interface acopla a tocha de quartzo do ICP ao espectrômetro de massa (analisador). O feixe de íons formado no plasma é extraído desta região, por diferença de pressão, e enviado para uma região de alto vácuo; o plasma gasoso atravessa o cone de amostragem para uma região de pré-vácuo, na qual há uma rápida expansão de gás, resultando em seu resfriamento. Uma fração deste gás passa através de um pequeno orifício de um segundo cone denominado skimmer e, posteriormente, para uma câmara em que os íons positivos são separados dos elétrons e das espécies moleculares por um potencial negativo. Finalmente, os íons gerados são focalizados por uma série de lentes magnéticas (lentes iônicas) e seguem para a entrada do analisador de massa quadrupolar (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002).

O analisador é a principal parte do instrumento, sendo responsável por separar os íons de interesse (analitos) dos outros íons, matriz e solvente. O analisador de massas quadrupolar

é composto por quatro hastes condutoras paralelas em uma configuração duas a duas. A seletividade do filtro quadrupolar é estabelecida por meio da variação das magnitudes de voltagens de correntes alternada e contínua, ocorrendo de forma simultânea; a variação das voltagens provoca um movimento de oscilação do feixe de íons, que é posteriormente direcionado para o detector (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002; BARBOUR, 2011)

Por fim, na parte final do equipamento está localizado o detector, responsável pela contagem e armazenamento dos sinais emitidos. O detector mais utilizado nos quadrupolos é o multiplicador de elétrons secundários, no qual íons positivos colidem na superfície do eletrodo de conversão e formam elétrons secundários; assim, os elétrons gerados são acelerados contra outros eletrodos e nesta repetição do processo o sinal é amplificado (BARBOUR, 2011). Estas correntes são digitalizadas utilizando um conversor de voltagem para frequência e transferidas para um computador, onde há o cálculo das razões isotópicas correspondentes por comparação entre as áreas de pico integradas dos sinais correspondentes a cada isótopo (CAXITO; SILVA, 2015).

Embora o ICP-MS tenha como vantagens a alta sensibilidade e a determinação de vários elementos de forma simultânea, uma desvantagem a ser citada são as interferências isobáricas de outros elementos e compostos que podem apresentar massa semelhante ao isótopo em questão, fazendo com que o analisador não consiga separá-las (CAXITO; SILVA, 2015). Estas interferências são bem documentadas e podem ser minimizadas pela utilização de isótopos alternativos ou equações matemáticas que realizem as correções necessárias (EVANS; GIGLIO, 1993; DIAS, 2004).

Outra estratégia que pode ser utilizada para contornar o problema na discriminação de massas é a análise por diluição isotópica, que consiste em uma técnica analítica baseada na medida da relação isotópica de uma amostra, na qual a sua composição de isótopos sofreu alteração devido à adição de uma quantidade conhecida de um elemento que foi isotopicamente enriquecido, denominado traçador (RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ et al., 2005). No presente trabalho, utilizou-se para essa diluição 100 µL do extrato anterior e, como traçador, o ^{54}Fe (50 µL de uma solução-traçador 10 ppm de ^{54}Fe).

4.4.4 Ficha clínica de pesquisa

Após a coleta de sangue, os responsáveis dos participantes foram entrevistados pela equipe de pesquisa, preenchendo na ficha clínica do estudo os dados pessoais de identificação da criança, bem como a data de nascimento, a cor de pele/etnia auto referida, além de telefone

para contato e endereço, visando à identificação da população de estudo. Além disso, esta ficha também contempla a história clínica do participante, dados sobre o tipo de parto e amamentação, do uso de medicamentos e de suplementos (Apêndices D e E).

Em relação às medidas antropométricas, para mensurar o peso corporal foram utilizadas balanças eletrônicas da marca Filizola® (*Filizola, modelo Personal, São Paulo, Brasil*), calibradas e com capacidade para 150 Kg. Os participantes se posicionaram em pé e no centro da balança, sem os sapatos; e orientados que os mesmos retirassem casacos e/ou adornos que pudessem interferir na mensuração do peso.

Já em relação à estatura, os participantes foram colocados em pé, descalços ou com meias, de costas para o estadiômetro, mantendo a cabeça erguida e o corpo ereto, com os calcanhares juntos e braços estendidos ao lado do corpo. Foram utilizados estadiômetros de parede, de 2,20 metros, das marcas Tonelli® (*Tonelli, Criciúma, Brasil*) e Seca® (*Seca Brasil, Cotia, Brasil*).

Com o intuito de classificar o estado nutricional dos participantes da pesquisa, foram utilizados os indicadores antropométricos, recomendados pela OMS e adotados pelo Ministério da Saúde na avaliação do estado nutricional de crianças de cinco a 10 anos incompletos: peso para idade, IMC para idade e estatura para idade (SBP, 2009). A classificação do estado nutricional de crianças foi realizada utilizando-se os valores de referência das curvas da OMS de 2007 (para a faixa etária dos cinco aos 19 anos) (BRASIL, 2012).

4.4.5 Ressonância magnética

A concentração de ferro no fígado e no baço foi estabelecida por ressonância magnética utilizando-se o método T2*, uma técnica não invasiva e precisa, já bem estabelecida na literatura (LABRANCHE et al, 2018). Essa etapa foi realizada no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e o laudo realizado pelo médico responsável pelo Departamento de Radiologia. O ponto de corte de concentração hepática de ferro utilizado para diagnóstico de sobrecarga de ferro foi de 40 $\mu\text{mol/g}$.

4.4.6 Financiamento

O presente estudo, o qual integra uma das linhas de pesquisa do Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL), obteve financiamento a partir da Chamada Pública do CNPq/MS/SCTIE/DECIT/SAS/DAB/CGAN, de número 13/2017, e foi

realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), sob o Código de Financiamento 001.

4.5 Análise estatística

Para avaliar a distribuição da amostra foi aplicado o teste de *Shapiro-Wilk*. A depender da distribuição da variável estudada, testes paramétricos e não paramétricos foram aplicados. As variáveis com distribuição não paramétrica, os dados foram descritos em mediana e intervalo interquartil e as com distribuição paramétrica, em média e desvio padrão.

Quanto à análise inferencial, a comparação das variáveis contínuas com distribuição não paramétrica entre dois subgrupos foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney e, entre três subgrupos, foi aplicada a ANOVA de Kruskal-Wallis, a comparação das variáveis com distribuição paramétrica foi avaliada pelo Teste t entre dois grupos e pela ANOVA-Teste de Tukey entre três grupos. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2) ou exato de Fisher.

Ademais, o grau de associação entre as variáveis contínuas foi mensurado por meio do coeficiente de correlação de *Spearman* para variáveis com distribuição não paramétrica e por correlação de *Pearson* para as variáveis com distribuição paramétrica.

Foi adotado como critério de determinação de significância o nível de 5%.

As análises estatísticas foram processadas pelo *software* estatístico *Statistical Package for Social Science* (IBM SPSS®, versão 22, Chicago, EUA).

5 RESULTADOS

5.1 ARTIGO: Absorção intestinal de ferro em crianças com anemia falciforme

Vanessa Monteiro Voll¹; Juliana Omena¹; Bernardo Ferreira Braz²; Ricardo Erthal Santelli²; Carmen Marino Donangelo³; Gustavo Federico Jauregui⁴; Flávia Fioruci Bezerra¹; Cláudia dos Santos Cople-Rodrigues¹; Marta Citelli^{1*}

¹Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil.

²Instituto de Química, Laboratório de Desenvolvimento Analítico, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

³Escuela de Nutrición, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

⁴Departamento de Radiologia, Hospital Universitário Pedro Ernesto, Rio de Janeiro, Brasil.

Conflitos de Interesse: Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Apoio Financeiro: Este estudo foi financiado pelo Ministério da Saúde (processo # 777022/2012), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; processo # 408401/2017-6); Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) (Código 001).

* **Autor de correspondência:** Marta Citelli, ¹Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rua São Francisco Xavier, 524, 12144F, 20550-900, Maracanã, Rio de Janeiro, Brasil. E-mail: martacitelli@gmail.com

RESUMO:

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia caracterizada por inflamação, fenômenos de vaso-oclusão e hemólises crônicas. A hepcidina é o principal hormônio responsável pela homeostase do ferro e absorção intestinal. Estudos recentes observaram que as concentrações séricas de hepcidina diferem em função da carga de ferro. Para o estabelecimento de uma conduta nutricional segura, a estimativa da capacidade de absorção de ferro precisa ser melhor compreendida, especialmente para as crianças, pois apresentam elevado ritmo de crescimento e desenvolvimento. **Objetivo:** Avaliar a capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme. **Método:** Estudo experimental, realizado em 14 crianças (Mediana = 8,0 anos; Intervalo Interquartil: 7 – 9 anos) divididas nos seguintes grupos: controle, indivíduos sem a doença (n=2); AF sem sobrecarga (n=8); e AF com sobrecarga de ferro (n=4). A avaliação da capacidade de absorção de ferro foi realizada por meio da marcação de um alimento padronizado (100 mL de suco de laranja) com o isótopo estável ⁵⁷Fe (5 mg). Amostras de sangue foram obtidas no tempo basal e 14 dias após a ingestão do isótopo, sendo a relação isotópica entre ⁵⁶Fe/⁵⁷Fe determinada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). **Resultados:** O percentual de absorção de ⁵⁷Fe foi estatisticamente diferente entre os três grupos estudados (3,9%, crianças com AF e sobrecarga de ferro; 18,2%, crianças com AF e sem sobrecarga de ferro; e 12,7%, crianças sem a respectiva doença). No grupo de crianças com AF sem sobrecarga de ferro foi encontrada correlação positiva de grau moderado entre ferritina e hepcidina (r = 0,762; p < 0,05) e correlação negativa de grau forte entre ferritina e percentual de absorção de ⁵⁷Fe (r = -0,962; p < 0,05). No mesmo grupo, o percentual de HbS foi fortemente correlacionado com o percentual de absorção de

ferro ($r = 0,976$; $p < 0,05$). O percentual de absorção de ^{57}Fe não se correlacionou com a hepcidina e com a concentração hepática de ferro em nenhum dos grupos. Possivelmente, devido ao pequeno número amostral do grupo com sobrecarga, não foi encontrada correlação entre absorção de ferro e ferritina. Conclusão: Considerando os resultados encontrados, há diminuição percentual de absorção de ferro intestinal nas crianças com AF e sobrecarga de ferro, sugerindo que as recomendações de restrição do consumo de alimentos fontes de ferro possam ser revistas. O desenvolvimento de mais estudos acerca do tema, contendo um número maior de participantes que contemplem a presença ou ausência de sobrecarga de ferro, é necessário para melhor compreensão dos mecanismos homeostáticos do ferro e das variáveis envolvidas nesse processo. No entanto, os resultados deste trabalho já podem auxiliar no aprimoramento da abordagem nutricional voltada a estes pacientes.

Palavras chaves: Hpcidina. Sobrecarga de Ferro. Crianças. Anemia falciforme. Isótopos estáveis.

5.1.1 Introdução

A doença falciforme (DF) é a hemoglobinopatia mais prevalente no mundo e é responsável por elevadas taxas de mortalidade nos primeiros anos de vida (IBGE, 2018). Estima-se que a cada ano cerca de 275.000 nascidos-vivos no mundo tenham doença falciforme (MODELL; DARLISON, 2008) e sua incidência varia de acordo com as regiões (FEUCHTBAUM et al., 2012). Devido à alta incidência, é considerada um problema de saúde pública (ASARE et al., 2018).

A DF é geneticamente determinada pela produção da hemoglobina S (HbS). Existem diversos genótipos da DF, sendo a ocorrência de HbS em homozigose (HbSS) considerada anemia falciforme (AF) (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2002). Quanto ao seu principal mecanismo fisiopatológico, destaca-se a alteração da hemácia para um formato de foice, a qual é menos flexível e possui menor sobrevida comparada à hemácia saudável (RHEA; MOLINARO, 2014). Essa alteração estrutural é responsável pelo aumento da viscosidade sanguínea, que conduz a fenômenos de vaso-oclusão e hemólise (BALLAS, 2002; STUART; NAGEL, 2004). Devido à complexidade de sua fisiopatologia, não há um tratamento específico para a doença, porém a terapia de transfusão sanguínea é uma prática recorrente, pois permite melhora do fluxo sanguíneo e da capacidade de oxigenação, reduzindo o avanço de complicações clínicas (INATI; KHORIATY; MUSSALAM, 2011).

No entanto, apesar dos reconhecidos benefícios desta terapia, ela pode levar ao aumento da concentração de ferro corporal e ao desenvolvimento de um quadro de sobrecarga de ferro (JOSEPHSON et al., 2007). Nessa condição clínica, o ferro circula em sua forma livre, a qual é altamente reativa, culminando em danos celulares e teciduais e até mesmo

fibrose e insuficiência funcional de diversos órgãos (CANÇADO, 2007; WARD, 2010). Considerando os aspectos relacionados à alimentação, os poucos estudos a respeito do tema apresentam lacunas no entendimento sobre o impacto que o ferro dietético pode ter na contribuição dessa condição. Como o metabolismo do ferro nos indivíduos com DF não foi totalmente esclarecido, muitos profissionais de saúde adotam a conduta de restringir o consumo de fontes alimentares deste micronutriente (OHEMENG; BOADU, 2017), o que para crianças, que apresentam acelerado ritmo de crescimento, pode levar à deficiência de micronutrientes fundamentais para seu desenvolvimento (BLACK, 2012).

A hepcidina é um hormônio regulador da homeostase de ferro que atua reduzindo a biodisponibilidade deste nutriente (DE DOMENICO; WARD; KAPLAN, 2008). Já foram reportadas maiores concentrações de hepcidina sérica em indivíduos com DF e sobrecarga de ferro (OMENA et al, 2018), indicando uma possível diminuição da absorção intestinal deste micronutriente. Entretanto, os aspectos como a estimativa da capacidade de absorção de ferro precisam ser aprofundados para auxiliar na criação de protocolos e diretrizes que norteiem a conduta nutricional voltada a estas pessoas. Face ao exposto, o objetivo deste estudo é avaliar a capacidade de absorção de ferro em crianças com anemia falciforme.

5.1.2 Métodos

5.1.2.1 População do estudo

Estudo experimental realizado com crianças de 2 a 12 anos de idade incompletos. Optou-se pela amostragem não probabilística, de conveniência, sendo os grupos participantes da pesquisa compostos por indivíduos com e sem anemia falciforme.

Ao todo, foram avaliadas 14 crianças, divididas em três grupos: grupo A, crianças com AF e sobrecarga de ferro (n=4); grupo B, crianças com AF sem sobrecarga de ferro (n=8); por fim o grupo C, crianças sem AF (n=2).

O grupo sem AF foi constituído pareando-se as variáveis sexo, cor/raça e idade com os demais grupos. Os critérios de inclusão estabelecidos foram: crianças sem AF de 2 a 12 anos de idade incompletos, que não foram hospitalizadas e não realizaram transfusões sanguíneas nos 15 dias anteriores à avaliação. Foi adotado como critério de exclusão: crianças com alguma outra hemoglobinopatia e/ou doenças hematológicas e/ou doenças autoimunes; e/ou com concentrações de ferritina sérica menores que 10 ng/mL para meninas e menores

que 20 ng/mL para meninos; e/ou crianças que fizessem uso de medicamentos para diabetes mellitus.

Para os grupos de indivíduos com AF foram estabelecidos como critérios de inclusão: crianças de 5 a 11 anos de idade completos com genótipo HbSS atendidas no Ambulatório de Anemia Hemolítica do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti (IEHE), conhecido como Hemorio. As crianças para serem incluídas não poderiam ter sido hospitalizadas e realizado transfusões sanguíneas nos 15 dias anteriores à avaliação.

Pontos de corte adotados para classificação de sobrecarga de ferro foram ferritina sérica igual ou maior a 1000 ng/mL (PORTER, GARBOWSKI, 2013) e/ou concentrações de ferro no fígado maiores que 40 $\mu\text{mol/g}$ (LABRANCHE et al, 2018) pelo exame de imagem (ressonância magnética em 1.5 Tesla Optima MR360 - GE MEDICAL SYSTEMS – método T2*) e/ou valores indicativos de sobrecarga de ferro no baço também avaliados por exame de ressonância magnética. Não há na literatura valores de referência de concentração de ferro no baço para diagnóstico de sobrecarga de ferro, logo, ele é feito a partir do laudo médico. Todas as crianças com AF participantes do estudo foram atendidas no Ambulatório de Anemia Hemolítica do IEHE. Participaram do estudo indivíduos que não foram hospitalizadas e não realizaram transfusões sanguíneas nos 15 dias anteriores à avaliação. Foi definido como critério de exclusão, crianças que façam uso de eritropoietina e/ou medicamentos para diabetes mellitus. Todos os responsáveis dos participantes do estudo receberam e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de participar do estudo. O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (número: 2.695.418) e Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (número: 419/17).

5.1.2.2 Análises laboratoriais

Os exames laboratoriais desta pesquisa consistiram em: determinação do hemograma completo, hepcidina sérica, ferritina, ferro sérico, capacidade total da ligação do ferro à transferrina (CTLF), parâmetros de inflamação como interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), bem como a incorporação de ferro nos eritrócitos, nos participantes com e sem AF.

O sangue dos participantes foi coletado por punção venosa pela manhã para exames hematológicos e as análises laboratoriais. Para análises hematológicas, o sangue foi coletado em tubos com anticoagulante (heparina sódica); para análises sorológicas e bioquímicas, foram utilizados tubos de coleta com gel ativador de coágulo para a extração de soro. Parte do material foi entregue no Laboratório de Desenvolvimento Analítico (LaDA) do Instituto de

Química localizado na Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) para a determinação da composição isotópica do ferro dos participantes da pesquisa.

Para realizar as análises de hemograma completo, ferritina, ferro sérico, hepcidina sérica, capacidade total da ligação do ferro à transferrina (CTLF), interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR), foram adotadas como metodologias: análise de hemograma com auxílio do contador automatizado Sysmex® XP-300 (Sysmex, Kobe, Japão); método colorimétrico para as análises de ferro sérico (Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil) e capacidade total de ligação de ferro (Bioclin®, Belo Horizonte, Brasil); método imunoenzimático para as análises de ferritina sérica (Elabscience®, Wuman, China), hepcidina-25 bioativa (Elabscience®, Wuman, China), proteína C reativa (Elabscience®, Wuman, China); interleucina-6 (Merck Millipore, Darmstadt, Alemanha). A determinação da relação isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$ ocorreu por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS) (Thermo Fisher Scientific iCAP® Qc, Bremen, Alemanha).

5.1.2.3 Capacidade de absorção de ferro

Antes da administração do isótopo estável, foi coletada uma amostra de 30 mL de sangue de cada participante em jejum para a realização das análises laboratoriais. Concentrações de 5 mg de isótopo estável ^{57}Fe – sob a forma de sulfato ferroso – foram diluídos em 100 mL de suco de laranja sem açúcar e conservantes (marca Do Bem®).

Em seguida, foi fornecido a cada participante um pacote de 40 g de biscoito do tipo polvilho salgado, de sabor natural e sem conservantes (marca Líder de Minas®). Os responsáveis dos participantes foram orientados a não fornecerem às crianças, alimentos e bebidas durante o período de 2 horas após a administração do ^{57}Fe , a fim de que não houvesse interferência na absorção do isótopo. Após 14 dias, foi realizada uma nova coleta de sangue para ser possível determinar a capacidade de absorção de ferro.

A capacidade de absorção deste mineral foi determinada pela técnica de marcação com isótopo estável ^{57}Fe , no qual cada indivíduo é o seu próprio controle (KASTENMEYER et al., 1994; CHEN et al., 2005; IAEA, 2012) e a absorção foi calculada com base na mudança das razões isotópicas no sangue. Para determinar a relação isotópica entre $^{56}\text{Fe}/^{57}\text{Fe}$, foi utilizado 0,1g do concentrado de hemácias lavadas, diluídos em 1mL de água ultrapurificada. Deste 1 mL, 500 µL foram colocados em um frasco de micro-ondas vedado e a ele adicionados 1 mL de peróxido de hidrogênio (30%) e 1mL de ácido nítrico 65% m/m bidestilado a sub-ebulição concentrado.

A mistura resultante foi levada ao forno de micro-ondas, a 175 °C, por 10 minutos e posteriormente resfriada em temperatura ambiente. Após este procedimento, o conteúdo foi avolumado com água ultrapurificada até 5 mL.

Desta forma, o extrato resultante foi analisado pela técnica de espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS, do inglês *inductively coupled plasma mass spectrometry*).

5.1.2.4 Ficha clínica de pesquisa

Após a coleta de sangue, os responsáveis dos participantes foram entrevistados pela equipe de pesquisa, preenchendo na ficha clínica do estudo os dados pessoais de identificação da criança, bem como a data de nascimento, a cor de pele/etnia auto referida, além de telefone para contato e endereço, visando à identificação da população de estudo. Esta ficha também contempla a história clínica do participante, dados sobre o tipo de parto e amamentação, uso de medicamentos e de suplementos.

5.1.2.5 Avaliação antropométrica

Em relação às medidas antropométricas, para mensurar o peso corporal foram utilizadas balanças eletrônicas da marca Filizola® (*Filizola, modelo Personal, São Paulo, Brasil*), calibradas e com capacidade para 150 Kg. Os participantes se posicionaram em pé e no centro da balança, sem os sapatos; e orientados que os mesmos retirassem casacos e/ou adornos que pudessem interferir na mensuração do peso.

Já em relação à estatura, os participantes foram colocados em pé, descalços ou com meias, de costas para o estadiômetro, mantendo a cabeça erguida e o corpo ereto, com os calcanhares juntos e braços estendidos ao lado do corpo. Foram utilizados estadiômetros de parede, de 2,20 metros, das marcas Tonelli® (*Tonelli, Criciúma, Brasil*) e Seca® (*Seca Brasil, Cotia, Brasil*).

Os indicadores antropométricos utilizados, recomendados pela OMS e adotados pelo Ministério da Saúde na avaliação do estado nutricional de crianças de cinco a 10 anos incompletos, foram: peso para idade, IMC para idade e estatura para idade (SBP, 2009). A classificação do estado nutricional de crianças foi realizada utilizando-se os valores de referência das curvas da OMS de 2007 (para a faixa etária dos cinco aos 19 anos) (BRASIL, 2012).

5.1.2.6 Ressonância magnética

A concentração de ferro no fígado e no baço, realizada somente nos grupos de crianças com AF com e sem sobrecarga de ferro, foi estabelecida pela ressonância magnética, utilizando-se o método T2*, uma técnica não invasiva e precisa, bem estabelecida na literatura (LABRANCHE et al, 2018). Essa etapa foi realizada no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e o laudo realizado pelo médico responsável pelo departamento de radiologia. O ponto de corte de concentração hepática de ferro utilizado para diagnóstico de sobrecarga de ferro foi de 40 $\mu\text{mol/g}$ (LABRANCHE et al, 2018).

5.1.2.7 Análise estatística

Para avaliar a distribuição da amostra foi aplicado o teste de *Shapiro-Wilk*. A depender da distribuição da variável estudada, testes paramétricos e não paramétricos foram aplicados. Para as variáveis com distribuição não paramétrica, os dados foram descritos em mediana e intervalo interquartil e as com distribuição paramétrica, em média e desvio padrão.

Quanto à análise inferencial, a comparação das variáveis contínuas com distribuição não paramétrica entre dois subgrupos foi avaliada pelo teste de Mann-Whitney e, entre três subgrupos, foi aplicada a ANOVA de Kruskal-Wallis, a comparação das variáveis com distribuição paramétrica foi avaliada pelo Teste t entre dois grupos e pela ANOVA-Teste de Tukey entre três grupos. As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste de qui-quadrado (χ^2) ou exato de Fisher.

Ademais, o grau de associação entre as variáveis contínuas foi mensurado por meio do coeficiente de correlação de *Spearman* para variáveis com distribuição não paramétrica e por correlação de *Pearson* para as variáveis com distribuição paramétrica.

Foi adotado como critério de determinação de significância o nível de 5%.

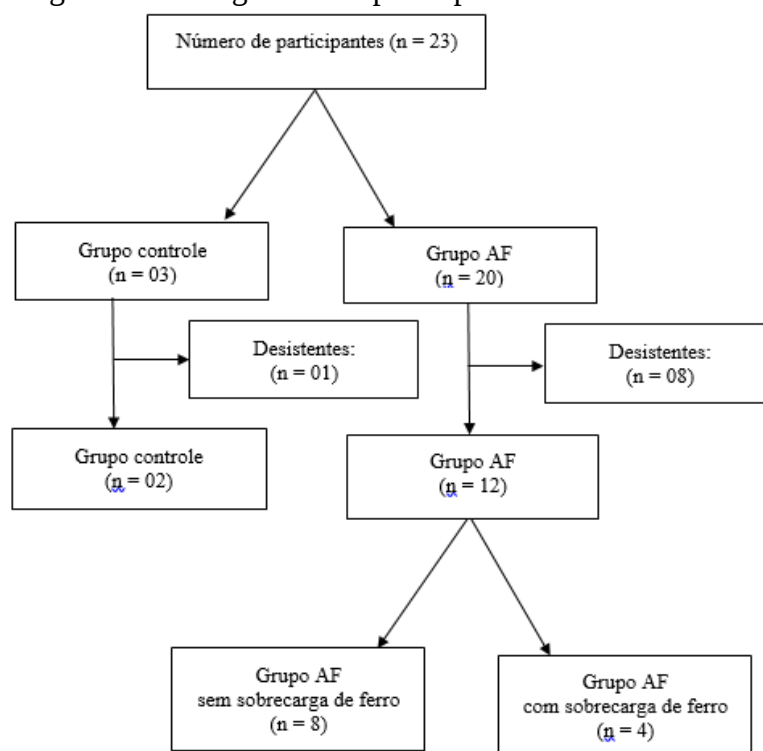
As análises estatísticas foram processadas pelo *software* estatístico *Statistical Package for Social Science* (IBM SPSS®, versão 22, Chicago, EUA).

5.1.3 Resultados

5.1.3.1 Características gerais dos participantes do estudo

Foram avaliadas neste estudo 14 crianças, sendo 12 destas com AF. Os participantes foram divididos nos seguintes grupos: AF com sobrecarga de ferro (grupo A, n=4); AF sem sobrecarga de ferro (grupo B, n=8); ausência de AF (grupo C, n=2).

Figura 2 - Fluxograma dos participantes do estudo.



Fonte: O autor (2020)

As características dos participantes do estudo podem ser observadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características gerais dos grupos participantes do estudo

Variáveis contínuas	Grupo A			Grupo B			Grupo C			p valor (*)
	n	mediana	range	n	mediana	range	n	mediana	range	
Idade (anos)	4	8,5	7-9	8	8	7-10	2	8	7-9	0,95
Variáveis categóricas	n	%		n	%		n	%		p valor (*)
<u>Sexo</u>										0,776
Masculino	2	50		6	75		1	50		
Feminino	2	50		2	25		1	50		
<u>Cor/Raça</u>										0,765
Branca	0	0		0	0		0	0		
Preta	1	25		2	25		0	0		
Parda	3	75		4	50		2	100		
Outros	0	0		2	25		0	0		
<u>Estatura/Idade</u>										1
Muito baixa estatura para a idade	0	0		0	0		0	0		
Baixa estatura para a idade	1	25		1	12,5		0	0		
Estatura adequada para a idade	3	75		7	87,5		2	100		
										0,429
<u>Peso/Idade</u>										
Muito baixo peso para a idade	0	0		0	0		0	0		
Baixo peso para a idade	1	25		0	0		0	0		

Tabela 1 – Características gerais dos grupos participantes do estudo

Tabela 1 – Características gerais dos grupos participantes do estudo										
Variáveis contínuas	Grupo A			Grupo B			Grupo C			p valor (*)
	n	mediana	range	n	mediana	range	n	mediana	range	
Peso adequado para a idade	3	75		8	100		2	100		
Peso elevado para a idade	0	0		0	0		0	0		
IMC/Idade										0,099
Magreza acentuada	0	0		0	0		0	0		
Magreza	1	25		0	0		0	0		
Eutrofia	3	75		8	100		1	50		
Sobrepeso	0	0		0	0		1	50		
Obesidade	0	0		0	0		0	0		
Obesidade grave	0	0		0	0		0	0		

Grupo A: Anemia falciforme com sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro; Grupo C: Controle; * Teste de *Kruskal-Wallis*, ao nível de 5%; • Diferença estatística pelo Teste de χ^2 ou exato de Fisher, ao nível de 5%.

Não foram observadas diferenças significativas entre os três grupos analisados para a variável idade e para todas as variáveis categóricas.

No que tange à cor/raça declarada pelos responsáveis das crianças, nota-se que em nenhum dos grupos foi declarada a cor branca. Quanto à avaliação antropométrica, observa-se o predomínio de estatura adequada para idade e peso adequado para idade entre os três grupos estudados (75% e 75% no grupo A; 87,5% e 100% no grupo B; 100% e 100% no grupo C, respectivamente). Entretanto, observa-se classificação de baixa estatura para idade, baixo peso para idade e magreza nos grupos de crianças com AF, o que não ocorreu no grupo C, e no qual, por sua vez, houve um caso de sobrepeso.

De acordo com a OMS, a classificação de adequação de peso por idade é estabelecida até a idade de 10 anos. No entanto, uma única criança do estudo tinha idade superior a 10 anos, pertencente ao grupo B. Considerando que haviam passado cinco meses da data em que completou a referida idade, optou-se pela adoção dos mesmos parâmetros para classificação de adequação de peso por idade.

Encontram-se na Tabela 2 os dados que se referem especificamente aos participantes com DF (grupos A e B), como utilização de hidroxiureia e de quelantes de ferro.

Tabela 2 – Características específicas dos participantes com anemia falciforme

Variáveis categóricas	Grupo A		Grupo B		p valor (*)
	n	%	n	%	
Uso de hidroxiureia					
Sim	3	75	3	37,5	0,545
Não	1	25	5	62,5	
Uso de quelante de ferro					
Sim	1	25	0	0	0,333
Não	3	75	8	100	

Grupo A: Anemia falciforme com sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro.

*Comparação entre os grupos A e B pelo teste exato de Fisher; p valor: significativo quando $p \leq 0,05$.

Apesar de não haver diferença estatística entre os grupos, é possível observar que no grupo de crianças com sobrecarga de ferro, 75% usavam hidroxiureia e 25% quelante de ferro.

5.1.3.2 Características laboratoriais dos participantes do estudo

A tabela 3 apresenta as características laboratoriais das crianças do estudo, também divididos nos grupos A, B e C, conforme explicitado anteriormente.

Tabela 3 – Características laboratoriais dos participantes do estudo

Variável	Grupo A (n=4)			Grupo B (n=8)			Grupo C (n=2)			p valor (*)
	mediana	range		mediana	range		mediana	range		
Hemácia (x10 ⁶ /mm ³)	2,4 ^{ab}	1,9	2,6	2,7 ^a	2,1	3,3	4,7 ^b	4,7	- 4,7	0,046
Hemoglobina (g/dL)	6,4 ^{ab}	5,4	7,1	7,4 ^a	6	- 9,2	12,7 ^b	12,1	- 13	0,031
Hematócrito (%)	19,3 ^{ab}	18,3	21,2	23,9 ^a	18	- 30,7	37,5 ^b	36,6	- 38	0,046
Hb S (%)*	90,2	72,6	93,7	88,4	66	- 92,9	-	-		0,838
Hb F (%)	4	1,3-	8	5,1	1,5	- 15	-	-		0,414
Hepcidina (ng/mL)	16,7	11,7	25,8	11,9	4,8	- 26,5	7,1	3,8	- 10	0,084
Ferritina (ng/mL)	1592,1 ^C	856	1965	348,6 ^a	110	- 527	56,1 ^b	47,9	- 64	0,006
Ferro sérico (mg/dL)	123,2	42	186	152,9	1,5	- 351	99,3	98,6	- 100	0,76
CTLF (µg/dL)	233,8	3,6	388	339,4	280	- 576	426,2	417	- 435	0,135
Transferrina (µg/dL)	163,6	2,5	272	237,6	196	- 403	298,3	292	- 305	0,135
IL-6 (pg/mL)	0,51	0,48	0,54	0,30	0,00	- 5,70	ND	ND		0,564
PCR (mg/dL)	1,5 ^{ab}	0,6	1,6	0,7 ^a	0,4	- 1,4	0,06 ^b	0,04	- 0,1	0,031

Grupo A: Anemia falciforme com sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro; Grupo C: Controle; ND: Não detectado; Range: mínimo e máximo; * Teste de *Kruskal-Wallis*, ao nível de 5%; Comparação entre os grupos pelo teste de Mann-Whitney; Letras diferentes significam diferença estatística ($p < 0,05$) entre os grupos.

O grupo de crianças com AF e sem sobrecarga de ferro apresentou valores de hemácia, hemoglobina e hematócrito inferiores aos encontrados no grupo sem a doença. No que diz respeito especificamente aos participantes com AF, os percentuais de HbS e HbF não diferiram estatisticamente entre os dois grupos ($p = 0,838$, $p = 0,414$, respectivamente).

No que tange propriamente aos parâmetros relacionados ao metabolismo do ferro (hepcidina sérica, ferritina sérica, ferro sérico, transferrina sérica e capacidade total de ligação de ferro à transferrina), apenas a ferritina apresentou diferença estatística significativa entre os três grupos ($p < 0,05$). Os indivíduos com AF e sobrecarga de ferro apresentaram um valor de mediana desta proteína quase cinco vezes maior do que os participantes com AF sem a sobrecarga de ferro (348,6 ng/mL) e quase 30 vezes maior do que os participantes sem a doença (56,1 ng/mL).

Por fim, no que concerne aos marcadores inflamatórios adotados pelo estudo, a PCR apresentou valor de mediana maior no grupo B em relação ao grupo C ($p < 0,05$).

5.1.3.3 Relação entre a hepcidina sérica e variáveis estudadas

A tabela 4 apresenta a correlação entre hepcidina sérica e variáveis contínuas por grupo estudado. No grupo A não foram observadas correlações significativas entre a hepcidina sérica e as variáveis contínuas analisadas. No grupo de crianças sem AF, devido ao pequeno número amostral, não foi possível realizar as análises de correlação.

A exemplo do conjunto A+B, no grupo B a ferritina apresentou uma correlação positiva de grau forte com a hepcidina ($r = 0,762$; $p < 0,05$). Além disso, também foi demonstrada, no grupo total de crianças com anemia falciforme, correlação positiva de grau forte entre a IL-6 ($r = 0,9$; $p < 0,05$) e hepcidina, apesar da PCR não ter apresentado correlação com a hepcidina em nenhum dos grupos.

Tabela 4 – Correlação entre a hepcidina sérica (ng/mL) e as variáveis contínuas por grupo

Variável		Grupo A+B (n=12)	Grupo A (n=4)	Grupo B (n=8)
Idade (anos)	r_s	0,369	0,211	0,408
	p	0,238	0,789	0,316
IMC (Kg/m ²)	r_s	-0,112	-0,2	0,429
	p	0,729	0,8	0,289
Hemoglobina (g/dL)	r_s	-0,07	-0,2	0,19
	p	0,829	0,8	0,651
Hematócrito (%)	r_s	0,049	-0,2	0,19
	p	0,88	0,8	0,651
Hb S (%)	r_s	-0,305	-0,5	-0,431
	p	0,361	0,667	0,286
Hb F (%)	r_s	-0,073	0,5	-0,167
	p	0,832	0,667	0,693
Ferritina (ng/mL)	r_s	0,737	0,6	0,762
	p	0,007	0,4	0,028
Ferro (mg/dL)	r_s	-0,336	-0,6	-0,262
	p	0,285	0,4	0,531
CTLF (µg/dL)	r_s	-0,545	-0,6	-0,536
	p	0,083	0,4	0,215
Transferrina (µg/dL)	r_s	-0,545	-0,6	-0,536
	p	0,083	0,4	0,215
IL-6 (pg/mL)	r_s	0,9	ND	0,5
	p	0,037	ND	0,667
PCR (mg/dL)	r_s	0,322	0,2	0,333
	p	0,308	0,8	0,42
LIC (µmol/g)	r_s	0,3	0,5	ND
	p	0,624	0,667	ND

Grupo A + B: Total de crianças com anemia falciforme; Grupo A: Anemia falciforme e sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro; n: número de casos; IMC: Índice de massa corporal; HbS: Hemoglobina S; HbF: Hemoglobina fetal; CTLF: Capacidade total de ligação do ferro; IL-6: Interleucina-6; PCR: Proteína C reativa; LIC: Concentração hepática de ferro, ND: Não detectado; r_s : coeficiente de correlação de Spearman; p : nível descritivo (significativo quando $p \leq 0,05$).

5.1.3.4 Relação entre o percentual de Fe⁵⁷ absorvido e variáveis estudadas

A absorção de ⁵⁷Fe foi menor nas crianças com sobrecarga de ferro (3,9%), seguida pelas crianças sem AF (12,7%) e pelas crianças com AF sem sobrecarga de ferro (18,2%). Não foram observadas diferenças estatísticas significativas do LIC entre os grupos de crianças com AF com sobrecarga de ferro e sem sobrecarga de ferro.

Tabela 5 – Concentração de ferro hepático (μmol/g) e do percentual de absorção de ferro (%) por grupo

Variável	Grupo A		Grupo B		Grupo C		p valor (*)
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	
LIC (μmol/g)	36	9,16	22	7,07	NA	NA	0,17
Fe ⁵⁷ absorvido (%)	3,9^a	0,6	18,2^b	8,0	12,67^c	0,3	0,044

Grupo A: Anemia falciforme com sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro; Grupo C: Controle; NA: Não analisado; * ANOVA - Teste de Tukey e Teste t, ao nível de 5%;

A tabela 6 apresenta a correlação entre percentual de absorção de ferro e variáveis contínuas por grupo estudado.

No que se refere às correlações entre o percentual de absorção de Fe⁵⁷ e as variáveis contínuas por grupo, não foi observada correlação significativa com hepcidina ou com a concentração hepática de ferro em nenhum dos grupos. No grupo de crianças com AF sem sobrecarga de ferro, o percentual de absorção de ferro se correlacionou fortemente com a ferritina ($r = -0,962$; $p < 0,05$) e com a HbS ($r = 0,976$; $p < 0,05$). No grupo total de crianças com AF, o IMC apresentou uma correlação positiva de grau forte com o percentual de absorção de ferro.

Tabela 6 – Correlação entre o percentual de absorção de ferro (%) e as variáveis contínuas por grupo

Variável		Grupo A+B (n=12)	Grupo A (n=4)	Grupo B (n=8)
Idade (anos)	r	-0,217	0,355	0,637
	p	0,64	0,769	0,363
IMC (Kg/m ²)	r	0,914	0,705	0,737
	p	0,004	0,502	0,263
Hemoglobina (g/dL)	r	0,368	0,935	-0,106
	p	0,417	0,231	0,894
Hematócrito (%)	r	-0,02	0,814	-0,531
	p	0,997	0,394	0,469
Hb S (%)*	r	0,443	ND	0,976
	p	0,379	ND	0,024
Hb F (%)	r	-0,246	ND	-0,619
	p	0,639	ND	0,381

Tabela 6 – Correlação entre o percentual de absorção de ferro (%) e as variáveis contínuas por grupo

Variável		Grupo A+B (n=12)	Grupo A (n=4)	Grupo B (n=8)
Ferritina (ng/mL)	r	-0,766	0,491	-0,962
	p	0,045	0,673	0,038
Ferro (mg/dL)	r	0,119	-0,259	-0,308
	p	0,799	0,833	0,692
CTLF (µg/dL)	r	0,449	-0,423	-0,427
	p	0,372	0,722	0,719
Transferrina (µg/dL)	r	0,449	-0,423	-0,427
	p	0,372	0,722	0,719
Hepcidina (ng/mL)	r	-0,559	0,931	0,244
	p	0,192	0,238	0,756
IL-6 (pg/mL)	r	-0,935	ND	ND
	p	0,232	ND	ND
PCR (mg/dL)	r	-0,439	0,41	-0,285
	p	0,324	0,731	0,715
LIC (µmol/g)	r	-0,7	ND	ND
	p	0,507	ND	ND

Grupo A + B: Total de crianças com anemia falciforme; Grupo A: Anemia falciforme e sobrecarga de ferro; Grupo B: Anemia falciforme sem sobrecarga de ferro; n: número de casos; IMC: Índice de massa corporal; HbS: Hemoglobina S; HbF: Hemoglobina fetal; CTF: Capacidade total de ligação do ferro; IL-6: Interleucina-6; PCR: Proteína C reativa; LIC: Concentração hepática de ferro, ND: Não detectado; r: coeficiente de correlação de **Pearson**; p: nível descritivo (significativo quando $p \leq 0,05$).

Levando em consideração o pequeno número amostral, foi desenvolvida a tabela 7 com os valores de percentual de absorção de ferro, ferritina, hepcidina séricas, concentração hepática de ferro (LIC) e concentração esplênica de ferro (SIC) de cada um dos participantes do estudo para melhor observação dos resultados encontrados.

É possível observar uma ampla variância ($49,7 \text{ ng/mL}^2$) dos valores de hepcidina dentre os participantes. Contudo, os menores percentuais de absorção de ferro estão concentrados no grupo A.

Como descrito nos métodos, além dos valores de ferritina ($\geq 1000 \text{ ng/mL}$) e de LIC ($>40 \text{ µmol/g}$) para classificação de sobrecarga de ferro, foi levada em consideração a avaliação da SIC. A única criança do grupo A, que não se adequou aos critérios de ferritina e LIC para sobrecarga, apresentou valor de sobrecarga de ferro muito acentuada no baço segundo o laudo médico. Este mesmo indivíduo, apresentou maior valor de hepcidina ($13,6 \text{ ng/mL}$) quando comparado à mediana de todas as crianças participantes do estudo ($12,0 \text{ ng/mL}$) e o menor valor de absorção de ferro intestinal comparado aos demais participantes.

Tabela 7 – Percentual de absorção de ferro, de ferritina, de hepcidina séricas, concentração hepática de ferro (LIC) e concentração esplênica de ferro (SIC) de cada um dos participantes do estudo.

Grupo	Fe ⁵⁷ absorvido (%)	Ferritina (ng/mL)	Hepcidina (ng/mL)	LIC (μmol/g)	SIC (μmol/g)
A	3,5	856,4	13,6	28	339
A	ND	1420,2	11,7	34	ND*
A	4,6	1764,0	25,8	46	528
A	3,7	1964,7	19,8	NA	NA
B	ND	119,4	6,0	NA	NA
B	ND	369,8	12,6	NA	NA
B	ND	527,5	19,5	NA	NA
B	11,7	339,9	10,6	17	ND
B	ND	376,9	26,5	27	ND
B	29,9	110,0	11,6	NA	NA
B	16,0	344,9	4,8	NA	NA
B	15,4	352,4	12,2	NA	NA
C	12,4	64,3	10,4	NA	NA
C	12,9	47,9	3,8	NA	NA

A: Criança com anemia falciforme e sobrecarga de ferro; B: Criança com anemia falciforme e sem sobrecarga de ferro; C: criança controle, sem anemia falciforme. LIC: Concentração hepática de ferro. SIC: Concentração esplênica de ferro. NA: Não analisado. ND: Não detectado. (*) Baço com acentuado hipossinal, sugerindo sobrecarga de ferro.

5.1.4 Discussão

Até onde alcança o nosso conhecimento, o presente estudo é o primeiro a promover a avaliação da absorção de ferro em dois grupos de crianças com AF, expostas ou não à sobrecarga de ferro. Os resultados visam elucidar se a absorção do ferro dietético é de fato reduzida no grupo com sobrecarga. De acordo com os achados de Omena e colaboradores (2018), indivíduos adultos com DF e sobrecarga de ferro apresentaram maiores concentrações de hepcidina sérica, sugerindo a possibilidade de que esses indivíduos apresentassem menor absorção de ferro. Portanto, possivelmente não haveria a necessidade de restrição do consumo das fontes alimentares deste mineral.

Um dos critérios utilizados para classificar a criança com sobrecarga de ferro, foi a SIC. A única criança que não se adequou aos outros critérios para sobrecarga, mas apresentou sobrecarga de ferro muito acentuada no baço, segundo o laudo médico, foi a criança com menor valor de absorção de ferro intestinal. Apesar de não existir na literatura valores de referência para este indicador, esses resultados indicam que a SIC pode ser um bom parâmetro de diagnóstico de sobrecarga de ferro.

No presente estudo, o IMC no grupo total de crianças com AF se correlacionou fortemente com o percentual de absorção de ferro intestinal. Esse resultado está de acordo com os resultados de Aeberli e colaboradores (2009), que desenvolveram um estudo em crianças

com sobrepeso e crianças eutróficas com o objetivo de comparar o estado de ferro, a ingestão alimentar e a biodisponibilidade do ferro, bem como os níveis de hepcidina sérica, de leptina e de IL-6. Obtiveram como resultado, níveis séricos de hepcidina significativamente maiores nas crianças com sobrepeso, sugerindo menor absorção de ferro nessas crianças. Levando em consideração que no atual trabalho não há crianças com AF diagnosticadas com sobrepeso e que os três menores valores de IMC são de crianças com sobrecarga de ferro, sugere-se que crianças eutróficas e sem sobrecarga absorvem mais ferro.

Os valores de hepcidina sérica não foram diferentes entre os grupos com e sem sobrecarga de ferro. A hepcidina também não se correlacionou com a absorção intestinal de ferro ou com a concentração hepática de ferro em nenhum dos grupos estudados, sugerindo que ela possa não ser uma boa variável de predição da absorção de ferro. O estudo de Zimmermann e colaboradores (2009), realizado com mulheres jovens com anemia ferropriva e mulheres saudáveis, identificou correlação entre absorção de ferro e hepcidina, porém essa correlação foi modesta.

No entanto, o grupo de crianças com sobrecarga de ferro apresentou o menor percentual de absorção deste mineral, enquanto o grupo de crianças com DF sem sobrecarga apresentou o maior percentual de absorção. O pequeno tamanho amostral e a ampla variância dos valores de hepcidina podem ter limitado o poder estatístico das análises do presente estudo. Contudo, os resultados referentes à absorção intestinal de ferro estão em concordância com o mecanismo proposto por Omena e colaboradores (2018). Esse estudo identificou que o grupo com sobrecarga de ferro apresentava concentrações de hepcidina maiores do que o grupo controle sem a doença. Por outro lado, o grupo falciforme sem sobrecarga apresentou menores concentrações de hepcidina do que o grupo controle sem a doença, sugerindo maior capacidade de absorção de ferro neste grupo.

Se por um lado o excesso de ferro é um fator potencialmente capaz de aumentar a síntese de hepcidina, por outro, tanto a hipóxia como a atividade eritropoiética têm o potencial de reduzir a síntese de hepcidina, o que poderia aumentar a absorção intestinal de ferro (GANZ, 2013). No presente estudo, o percentual de HbS se correlacionou de forma positiva com o percentual de absorção intestinal de ^{57}Fe no grupo de crianças com AF sem sobrecarga de ferro. Sabe-se que a HbS possui baixa afinidade pelo oxigênio e que o aumento do seu percentual na corrente sanguínea pode conduzir à hipóxia (GANZ, 2013). Adicionalmente, o percentual de HbS indica indiretamente maior atividade eritropoiética (TANCABELIC et al, 1999).

Erlandson e colaboradores (1962) identificaram maior absorção de ferro em crianças com anemia falciforme, que apresentavam alta atividade eritropoiética e anemia severa em um estudo que utilizou isótopos de ferro radioativos. Entretanto, esse estudo foi realizado com uma população mista, composta por adultos e crianças com doença falciforme (genótipos SS e SC), talassemia, esferocitose hereditária e anemias não especificadas, além de crianças saudáveis. O grupo de crianças com anemia falciforme era representado por um número pequeno de três indivíduos. Além disso, não foi levado em consideração a presença ou ausência de sobrecarga desse mineral.

No que tange à ferritina, os valores diferiram significativamente entre os grupos estudados, o que já era esperado, uma vez que a classificação de sobrecarga de ferro foi determinada pela concentração sérica dessa proteína. A hepcidina apresentou correlação positiva de grau moderado com a ferritina no grupo sem sobrecarga (grupo B), corroborando com os achados de outros estudos (KROOT et al., 2009; FERTRIN et al., 2014). Esse resultado pode ser o reflexo da contribuição da inflamação ao estímulo da produção tanto de ferritina quanto de hepcidina sérica. A IL-6 é considerada agonista de hepcidina (NEMETH, 2003), corroborando com os achados deste trabalho, em que este marcador inflamatório se correlacionou positivamente com este hormônio no grupo total de crianças com AF.

No grupo B, crianças com AF sem sobrecarga de ferro, a ferritina apresentou uma correlação negativa de grau forte com o percentual de absorção. Os dados sugerem que a ferritina pode ser um potencial preditor da absorção de ferro. No estudo de Zimmermann e colaboradores (2009), a ferritina e a hemoglobina foram preditoras significativas da absorção de ferro. Os achados de Roe e colaboradores (2009) também mostraram a ferritina, assim como a CTLEF, como melhores preditoras para absorção de ferro nos grupos de homens saudáveis e homens heterozigotos para hemocromatose. Somente ao retirar a ferritina do modelo de regressão, a hepcidina e a CTLEF são identificadas como melhores preditoras.

Somado a esse resultado, o menor percentual de absorção intestinal de Fe^{57} no grupo de crianças com AF e sobrecarga de ferro parece confirmar a hipótese de que não é necessária a restrição do consumo de alimentos fontes de ferro por esses indivíduos.

Embora o nosso estudo contenha limitações, principalmente no que diz respeito ao número de participantes, poucas são as publicações a respeito do tema. Portanto, os resultados encontrados contribuem para a construção de uma conduta mais personalizada, que considera a presença ou ausência de sobrecarga de ferro, uma vez que o percentual de absorção de ferro se comportou de forma distinta entre os grupos estudados.

5.1.5 Conclusão

Os resultados deste estudo indicam que há diminuição percentual de absorção de ferro intestinal nas crianças com anemia falciforme e sobrecarga de ferro. Logo, sugerem que as recomendações de restrição do consumo de alimentos fontes de ferro possam ser revistas.

Embora a hepcidina sérica seja apresentada como a principal reguladora da homeostase do ferro, não foi observada correlação com a absorção deste mineral. No entanto, os resultados indicam que possivelmente a ferritina possa estar envolvida em algum mecanismo que medeia a absorção deste mineral, haja vista a correlação negativa desta proteína com a absorção intestinal do ferro observada no grupo de indivíduos sem a sobrecarga de ferro.

Assim, o desenvolvimento de mais estudos acerca do tema, contendo um número maior de participantes que contemplem a presença ou ausência de sobrecarga de ferro faz-se necessário para melhor compreensão dos mecanismos homeostáticos do ferro e das variáveis envolvidas nesse processo. No entanto, os resultados deste trabalho já podem auxiliar no aprimoramento da abordagem nutricional voltada a estes pacientes.

5.1.6 Referências

- AEBERLI, I.; HURRELL R. F.; ZIMMERMANN, M. B. Overweight children have higher circulating hepcidin concentrations and lower iron status but have dietary iron intakes and bioavailability comparable with normal weight children. *International Journal of Obesity*, v. 33, p. 1111-1117, 2009.
- ASARE, E. V. et al. Burden of Sickle Cell Disease in Ghana: The Korle-Bu Experience. *Advances in Hematology*, 2018.
- BALLAS, S. K. Sickle Cell anaemia: Progress in pathogenesis and treatment. *Drugs*, v. 62, n. 8, p. 1143-1172, 2002.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Cadernos de Atenção Básica - Saúde da Criança: Crescimento e Desenvolvimento. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, n. 33, 2012b.
- CANÇADO, R. D. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 316-326, 2007.
- CHEN, Z. et al. High resolution inductively coupled plasma mass spectrometry allows rapid assessment of iron absorption in infants and children. *The Journal of Nutrition*, v. 135, n. 7, p. 1790-1795, 2005.

DE DOMENICO, I.; WARD, D. M.; KAPLAN, J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Journal of Molecular Cell Biology*, v. 9, n. 1, p. 72-81, 2008.

ERLANDSON, M. E. et al. Studies on congenital hemolytic syndromes, IV. Gastrointestinal absorption of iron. *Blood*, v. 19, [s.n.], p.359-378, 1962.

FERTRIN, K. Y. et al. Erythropoiesis-driven regulation of hepcidin in human red cell disorders is better reflected through concentrations of soluble transferrin receptor rather than growth differentiation factor 15. *American Journal of Hematology*, v. 89, n. 4, p. 385-390, 2014.

FEUCHTBAUM, L. et al. Birth prevalence of disorders detectable through newborn screening by race/ethnicity. *Genetics in Medicine*, v. 14, n. 11, p. 937-945, 2012.

GANZ, T. Systemic Iron Homeostasis. *Physiological Reviews*, v:93, p. 1721-1741.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Taxa de Mortalidade Infantil por mil nascidos vivos. 2018

INATI, A.; KHORIATY, E.; MUSALLAM, K. M. Iron in sickle-cell disease: What have we learned over the years? *Pediatric Blood Cancer*, v.56, n.2, p. 182-190, 2011.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). Assessment of iron bioavailability in humans using stable iron isotope techniques. Editora: International Atomic Energy Agency. Viena, 2012. (IAEA Human Health Series; n. 21)

JOSEPHSON, C. D. et al. Transfusion in the patient with sickle cell disease: A critical review of the literature and transfusion guidelines. *Transfusion Medicine Reviews*, v. 21, n. 2, p. 118-133, 2007.

KASTENMAYER, P. et al. A double stable isotope technique for measuring iron absorption in infants. *The British Journal of Nutrition*, v. 71, n. 3, p. 411-424, 1994.

KROOT, J. J. et al. Regulation of serum hepcidina levels in sickle cell disease. *Haematologica*, v. 94, n. 6, p. 885-887, 2009.

LABRANCHE, M. D. et al. Liver Iron: Quantification with MR Imaging: A Primer for Radiologists. *Radio Graphics*, v. 38, n. 2, p. 392-412, 2018.

MODELL, B.; DARLISON, M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization*, [Genebra], v. 86, n. 6, p. 480-487, 2008.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. National Heart, Lung, And Blood Institute. Division of Blood Diseases and Resources. The Management of Sickle Cell Disease. 4. ed. Bethesda, MD: NIH Publication n. 02-2117, 2002.

NEMETH, E. et al. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, v.101, n.7, p.2461-2463, 2003.

OHEMENG, A.; BOADU, I. The role of nutrition in the pathophysiology and management of sickle cell disease among Children: A Review of literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017.

OMENA et al. Serum hepcidin concentration in individuals with sickle cell anemia: basis for the dietary recommendation of iron. *Nutrients*, v. 10, n. 4, p. 1-9, 2018.

PORTER, J. B.; GARBOWSKI, M. Consequences and Management of Iron Overload in Sickle Cell Disease. *American Society of Hematology*, p. 447-456, 2013.

RHEA, J. M.; MOLINARO, R. Pathology consultation on HbA1c methods and inferences. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 141, n. 1, p. 5-16, 2014.

ROE, M. A. et al. Plasma hepcidin concentrations significantly predict interindividual variation in iron absorption in healthy men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.89, p. 1088-1091, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. *Avaliação nutricional da criança e do adolescente: Manual de Orientação*. São Paulo: Departamento de Nutrologia, 2009.

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

TANCABELIC, J. et al. Serum transferrin receptor as a marker of erythropoiesis suppression in patients on chronic transfusion. *American Journal of Hematology*, v. 60, n. 2, p. 121-125, 1999.

WARD, R. An update on disordered iron metabolism and iron overload. *Hematology*, v. 15, n. 5, p. 311-317, 2010.

ZIMMERMANN, M. B. et al. Plasma hepcidin is a modest predictor of dietary iron bioavailability in humans, whereas oral iron loading, measured by stable-isotope appearance curves, increases plasma hepcidin. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 90, p. 1280-1287, 2009.

6 CONCLUSÃO E PERSPECTIVA

Esta pesquisa possibilitou identificar que há diminuição percentual de absorção de ferro intestinal nas crianças com anemia falciforme e sobrecarga de ferro. Nesse sentido, o risco do consumo de alimentos fontes de ferro parece não ser um grave problema para esses indivíduos. Assim, as condutas de restrição do consumo deste micronutriente devem ser reavaliadas, pois parecem não ser necessárias.

Como resultados, observou-se que não houve correlação da hepcidina com a absorção deste mineral. No entanto, os resultados indicam que possivelmente a ferritina possa estar envolvida em algum mecanismo que medeia a absorção deste mineral, haja vista a correlação negativa desta proteína com a absorção intestinal do ferro observada no grupo de indivíduos sem a sobrecarga de ferro. O tamanho amostral reduzido foi uma limitação deste estudo.

Sendo assim, como perspectivas há o desenvolvimento de novos estudos acerca do tema, contendo um número maior de participantes que contemplem a presença ou ausência de sobrecarga de ferro, para melhor compreensão dos mecanismos homeostáticos do ferro e das variáveis envolvidas nesse processo. No entanto, os resultados deste trabalho já podem auxiliar no aprimoramento da abordagem nutricional voltada a estes pacientes.

REFERÊNCIAS

- AEBERLI, I.; HURRELL R. F.; ZIMMERMANN, M. B. Overweight children have higher circulating hepcidin concentrations and lower iron status but have dietary iron intakes and bioavailability comparable with normal weight children. *International Journal of Obesity*, v. 33, p. 1111-1117, 2009.
- ABRAMS, S. A. et al. Absorption by 1-year-old children of an iron supplement given with cow's milk or juice. *Pediatric Research*, v. 39, n. 1, p. 171-175, 1996.
- ABRAMS, S. A. Using stable isotopes to assess mineral absorption and utilization by children. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 70, n. 6, p. 955-964, 1999.
- AMMANN, A. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool. *Journal of Mass Spectrometry*, v. 42, n. 4, p. 419-427, 2007.
- ANDERSON, G. J.; FRAZER, D. M.; MCLAREN, G. D. Iron absorption and metabolism. *Current Opinion in Gastroenterology*, v. 25, n. 2, p. 129-135, 2009.
- ANGELUCCI, E. et al. Italian Society of Hematology practice guidelines for the management of iron overload in thalassemia major and related disorders. *Haematologica*, v. 93, n. 5, p. 741-752, 2008.
- ASARE, E. V. et al. Burden of Sickle Cell Disease in Ghana: The Korle-Bu Experience. *Advances in Hematology*, 2018.
- AULT, P.; JONES, K. Understanding iron overload: Screening, monitoring, and caring for patients with transfusion-dependent anemias. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, v. 13, n. 5, p. 511-517, 2009.
- BACK, D. Z. et al. Of macrophages and red blood cells: a complex love story. *Frontiers in Physiology*, v. 5, n. 9, p. 1-11, 2014.
- BAKER, R. D. et al. Diagnosis and prevention of iron deficiency iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age). *Pediatrics*, v. 126, n. 5, p. 1040-1050, 2010.
- BALLAS, S. K. Iron Overload is a determinant of morbidity and mortality in adult patients with sickle cell disease. *Seminars in Hematology*, Filadélfia, v. 38, n. 1, Supl. 1, p. 30-36, 2001.
- BALLAS, S. K. Sickle Cell anaemia: Progress in pathogenesis and treatment. *Drugs*, v. 62, n. 8, p. 1143-1172, 2002.
- BALLAS, S. K. et al. Definitions of phenotypic manifestations of sickle cell disease. *American Journal of Hematology*, v. 85, n. 1, p. 6-13, 2010.
- BALLAS, S. K.; GUPTA, K.; ADAMS-GRAVES, P. Sickle cell pain: a critical reappraisal. *Blood*, v. 120, n. 18, p. 3647-3656, 2012.

BARBOUR, R. *Determinação de impurezas em cobre eletrolítico por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado*. 2011. 102 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, 2011.

BEKRI, S. et al. Increased Adipose Tissue Expression of Hepcidin in Severe Obesity Is Independent From Diabetes and NASH. *Gastroenterology*, v. 131, n. 3, p. 788-796, 2006.

BLACK, M. M. Integrated Strategies Needed to Prevent Iron Deficiency and to Promote Early Child Development. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. v. 26, p. 120 – 123, 2012.

BOTELHO, E. et al. Nutritional Status, Nutrient Intake, and Food Diversity Among Children With Sickle Cell Anemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. v. 41, n. 3, p.: 141-145, 2019.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes*. Brasília: ANVISA, 2002a. 142 p.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 de dezembro de 2012a, p.59-62.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Aprova o regulamento técnico para a fortificação de farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico*. Resolução n. 344, de 13 de dezembro de 2002b. Publicada no DOU n. 244 em 18 de dezembro de 2002b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de Alimentação e Nutrição. *Guia Alimentar para Crianças menores de 2 anos – versão para consulta pública*. Brasília, DF, junho/julho de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher –PNDS 2006*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme – PNAIPDF*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas*. Portaria SAS/MS no 1.324, de 25 de novembro de 2013a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Cadernos de Atenção Básica - Saúde da Criança: Crescimento e Desenvolvimento*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, n. 33, 2012b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Carências de Micronutrientes*. Caderno de Atenção Básica. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. *Programa Nacional de Suplementação de Ferro*. Manual de Condutas Gerais. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2013b, 24 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. *O que se deve saber sobre herança genética*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014. 47 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Dispõe sobre o enriquecimento das farinhas de trigo e de milho com ferro e ácido fólico*. Resolução n.150, de 13 de abril de 2017. Publicada no DOU n. 73 em 17 de abril de 2017.

BRIGIDE, P. et al. Métodos de determinação da biodisponibilidade do ferro: ênfase na utilização do radionuclídeo ⁵⁹Fe. *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v. 36, n. 3, p. 93-107, 2011.

BRITTENHAM, G. M. Iron-chelating therapy for transfusional iron overload. *The New England Journal of Medicine*, v. 364, n. 2, p. 146-156, 2011.

BUNN, H. F. et al. Pulmonary hypertension and nitric oxide depletion in sickle cell disease. *Blood*, v. 116, n. 5, p. 687-692, 2010.

CANÇADO, R. D. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 316-326, 2007.

CARDOSO, J. D. *Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro*. 2018. 58 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

CAXITO, F. A.; SILVA, A. Isótopos estáveis: fundamentos e técnicas aplicadas à caracterização e proveniência geográfica de produtos alimentícios. *Geonomos*, v. 23, n. 1, p. 10-17, 2015.

CHEN, Z. et al. High resolution inductively coupled plasma mass spectrometry allows rapid assessment of iron absorption in infants and children. *The Journal of Nutrition*, v. 135, n. 7, p. 1790-1795, 2005.

CHUNG, B. et al. Leptin increases the expression of the iron regulatory hormone hepcidin in HuH7 Human Hepatoma Cells. *Journal of Nutrition*, v. 137, n. 11, p. 2366-2370, 2007.

COATES, T. D. Physiology and pathophysiology of iron in hemoglobin-associated diseases. *Free Radical Biology and Medicine*, Nova Iorque, v. 72, p. 23-40, 2014.

COATES, T. D.; WOOD, J. C. How we manage iron overload in sickle cell patients. *British Journal of Haematology*, v. 177, n. 5, p. 703-716, 2017.

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

COOK, J. D. Diagnosis and management of iron-deficiency anaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, v. 18, n. 2, p. 319-332, 2005.

DARBARI, D. S. et al. Circumstances of Death in Adult Sickle Cell Disease Patients. *American Journal of Hematology*, v.81,n., p.858-863, 2006.

DEDEKEN, L. et al. Automated RBC exchange compared to manual Exchange transfusion for children with sickle cell disease is cost-effective and reduces iron overload. *Transfusion*,v. 58, 2018.

DE DOMENICO, I.; WARD, D. M.; KAPLAN, J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Journal of Molecular Cell Biology*, v. 9, n. 1, p. 72-81, 2008.

DIAS, L. F. *Determinação de metais traço em sedimento por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado com introdução da amostra na forma de suspensão por vaporização eletrotérmica*. 2004. 92 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Centro de Ciências Físicas e Matemática, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

DIAZ, M. et al. The efficacy of a local ascorbic acid-rich food in improving iron absorption from Mexican diets: a field study using stable isotopes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 78, n. 3, p. 436-440, 2003.

DONOVAN, A.; ROY, C. N.; ANDREWS, N. C. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology*, n. 21, p. 115-123, 2006.

DRASAR, E. et al. Blood transfusion usage among adults with sickle cell disease – a single institution experience over ten years. *British Journal of Haematology*. v. 152, p. 766-770, 2011.

ERLANDSON, M. E. et al. Studies on congenital hemolytic syndromes, IV. Gastrointestinal absorption of iron. *Blood*, v. 19, [s.n.], p.359-378, 1962.

EVANS, E. H.; GIGLIO, J. J. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry: a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, v. 8, n. 1, p. 1-8, 1993.

FAIRWEATHER-TAIT, S.; HURRELL, R. F. Bioavailability of mineral and trace elements. *Nutrition Research Reviews*, v. 9, n. 1, p. 295-324, 1996.

FERNANDEZ-BOYANAPALLI, R. F. et al. Impaired apoptotic cell clearance in CGD due to altered macrophage programming is reversed by phosphatidylserine-dependent production of IL-4. *Blood*, v. 113, n. 9, p. 2047-2055, 2009.

FERNÁNDEZ-MENÉNDEZ, S. et al. Searching of enhanced iron fortification of formula milk via nanoparticles and isotope pattern deconvolution. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, v. 148, p. 165-171, 2018.

FERRIS, C. D. et al. Haem oxygenase-1 prevents cell death by regulating cell iron. *Nature Cell Biology*, v. 1, n. 13, p. 152-157, 1999.

FERTRIN, K. Y. et al. Erythropoiesis-driven regulation of hepcidin in human red cell disorders is better reflected through concentrations of soluble transferrin receptor rather than

- growth differentiation factor 15. *American Journal of Hematology*, v. 89, n. 4, p. 385-390, 2014.
- FEUCHTBAUM, L. et al. Birth prevalence of disorders detectable through newborn screening by race/ethnicity. *Genetics in Medicine*, v. 14, n. 11, p. 937-945, 2012.
- FIDLER, M. C. et al. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na₂EDTA. *British Journal of Nutrition*, v. 90, n. 6, p. 1081-1085, 2003.
- FOMON, S. J.; ZIEGLER, E. E.; NELSON, S. E. Erythrocyte incorporation of ingested ⁵⁸Fe by 56-day-old breast-fed and formula-fed infants. *Pediatric Research*, v. 33, n. 6, p. 573-576, 1993.
- GANZ, T. Molecular Control of Iron Transport. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 18, n. 2, p. 394-400, 2007.
- GANZ, T. Systemic Iron Homeostasis. *Physiological Reviews*, v:93, p. 1721-1741.
- GANZ, T.; NEMETH, E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *American Journal of Physiology: Gastroenterology and Liver Physiology*, Bethesda, v. 290, n. 2, p. G199-203, 2006.
- GANZ, T.; NEMETH, E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 1823, n. 9, p. 1434-1443, 2012.
- GERVASIO, A. P. G. et al. Eletroforese capilar acoplada à espectrometria com plasma: uma ferramenta eficiente para a especiação. *Química Nova*, v. 26, n. 1, p. 65-74, 2003.
- GINÉ-ROSIAS, M. F. *Espectrometria de massa com fonte de plasma*. 1 ed. Piracicaba: CPG/CENA/USP, 1999.
- GREEN, R. A. et al. Body iron excretion in man: A collaborative study. *The American Journal of Medicine*, v. 45, n. 3, p. 336- 353, 1968.
- HAN, W.; YU, K. N. Ionizing radiation, DNA double strand break and mutation. In: URBANO, K. V. *Advances in Genetics Research*. Estados Unidos da América: Nova Science Pub, 2011. v. 4.
- HENTZE, M. W.; MUCKENTHALER, M. U.; ANDREWS, N. C. Balancing acts: Molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, v. 117, n. 3, p. 285-297, 2004.
- HENTZE, M. T. et al. Two to tango: Regulation of mammalian iron metabolism. *Cell*, v. 142, n. 1, p. 24-38, 2010.
- HOFFBRAND, A. V.; TAHER, A.; CAPPELLINI, M. D. How I treat transfusional iron overload? *Blood*, v. 120, n. 18, p. 3657-3669, 2012.
- HURRELL, R. F. Bioavailability: a time for reflection. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, v. 72, n. 1, p. 5-6, 2002.

IANNOU, G. N. et al. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology*, v. 126, n. 5, p. 1293-1301, 2004.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Taxa de Mortalidade Infantil por mil nascidos vivos*. 2018

INATI, A. Recent advances in improving the management of sickle cell disease. *Blood Reviews*, v.3, n.1, p. 9-13, 2009.

INATI, A. et al. Iron overload indices rise linearly with transfusion rate in patients with sickle cell disease. *Blood*, v. 115, n. 14, p. 2980-2981, 2010.

INATI, A.; KHORIATY, E.; MUSALLAM, K. M. Iron in sickle-cell disease: What have we learned over the years? *Pediatric Blood Cancer*, v.56, n.2, p. 182-190, 2011.

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). *Dietary Reference Intakes (DRI) for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington DC: National Academy Press; 2001.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY (IAEA). *Assessment of iron bioavailability in humans using stable iron isotope techniques*. Editora: International Atomic Energy Agency. Viena, 2012. (IAEA Human Health Series; n. 21)

INSTITUTE OF MEDICINE (IOM). *Dietary Reference Intakes (DRI) for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington DC: National Academy Press; 2001.

JENSEN, N. M. et al. Low-dose oral iron absorption test: establishment of a reference interval. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, v. 58, n. 6, p. 511-519, 1998.

JENSEN, S. K. G.; BERENS, A. E.; NELSON, C. A. Effects of poverty on interacting biological systems underlying child development. *The Lancet Child and Adolescent Health*, 2017.

JESUS, J. A. Doença Falciforme no Brasil. *Gazeta Médica da Bahia*, v. 80, n. 3, p. 8-9, 2010.

JOOSTEN, E; VANDER ELST, B.; BILLEN, J. Small-dose oral iron absorption test in anaemic and non-anaemic elderly hospitalized patients. *European Journal of Haematology*, v. 58, n. 2, p. 99-103, 1997.

JOSEPHSON, C. D. et al. Transfusion in the patient with sickle cell disease: A critical review of the literature and transfusion guidelines. *Transfusion Medicine Reviews*, v. 21, n. 2, p. 118-133, 2007.

JUNQUEIRA-FRANCO, M. V. M. et al. Iron absorption from beans with different contents of iron, evaluated by stable isotopes. *Clinical Nutrition ESPEN*, v. 25, p. 121-125, 2018.

KARAFIN, M. S. et al. Erythropoietic drive is the strongest predictor of hepcidin level in adults with sickle cell disease. *Blood Cells, Molecules and Diseases*, v, 55, n. 4, p. 304-307, 2015.

KASTENMAYER, P. et al. A double stable isotope technique for measuring iron absorption in infants. *The British Journal of Nutrition*, v. 71, n. 3, p. 411-424, 1994.

KATO, G. et al. Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. *Blood*, v. 107, n. 6, p. 2279-2285, 2006.

KOBUNE, M. et al. Establishment of a simple test for iron absorption from the gastrointestinal tract. *International Journal of Hematology*, v. 93, n. 6, p. 715-719, 2011.

KOHGO, Y. et al. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *International Journal of Hematology*, v. 88, n. 1, p. 7-15, 2008.

KING, L.; REID, M.; FORRESTER, T. E. Iron Deficiency Anaemia in Jamaican Children, Aged 1–5 Years, with Sickle Cell Disease. *West Indian Medical Journal*, v.54, n.5, p.292-296, 2005.

KNUTSON, M.; WESSLING-RESNICK, M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, v. 38, n. 1, p. 61-88, 2003.

KROOT, J. J. et al. Regulation of serum hepcidin levels in sickle cell disease. *Haematologica*, v. 94, n. 6, p. 885-887, 2009.

KRUG, F. J. et al. Guia prático de perguntas e respostas sobre ICP-OES, ICP-MS e preparo de amostras. São Paulo: Embrapa Pecuária Sudeste, 2001.

LABRANCHE, M. D. et al. Liver Iron: Quantification with MR Imaging: A Primer for Radiologists. *Radio Graphics*, v. 38, n. 2, p. 392-412, 2018.

LONNERDAL, B. Excess iron intake as a factor in growth, infections, and development of infants and young children. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 106, p. 1681 – 1687, 2017.

LOZOFF, B. Iron deficiency and child development. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 28, n. 5, p. 60–71, 2007.

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

MAZUMDAR, M. et al. Preventing Stroke Among Children With Sickle Cell Anemia: An Analysis of Strategies That Involve Transcranial Doppler Testing and Chronic Transfusion. *Pediatrics*, v. 120, n. 4, p. 1107-1116, 2007.

MCDERMID, J. M.; LONNERDAL, B. Nutrition Information – Iron. *American Society for Nutrition*, v. 3, p. 532 – 533, 2012.

MCKIE, A. T. The role of Dcytb in iron metabolism: an update. *Biochemical Society Transactions*, v. 36, pt. 6, p. 1239-1241, 2008.

- MELONI, A. et al. Cardiac iron overload in sickle-cell disease. *American Journal of Hematology*, v. 89, n. 7, p. 678-683, 2014.
- MENA, N. P. et al. Heparin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. *American Journal of Physiology - Gastroenterology and Liver Physiology*, v. 294, n. 1, p. G192-198, 2008.
- MERLE, U. et al. The Iron Regulatory Peptide Heparin is Expressed in the Heart and Regulated by Hypoxia and Inflammation. *Endocrinology*, v. 148, n. 6, p. 2663-2668, 2007.
- MODELL, B.; DARLISON, M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bulletin of the World Health Organization*, [Genebra], v. 86, n. 6, p. 480-487, 2008.
- MUCKENTHALER, M. U. et al. A red carpet for iron metabolism. *Cell*, v. 168, n. 3, p. 344-361, 2017.
- NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. National Heart, Lung, And Blood Institute. Division of Blood Diseases and Resources. *The Management of Sickle Cell Disease*. 4. ed. Bethesda, MD: NIH Publication n. 02-2117, 2002.
- NDEFO, U. A. et al. Pharmacological management of sickle cell disease. *Pharmacy & Therapeutics*, v. 33, n. 4, p. 238 – 243, 2008.
- NEMETH, E. et al. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, v.101, n.7, p.2461-2463, 2003.
- NEMETH, E. et al. Heparin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science*, v.306, n.5704, p.2090-2093, 2004.
- NICOLAS, G. et al. The gene encoding the iron regulatory peptide heparin is regulated by anemia, hypoxia and inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 110, n. 7, p. 1037-1044, 2002.
- O'BRIEN, K. O. et al. Prenatal iron supplements impair zinc absorption in pregnant Peruvian women. *The Journal of Nutrition*, v. 130, n. 9, p. 2251-2255, 2000.
- OHMENG, A.; BOADU, I. The role of nutrition in the pathophysiology and management of sickle cell disease among Children: A Review of literature. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017.
- OLIVEIRA, B. L. C. A.; LUIZ, R. R. Densidade racial e a situação socioeconômica, demográfica e de saúde nas cidades brasileiras em 2000 e 2010. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, n. 22, 2019.
- OLIVIERI, N. F. Progression of Iron Overload in Sickle Cell Disease. *Seminars in Hematology*, v. 31, n. 1, Supl. 1, p.57-62, 2001.
- OMENA et al. Serum heparin concentration in individuals with sickle cell anemia: basis for the dietary recommendation of iron. *Nutrients*, v. 10, n. 4, p. 1-9, 2018.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *Definition of key terms*. Genebra: [s.n.], 2013. Disponível em: <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/intro/keyterms/en/>

PEGELOW, C. H. et al. Risk of recurrent stroke in patients with sickle cell disease treated with erythrocyte transfusions. *The Journal of Pediatrics*, v. 126, n. 6, p. 896-899, 1995.

PETRY, N. et al. Stable iron isotope studies in Rwandese women indicate that the common bean has limited potential as a vehicle for iron biofortification. *The Journal of Nutrition*, v. 142, n. 3, p. 492-497, 2012.

PIGEON, C. et al. A New Mouse Liver-specific Gene, Encoding a Protein Homologous to Human Antimicrobial Peptide Hepcidin, Is Overexpressed during Iron Overload. *Journal of Biological Chemistry*, v. 276, n. 11, p. 7811-7819, 2001.

PLATT, O. S. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *The New England Journal of Medicine*, v. 358, n. 13, p. 1362-1369, 2008.

PORTER, J. B.; GARBOWSKI, M. Consequences and Management of Iron Overload in Sickle Cell Disease. *American Society of Hematology*, p. 447-456, 2013.

PORTER, J. B.; GARBOWSKI, M. The Pathophysiology of Transfusional Iron Overload. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, v. 28, n. 4, p. 683-701, 2014.

RAJAGOPAL, A. et al. Haem homeostasis is regulated by the conserved and concerted functions of HRG-1 proteins. *Nature*, v. 453, n. 7198, p. 1127-1131, 2008.

REMACHA, A. et al. Guidelines on haemovigilance of post-transfusional iron overload. *Blood Transfusion*, v. 11, n. 1, p. 128-139, 2013.

RHEA, J. M.; MOLINARO, R. Pathology consultation on HbA1c methods and inferences. *American Journal of Clinical Pathology*, v. 141, n. 1, p. 5-16, 2014.

RODRIGUES, P. C. et al. Iron deficiency in Brazilian infants with sickle cell disease. *Jornal de Pediatria*, v.87, n.5, p.405-411, 2011.

RODRÍGUEZ-CASTRILLÓN, J. A. et al. Isotope pattern deconvolution as a tool to study iron metabolism in plants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 390, n. 2, p. 579-590, 2008.

RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ, P. et al. Isotope dilution analysis for elemental speciation: A tutorial review. *Spectrochimica Acta Part B*, v. 60, n. 2, p. 151-207, 2005.

ROE, M. A. et al. Plasma hepcidin concentrations significantly predict interindividual variation in iron absorption in healthy men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v.89, p. 1088-1091, 2009.

SANZ-MEDEL, A. et al. Speciation and isotope pattern deconvolution for inductively coupled plasma-mass spectrometry quantitative studies of mineral metabolism and supplementation. *Pure and Applied Chemistry*, v. 82, n. 2, p. 447-460, 2010.

SHARP, P.; SRAI, S. K. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World Journal of Gastroenterology*, v. 13, n. 35, p. 4716-4724, 2007.

SILVA, E. S. A.; PAES, N. A. Programa Bolsa Família e a redução da mortalidade infantil nos municípios do Semiárido brasileiro. *Ciência e Saúde Coletiva*. v. 24, n. 2, p.623-630, 2019.

SKIKNE, B. S. Serum transferrin receptor. *American Journal of Hematology*, v. 83, n. 11, p. 872-875, 2008.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. *Princípios de análise instrumental*. 5. ed. Bookman: Porto Alegre, 2002.

SMILEY, D.; DAGOGO-JACK, S.; UMPIERREZ, G. Therapy insight: metabolic and endocrine disorders in sickle cell disease. *Nature Clinical Practice: Endocrinology & Metabolism*, v. 4, n. 2, p. 102-109, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA. *Avaliação nutricional da criança e do adolescente: Manual de Orientação*. São Paulo: Departamento de Nutrologia, 2009.

STEINBICKER, A. U.; MUCKENTHALER, M. U. Out of Balance: Systemic Iron Homeostasis in Iron-Related Disorders. *Nutrients*, v. 5, n. 8, p. 3034-3061, 2013.

STEINHAUSER, S. et al. Complex formation of ICL670 and related ligands with FeIII e FeII. *European Journal of Inorganic Chemistry*, v. 2004, n. 21, p. 4177-4192, 2004.

STETTLER, N. et al. Iron Status of Children with Sickle Cell Disease. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, v. 25, n. 1, 2001.

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

TAKAMI, T.; SAKAIDA, I. Iron regulation by hepatocytes and free radicals. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, v. 48, n. 2, p. 103-106, 2011.

TANCABELIC, J. et al. Serum transferrin receptor as a marker of erythropoiesis suppression in patients on chronic transfusion. *American Journal of Hematology*, v. 60, n. 2, p. 121-125, 1999.

TEIXEIRA, T. V. *Avaliação da ingestão de ferro em adultos com anemia falciforme*. Dissertação (Mestrado) em Alimentação, Nutrição e Saúde – Instituto de Nutrição, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020, 72 p.

TELEN, M. J. Beyond hydroxyurea: new and old drugs in the pipeline for sickle cell disease. *Blood*, v. 127, n. 7, p. 810-819, 2016.

TEWARI, S. et al. Environmental determinants of severity in sickle cell disease. *Haematologica*, v. 100, n. 9, p. 1108-1116, 2015.

THEURL, I. et al. Autocrine formation of hepcidina induces iron retention in human monocytes. *Blood*, v. 111, n. 4, p. 2392-2399, 2008.

THURET, I. Post-transfusional iron overload in the haemoblonipathies. *Comptes Rendus Biologies*, v. 336, n. 3, p. 164-172, 2013.

UNICEF. [Site da instituição]. 2018. Disponível em> <https://data.unicef.org/resources/levels-and-trends-in-child-mortality/>

VAN DEN HEUVEL, E. G. H. M. et al. A new method to measure iron absorption from the enrichment of ⁵⁷Fe and ⁵⁸Fe in Young erythroid cells. *Clinical Chemistry*, v. 44, n. 3, p. 649-654, 1998.

VICHINSKY, E. et al. The Diagnosis of Iron Deficiency Anemia in Sickle Cell Disease. *Blood*, v.58, n.5, p.963-968, 1981.

VILLELA, N. B.; ROCHA, R. *Manual básico para atendimento ambulatorial em nutrição*. 2. ed. revisada. Salvador: EDUFBA, 2008, 120 p.

WALCZYK, T.; BLANCKENBURG, F.V. Deciphering the iron isotope message of the human body. *International Journal of Mass Spectrometry*, v. 242, n. 2-3, p. 117-134, 2005.

WANG, C. J. et al. Quality-of-Care Indicators for Children with Sickle Cell Disease. *Pediatrics*, v. 128, n. 3, p. 484-493, 2011.

WARD, R. An update on disordered iron metabolism and iron overload. *Hematology*, v. 15, n. 5, p. 311-317, 2010.

WORWOOD, M. Serum transferrin receptor assays and their application. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 39, Pt. 3, p. 221-230, 2002.

ZENNADI, R. et al. Sickle red cells induce adhesion of lymphocytes and monocytes to endothelium. *Blood*, v. 112, n. 8, p. 3474-3483, 2008.

ZAGO, M. A; PINTO, A. C. S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p.207-214, 2007.

ZEMEL, B. S. et al. Effect of zinc supplementation on growth and body composition in children with sickle cell disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 75, n. 2, p. 300-307, 2002.

ZHANG, A. S.; ENNS, C. A. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematology/ American Society of Hematology Education Program*, p. 207-214, 2009.

ZIMMERMANN, M. B. et al. Plasma hepcidin is a modest predictor of dietary iron bioavailability in humans, whereas oral iron loading, measured by stable-isotope appearance curves, increases plasma hepcidin. *The American Journal of Clinical Nutrition*, v. 90, p. 1280-1287, 2009.

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Hospital Universitário Pedro Ernesto

Termo de Assentimento e Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa **“Sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme: Avaliação da absorção intestinal de ferro”**. O objetivo deste estudo é avaliar a absorção de ferro ingerido por via oral em pacientes com doença falciforme.

Neste procedimento, será solicitado que você permaneça em jejum por 12 horas e que possa comparecer ao Ambulatório de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), no dia e horário previamente agendados e dentro de sua disponibilidade.

Primeiramente, seu sangue será coletado em jejum, e, após este processo, você deverá receber um copo de suco de laranja com adição de um tipo de ferro que já é naturalmente presente em alimentos em quantidades muito pequenas, e, portanto, não oferece risco à sua saúde. O uso deste tipo de ferro ajudará a saber o quanto de ferro foi absorvido pelo seu organismo. Após 15 dias, solicitaremos que você retorne para uma nova coleta de sangue, desta vez no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação do Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

A coleta de sangue será realizada por um profissional de saúde habilitado a empregar os procedimentos adequados para não haver riscos. Entretanto, observamos que há a possibilidade de ocorrer riscos e desconfortos relacionados à coleta venosa, ainda que raros e passageiros, como dor localizada, hematomas, desmaio e infecção no local da punção.

Dispomos de uma ajuda de custo para deslocamento de R\$ 30, entregue na segunda coleta de sangue desta pesquisa.

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/Nutricionista Vanessa Voll (cel: 99789-4844)/ Nutricionista Juliana Omena (cel:99614-7577)/CEP HUPE (<tel:2868-8253>)

Nome do Participante

Assinatura do Participante

Data ____/____/____.

Você receberá uma cópia deste termo onde constam os telefones da pesquisadora principal e do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação agora ou a qualquer momento. É importante que você tenha conhecimento de que sua participação na pesquisa é voluntária e de que você pode recusar-se a participar ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem penalidades e/ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Em caso de interrupção na participação do estudo, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de amostras para os exames relativos ao estudo será imediatamente interrompida.

Esperamos que os resultados encontrados nesta pesquisa possam nos ajudar a entender melhor como é controlada a absorção de ferro no intestino de pessoas com a doença falciforme e que, desta forma, auxiliem na elaboração de orientações nutricionais voltadas para este público.

Quando os resultados estiverem prontos, agendaremos uma consulta onde você receberá cópia de todos os seus resultados e os encaminharemos para os especialistas, se houver necessidade. As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados serão divulgados de forma a impossibilitar sua identificação.

Declaro que eu pude questionar sobre todos os aspectos do estudo e que o (a) investigador (a) me entregou uma cópia da folha de informações para os participantes, a qual li e compreendi, e me deu plena liberdade para decidir a respeito da minha participação nesta pesquisa.

Depois de tal consideração, concordo em participar deste estudo e informar a equipe de pesquisa responsável por mim sobre qualquer anormalidade observada. Estou ciente de que sou livre para sair do estudo a qualquer momento, se assim desejar, e de que a minha identidade jamais será publicada. Os dados coletados poderão ser examinados por pessoas envolvidas no estudo com autorização delegada do investigador. Atesto que estou recebendo uma cópia assinada deste Termo.

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/Nutricionista Vanessa Voll (cel: 99789-4844)/ Nutricionista Juliana Omena (cel:99614-7577)/ CEP HUPE (<tel:2868-8253>)

Assinatura do Paciente

Data ____/____/____.

APÊNDICE B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (IEHE)

Termo de Assentimento e Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme: Avaliação da absorção intestinal deste nutriente**”. O objetivo deste estudo é avaliar a absorção de ferro ingerido por via oral em pacientes com doença falciforme.

Neste procedimento, será solicitado que você permaneça em jejum por 12 horas e que possa comparecer ao Ambulatório de Nutrição do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), no dia e horário previamente agendados e dentro de sua disponibilidade.

Primeiramente, seu sangue será coletado em jejum, e, após este processo, você deverá receber um copo de suco de laranja com adição de um tipo de ferro que já é naturalmente presente em alimentos em quantidades muito pequenas, e, portanto, não oferece risco à sua saúde. O uso deste tipo de ferro ajudará a saber o quanto de ferro foi absorvido pelo seu organismo. Após 14 dias, solicitaremos que você retorne para uma nova coleta de sangue, desta vez no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação do Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

A coleta de sangue será realizada por um profissional de saúde habilitado a empregar os procedimentos adequados para não haver riscos. Entretanto, observamos que há a possibilidade de ocorrer riscos e desconfortos relacionados à coleta venosa, ainda que raros e passageiros, como dor localizada, hematomas, desmaio e infecção no local da punção.

Dispomos de uma ajuda de custo para deslocamento de R\$ 30, entregue na segunda coleta de sangue desta pesquisa.

É importante que você tenha conhecimento de que sua participação na pesquisa é voluntária e de que você pode recusar-se a participar ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem penalidades e/ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Em caso de interrupção na participação do estudo, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de amostras para os exames relativos ao estudo será imediatamente interrompida.

Esperamos que os resultados encontrados nesta pesquisa possam nos ajudar a entender melhor como é controlada a absorção de ferro no intestino de pessoas com a doença falciforme e que, desta forma, auxiliem na elaboração de orientações nutricionais voltadas para este público.

Quando os resultados estiverem prontos, agendaremos uma consulta onde você receberá cópia de todos os seus resultados e os encaminharemos para os especialistas, se houver necessidade.

As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados serão divulgados de forma a impossibilitar sua identificação.

Você ou seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Para isto, você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone das pesquisadoras principais: Vanessa Monteiro Voll [(21) 99789-4844]. Juliana Omena Braga de Mendonça [(21) 99614-7577] e Cláudia Cople [(21) 98854-9021]. Se você tiver perguntas com relação aos seus direitos como participante do estudo, também pode contar com um contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti – CEP HEMORIO, situado à Rua Frei Caneca, n.8, sala 324 – Centro – Rio de Janeiro, CEP 20211-030, telefone (21) 2299-9442, Ramal 2215 ou também pelo email cep@hemorio.rj.gov.br.

Declaro que eu pude questionar sobre todos os aspectos do estudo e que o (a) investigador (a) me entregou uma cópia da folha de informações para os participantes, a qual li e compreendi, e me deu plena liberdade para decidir a respeito da minha participação nesta pesquisa.

Depois de tal consideração, concordo em participar deste estudo e informar a equipe de pesquisa responsável por mim sobre qualquer anormalidade observada. Estou ciente de que sou livre para sair do estudo a qualquer momento, se assim desejar, e de que a minha identidade jamais será publicada. Os dados coletados poderão ser examinados por pessoas envolvidas no estudo com autorização delegada do investigador. Atesto que estou recebendo uma cópia assinada deste Termo.

_____ Data: ____/____/____
(Assinatura do Paciente ou Pessoa autorizada a consentir pelo paciente)

(Nome do Paciente – letra de forma)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

_____ Data: ____/____/____
(Assinatura de Vanessa Monteiro Voll ou Juliana Omena)

APÊNDICE C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes sem a Doença Falciforme

Termo de Assentimento e Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme: Avaliação da absorção intestinal deste nutriente**”. O objetivo deste estudo é avaliar a absorção de ferro ingerido por via oral em pacientes com doença falciforme.

Neste procedimento, será solicitado que você permaneça em jejum por 12 horas e que possa comparecer ao Laboratório Interdisciplinar de Avaliação do Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), nos dias e horários previamente agendados e dentro de sua disponibilidade.

Primeiramente, seu sangue será coletado em jejum, e, após este processo, você deverá receber um copo de suco de laranja com adição de um tipo de ferro que já é naturalmente presente em alimentos em quantidades muito pequenas, e, portanto, não oferece risco à sua saúde. O uso deste tipo de ferro ajudará a saber o quanto de ferro foi absorvido pelo seu organismo. Após 14 dias, solicitaremos que você retorne para uma nova coleta de sangue, desta vez no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação do Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ).

A coleta de sangue será realizada por um profissional de saúde habilitado a empregar os procedimentos adequados para não haver riscos. Entretanto, observamos que há a possibilidade de ocorrer riscos e desconfortos relacionados à coleta venosa, ainda que raros e passageiros, como dor localizada, hematomas, desmaio e infecção no local da punção. Após os procedimentos de coleta de sangue, serão oferecidos a você lanches.

Dispomos de uma ajuda de custo para deslocamento de R\$ 30, entregue na segunda coleta de sangue desta pesquisa.

É importante que você tenha conhecimento de que sua participação na pesquisa é voluntária e de que você pode recusar-se a participar ou interromper a sua participação a qualquer momento, sem penalidades e/ou perda de benefícios aos quais você tem direito. Em caso de interrupção na participação do estudo, a equipe assistente deve ser comunicada e a coleta de amostras para os exames relativos ao estudo será imediatamente interrompida.

Esperamos que os resultados encontrados nesta pesquisa possam nos ajudar a entender melhor como é controlada a absorção de ferro no intestino de pessoas com a doença

falciforme e que, desta forma, auxiliem na elaboração de orientações nutricionais voltadas para este público.

Quando os resultados estiverem prontos, agendaremos uma consulta onde você receberá cópia de todos os seus resultados e os encaminharemos para os especialistas, se houver necessidade.

As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados serão divulgados de forma a impossibilitar sua identificação.

Você ou seus familiares podem fazer perguntas a qualquer momento do estudo. Para isto, você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone das pesquisadoras principais: Vanessa Monteiro Voll [(21) 99789-4844]. Juliana Omena Braga de Mendonça [(21) 99614-7577] e Cláudia Cople [(21) 98854-9021]. Se você tiver perguntas com relação aos seus direitos como participante do estudo, também pode contar com um contato imparcial, o Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti – CEP HEMORIO, situado à Rua Frei Caneca, n.8, sala 324 – Centro – Rio de Janeiro, CEP 20211-030, telefone (21) 2299-9442, Ramal 2215 ou também pelo email cep@hemorio.rj.gov.br.

Declaro que eu pude questionar sobre todos os aspectos do estudo e que o (a) investigador (a) me entregou uma cópia da folha de informações para os participantes, a qual li e compreendi, e me deu plena liberdade para decidir a respeito da minha participação nesta pesquisa.

Depois de tal consideração, concordo em participar deste estudo e informar a equipe de pesquisa responsável por mim sobre qualquer anormalidade observada. Estou ciente de que sou livre para sair do estudo a qualquer momento, se assim desejar, e de que a minha identidade jamais será publicada. Os dados coletados poderão ser examinados por pessoas envolvidas no estudo com autorização delegada do investigador. Atesto que estou recebendo uma cópia assinada deste Termo.

Data: ____ / ____ / ____
(Assinatura do Paciente ou Pessoa autorizada a consentir pelo paciente)

(Nome do Paciente – letra de forma)

Eu, abaixo assinado, expliquei completamente os detalhes relevantes deste estudo ao paciente indicado acima e/ou pessoa autorizada para consentir pelo paciente.

Data: ____ / ____ / ____
(Assinatura de Vanessa Monteiro Voll ou Juliana Omena)

APÊNDICE D – Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes com a Doença Falciforme

I. Identificação do questionário

Nome Completo da Criança:	
Nome Completo do Entrevistado:	
Grau de Parentesco do Entrevistado: 1.Mãe 2.Pai 3.Avô/Avó 4.Tia/Tio 5.Outro_____ ☐	
Endereço:	
Telefones para contato:	
E-mail:	
Data de Nascimento da Criança	____/____/____
Data da Entrada na Pesquisa	____/____/____
Idade da Criança	____ e _____ meses
Sexo da Criança	1. Masc 2. Fem ☐
Qual é a cor/etnia da criança	1. Branca 2. Preta 3. Parda 4. Amarela 5. Indígena ☐
Horário de Início da entrevista	____h____min

II. Entrevista

1. Qual foi o tipo de parto?	1.Normal 2. Cesárea	☐
2. Qual a idade gestacional no momento do parto? _____ Maturidade: 1.Pré-termo (antes de 37s) 2.A termo (37s a 42s) 3.Pós-termo (após 42s)		☐
3. Você teve anemia por falta de ferro durante a gestação?	1. Sim 2. Não	☐
4. Você teve alguma complicação durante a gestação (além da anemia, caso tenha tido)? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		☐
5. Você teve alguma complicação no momento do parto? Se Sim , qual? _____		
6. Peso ao nascer:_____		
7. Comprimento ao nascer:_____		
8. A criança foi amamentada? _____ Se Sim , até que idade? _____ Se Sim , até que idade foi feita a amamentação exclusiva? _____	1. Sim 2. Não	☐
9. Qual o genótipo da doença falciforme? 1.SS 2.SC 3.SD 4.SA 5.Outro_____ 6.Não sabe		
10. A criança possui alguma outra doença, além da doença falciforme? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		☐
11. A criança já fez alguma cirurgia? _____ Se Sim , qual? _____	1. Sim 2. Não	☐
12. A criança teve algum problema de saúde nas últimas 3 semanas? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		☐
13. A criança esteve internada a menos de 2 semanas? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual foi o motivo? _____		☐
14. A criança teve algum tipo de infecção nos últimos 2 meses? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		☐
15. A criança fez/faz uso de algum tipo de suplementação de ferro? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual a dosagem? _____ Há quanto tempo faz? _____ Se já fez e não faz mais , até que idade usou? _____ Se já fez e não faz mais , por quanto tempo usou? _____		☐

16. A criança fez algum tipo de suplementação vitaminas ou minerais a menos de 2 meses? 1. Sim 2. Não _ _ Se Sim , qual(is)? _____ Há quanto tempo? _____			
17. A criança já teve alguma orientação para restringir algum tipo de alimento? 1. Sim 2. Não _ _ Se Sim , qual(is)? _____ Quem orientou? _____			
18. Nos últimos 6 meses, a criança teve vontade de comer algo que não fosse um alimento? 1. Sim 2. Não _ _ Se Sim , o que? _____			
19. A criança já realizou alguma transfusão sanguínea?		1. Sim 2. Não	 _ _
20. A criança já realizou troca sanguínea?		1. Sim 2. Não	 _ _
Qual a frequência da transfusão? _____ Qual a frequência da troca sanguínea? _____ Quando foi a 1ª vez que realizou uma transfusão sanguínea? _____ Quando foi a 1ª vez que realizou uma troca sanguínea? _____ Ao longo da vida, quantas transfusões ela já realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () > 15 Ao longo da vida, quantas trocas ela já realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () > 15 Nos últimos 12 meses, quantas transfusões você realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () > 15 Nos últimos 12 meses, quantas trocas você realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () > 15 Qual foi a última vez que fez transfusão? _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ - _____ Qual a última vez que fez troca sanguínea? _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ - _____			
21. A criança faz uso de hidroxíureia (HU)?		1. Sim 2. Não	 _ _
Se Sim , há quanto tempo? _____			
22. A criança fez/ faz o uso de algum quelante de ferro?		1. Sim 2. Não	 _ _
Se Sim , qual? _____ Há quanto tempo? _____ Se não faz mais o uso, há quanto tempo parou? _____			
23. A que horas que a criança comeu pela última vez?		_ _ _ h _ _ _ min	
23. A criança teve febre ontem?		1. Sim 2. Não	 _ _
Se Sim , Quantos graus? _____			
Durante os últimos 12 meses:			
24.. A criança já apresentou 3 ou mais crises álgicas?		1. Sim 2. Não	 _ _
25. Realizou 6 ou mais transfusões?		1. Sim 2. Não	 _ _
26. Apresentou 1 ou mais úlceras?		1. Sim 2. Não	 _ _
27. Apresentou 1 ou mais síndrome torácica aguda?		1. Sim 2. Não	 _ _
28. Sofreu 1 ou mais internações por pneumonia?		1. Sim 2. Não	 _ _
29. Quais as medicações que está utilizando nessa semana?			
1. _____ Para que? _____ Dosagem _____ Horário: _____ 2. _____ Para que? _____ Dosagem _____ Horário: _____ 3. _____ Para que? _____ Dosagem _____ Horário: _____ 4. _____ Para que? _____ Dosagem _____ Horário: _____ 5. _____ Para que? _____ Dosagem _____ Horário: _____			

Parâmetros Antropométricos	____/____/____
1. Peso (Kg)	
2. Estatura (cm)	
3. IMC (Kg/m²)	
1. IMC/Idade	
2. Estatura/ Idade	
3. Peso/ Idade	

III. Antropometria

APÊNDICE E – Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes sem a Doença Falciforme

I. Identificação do questionário

Nome Completo da Criança:	
Nome Completo do Entrevistado:	
Grau de Parentesco do Entrevistado: 1.Mãe 2.Pai 3.Avô/Avó 4.Tia/Tio 5.Outro _____	
Endereço:	
Telefones para contato:	
E-mail:	
Data de Nascimento da Criança	____/____/____
Data da Entrada na Pesquisa	____/____/____
Idade da Criança	____ e _____ meses
Sexo da Criança	1. Masc 2. Fem _____
Qual é a cor/etnia da criança	1. Branca 2. Preta 3. Parda 4. Amarela 5. Indígena _____
Horário de Início da entrevista ____h____min	

II. Entrevista

24. Qual foi o tipo de parto?	1.Normal 2. Cesárea	____
25. Qual a idade gestacional no momento do parto? _____ Maturidade: 1.Pré-termo (antes de 37s) 2.A termo (37s a 42s) 3.Pós-termo (após 42s)		____
26. Você teve anemia por falta de ferro durante a gestação?	1. Sim 2. Não	____
27. Você teve alguma complicação durante a gestação (além da anemia, caso tenha tido)? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		____
28. Você teve alguma complicação no momento do parto? Se Sim , qual? _____		
29. Peso ao nascer: _____		
30. Comprimento ao nascer: _____		
31. A criança foi amamentada? 1. Sim 2. Não Se Sim , até que idade? _____ Se Sim , até que idade foi feita a amamentação exclusiva? _____		____
32. A criança possui alguma doença? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		____
33. A criança já fez alguma cirurgia? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		____
34. A criança teve algum problema de saúde nas últimas 3 semanas? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		____
35. A criança esteve internada a menos de 2 semanas? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual foi o motivo? _____		____
36. A criança teve algum tipo de infecção nos últimos 2 meses? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual? _____		____
37. A criança fez/faz uso de algum tipo de suplementação de ferro? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual a dosagem? _____ Há quanto tempo faz? _____ Se já fez e não faz mais , até que idade usou? _____ Se já fez e não faz mais , por quanto tempo usou? _____		____
38. A criança fez algum tipo de suplementação vitaminas ou minerais a menos de 2 meses? 1. Sim 2. Não Se Sim , qual(is)? _____		____

Há quanto tempo? _____			
39. A criança já teve alguma orientação para restringir algum tipo de alimento? 1. Sim 2. Não _ 			
Se Sim , qual(is)? _____			
Quem orientou? _____			
40. Nos últimos 6 meses, a criança teve vontade de comer algo que não fosse um alimento? 1. Sim 2. Não _ 			
Se Sim , o que? _____			
41. A criança já realizou alguma transfusão sanguínea?		1. Sim 2. Não	 _
42. A criança já realizou troca sanguínea?		1. Sim 2. Não	 _
Quando foi a 1ª vez que realizou uma transfusão sanguínea? _____			
Quando foi a 1ª vez que realizou uma troca sanguínea? _____			
Ao longo da vida, quantas transfusões ela já realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () Mais de 15			
Ao longo da vida, quantas trocas ela já realizou? () De 1 a 4 () De 5 a 9 () De 10 a 15 () Mais de 15			
Qual foi a última vez que fez transfusão?		_ _ _ / _ _ _ / _ _ _	- _____
Qual a última vez que fez troca sanguínea?		_ _ _ / _ _ _ / _ _ _	- _____
43. A criança fez/ faz o uso de algum quelante de ferro?		1. Sim 2. Não	 _
Se Sim , qual? _____			
Há quanto tempo? _____			
Se não faz mais o uso, há quanto tempo parou? _____			
44. A que horas que a criança comeu pela última vez?		_ _ _ h _ _ _ min	
15. A criança teve febre ontem?		1. Sim 2. Não	 _
Se Sim , Quantos graus? _____			
21. Quais as medicações que está utilizando nessa semana?			
1. _____	Para que? _____	Dosagem _____	Horário: _____
2. _____	Para que? _____	Dosagem _____	Horário: _____
3. _____	Para que? _____	Dosagem _____	Horário: _____
4. _____	Para que? _____	Dosagem _____	Horário: _____
5. _____	Para que? _____	Dosagem _____	Horário: _____

Parâmetros	____/____/____
1. Peso (Kg)	
2. Estatura (cm)	
3. IMC (Kg/m²)	
4. IMC/Idade	
5. Estatura/ Idade	
6. Peso/ Idade	

III. Antropometria

ANEXO A– Ofício de Coordenação Geral de Sangue e Hemoderivados do Ministério da Saúde do Brasil manifestando interesse na realização da pesquisa



**MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA E TEMÁTICA
COORDENAÇÃO-GERAL DE SANGUE E HEMODERIVADOS**

Ofício nº 345/2016/CGSH/DAET/SAS/MS

Brasília, 11 de maio de 2016.

Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto
Boulevard 28 de setembro, 77 - Vila Isabel
Cep 20.551-030 - Rio de Janeiro - RJ
cep-hupe@uerj.br

Assunto: Resultado da pesquisa: "Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme"

Senhores membros do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto

A Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados, por meio da Área Técnica da Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme, instituída no âmbito do SUS pela Portaria GM/MS nº 1391 de 16 de agosto de 2005, demonstra interesse nos resultados da pesquisa intitulada "Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme", com registro na Plataforma Brasil e já aprovada por este Comitê, sob o parecer de número 758.174:

Título da Pesquisa: Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme	
Pesquisador Responsável: Maria Citelli dos Reis	
Área Temática:	
Versão: 4	
CAAE: 25622113.9.0000.5259	
Submetido em: 08/08/2014	
Instituição Proponente: Instituto de Nutrição	
Situação da Versão do Projeto: Parecer Consubstanciado Emitido (Aprovado)	
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável	
Patrocinador Principal:	FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ Ministério da Saúde

A doença falciforme é pouco estudada, principalmente no que diz respeito aos aspectos nutricionais, não existindo ainda nenhum protocolo de cuidados nutricionais para estes indivíduos. Embora seja uma doença hemolítica, pouco se sabe sobre os aspectos relacionados à

5



**MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA E TEMÁTICA
COORDENAÇÃO-GERAL DE SANGUE E HEMODERIVADOS**

homeostase de ferro. Os conhecimentos advindos do presente projeto poderão trazer subsídios para reformulação da política nacional de fortificação das farinhas de trigo e milho. Até o presente momento, os únicos indícios de que a fortificação das farinhas de trigo e de milho (mandatória no Brasil) seja segura para as pessoas que tem doença falciforme, provém dos dados preliminares deste estudo conduzido pelo Nutrifal (UERJ/Ministério da Saúde). Os dados preliminares mostraram que as pessoas com doença falciforme que cursam com sobrecarga de ferro são capazes de aumentar a secreção do hormônio hepcidina. Em tese, este hormônio reduz a absorção intestinal de ferro.

Desta forma, embora estas pessoas apresentem excesso de ferro, seus organismos seriam capazes de reduzir a absorção deste nutriente. Entretanto, estes dados são insuficientes para garantirmos que estas pessoas possam consumir as farinhas fortificadas de forma segura. É necessária a realização de testes de absorção de ferro para nos certificarmos de que o consumo não traz perigo a essas pessoas.

Considerando a invisibilidade da doença e a falta de conhecimento sobre os cuidados nutricionais adequados, estudos como este, que objetivam a melhoria do cuidado ao paciente, são essenciais em nosso entendimento.

Agradecemos pela atenção.

Atenciosamente,

JOÃO PAULO BACCARA
Coordenador-Geral de Sangue e Hemoderivados

ANEXO B– Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme: Avaliação da absorção intestinal de ferro

Pesquisador: marta citelli dos reis

Área Temática:

Versão: 6

CAAE: 25622113.9.0000.5259

Instituição Proponente: Instituto de Nutrição

Patrocinador Principal: FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ
Ministério da Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.695.418

Apresentação do Projeto:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Objetivo da Pesquisa:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Emenda para aprovação de documentação e alteração de informações relativas ao protocolo.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Justificativa da Emenda:

Para aprimorar a avaliação da capacidade de absorção intestinal de ferro foi necessário incluir um novo método, menos invasivo e mais sensível.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos enviados a este Comitê estão dentro das boas práticas em pesquisa e apresentando todos dados necessários para apreciação ética.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A emenda apresenta todas as informações necessárias para avaliação ética. Diante do exposto e à luz da Resolução CNS nº466/2012, a Emenda pode ser enquadrada na categoria – APROVADO.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo

Bairro: Vila Isabel

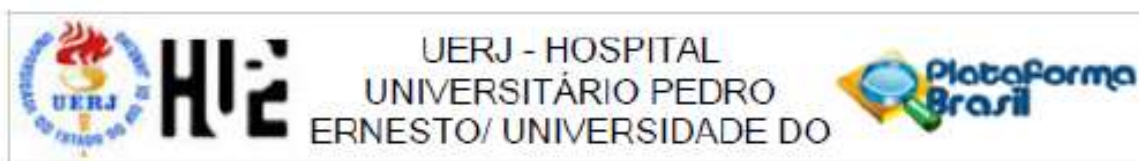
UF: RJ

Telefone: (21)2068-8253

Município: RIO DE JANEIRO

CEP: 20.661-030

E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.695.418

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente, o CEP recomenda ao Pesquisador: Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e no termo de consentimento livre e esclarecido, para análise das mudanças; Informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa; O Comitê de Ética solicita a V. S^a., que encaminhe relatórios parciais de andamento a cada 06 (seis) Meses da pesquisa e ao término, encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto; Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_113730_0_E2.pdf	18/05/2018 19:14:27		Aceito
Folha de Rosto	folhaderostomaio18.pdf	18/05/2018 19:12:58	marta citelli dos reis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclecontroioesadendomaio.pdf	16/05/2018 10:33:09	marta citelli dos reis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcledfadendomaio.pdf	16/05/2018 10:32:51	marta citelli dos reis	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	adendosobrecargamaio.pdf	16/05/2018 10:31:40	marta citelli dos reis	Aceito
Outros	CARTAMINISTERIODASAUDE.pdf	01/09/2016 12:01:54	marta citelli dos reis	Aceito
Outros	declaracao-ciencia-falciforme.pdf	01/12/2013 23:28:26		Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
 Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com



Continuação do Parecer: 2695.418

RIO DE JANEIRO, 06 de Junho de 2018

Assinado por:
DENIZAR VIANNA ARAÚJO
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Tiarão
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2868-8253 E-mail: cep.hupe.interno@gmail.com

ANEXO C– Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (IEHE)

INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA ARTHUR SIQUEIRA CAVALCANTI -	
---	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme: Avaliação da absorção intestinal deste nutriente

Pesquisador: Cláudia dos Santos Cople Rodrigues

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 70074917.2.0000.5267

Instituição Proponente: Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti - HEMORIO

Patrocinador Principal: Ministério da Saúde

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.788.659

Apresentação do Projeto:

Apresentado.

Objetivo da Pesquisa:

Apresentado.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Apresentado.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Apresentado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentado.

Recomendações:

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HEMORIO

Rio de Janeiro, 27 de julho de 2018.

ASSUNTO: Parecer consubstanciado de projeto de pesquisa avaliado pelo CEP HEMORIO

Endereço: Rua Frei Caneca nº 08 SALA310			
Bairro: Centro		CEP: 20.211-030	
UF: RJ	Município: RIO DE JANEIRO		
Telefone: (21)2332-8011	Fax: (21)2333-3638	E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br	

INSTITUTO ESTADUAL DE
HEMATOLOGIA ARTHUR
SIQUEIRA CAVALCANTI -



Continuação do Parecer: 2.788.660

Prezada Pesquisadora,

O Comitê de ética desta Instituição, conforme a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, APROVOU os documentos abaixo relacionados referente ao projeto, "Sobrecarga de ferro em pessoas com Doença Falciforme: Avaliação da absorção intestinal deste nutriente", registrado no CEP HEMORIO sob o número 419/17,

- Emenda protocolo versão 2 - maio/2018;
- Termo de Assentimento e Consentimento Livre e Esclarecido versão 2 – maio/2018.

Atenciosamente,

Marcia Villa Nova
Coordenadora do CEP HEMORIO

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Emenda de acordo com as normas do CEP HEMORIO

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_112894_4_E1.pdf	09/05/2018 16:31:54		Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto07maio2018.pdf	09/05/2018 15:10:33	marta citelli dos reis	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	ADENDOSOBRECARGAMAIO.pdf	04/05/2018 16:10:45	marta citelli dos reis	Aceito

Endereço: Rua Frei Caneca nº 08 SALA310
Bairro: Centro CEP: 20.211-030
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO
Telefone: (21)2332-8611 Fax: (21)2333-3538 E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br

INSTITUTO ESTADUAL DE
HEMATOLOGIA ARTHUR
SIQUEIRA CAVALCANTI -



Continuação do Parecer: 2.788.659

Investigador	ADENDOSOBRECARGAMAIO.pdf	04/05/2018 16:10:45	marta citelli dos reis	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEadendosobrecargamaio.pdf	04/05/2018 16:10:24	marta citelli dos reis	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	autorizacaosobrecarga.pdf	23/03/2017 10:59:11	marta citelli dos reis	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RIO DE JANEIRO, 27 de Julho de 2018

Assinado por:
MARCIA VILLA NOVA
(Coordenador)

Endereço: Rua Frei Caneca nº 08 SALA316

Bairro: Centro

CEP: 20.211-030

UF: RJ

Município: RIO DE JANEIRO

Telefone: (21)2332-8011

Fax: (21)2333-3038

E-mail: cep@hemorio.rj.gov.br