



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Jessyca Dias Cardoso Monteiro

**Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes  
com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro**

Rio de Janeiro

2018

Jessyca Dias Cardoso Monteiro

**Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro**

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

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Marta Citelli dos Reis

Coorientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Cláudia dos Santos Cople Rodrigues

Rio de Janeiro

2018

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

M775 Monteiro, Jessyca Dias Cardoso.  
Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro / Jessyca Dias Cardoso Monteiro. – 2018.  
72 f.

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

1. Nutrição – Teses. 2. Anemia falciforme – Teses. 3. Hpcidina – Teses. I. Reis, Marta Citelli dos. II. Rodrigues, Cláudia dos Santos Cople. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Nutrição. IV. 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

Jessyca Dias Cardoso Monteiro

**Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes com anemia  
falciforme sem sobrecarga de ferro**

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

Aprovado em 26 de julho de 2018.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Marta Citelli dos Reis (Orientadora)  
Instituto de Nutrição da UERJ

---

Prof. Dr. Marcos Kneip Fleury  
Faculdade de Farmácia UFRJ

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Josely Correa Koury  
Instituto de Nutrição UERJ

Rio de Janeiro

2018

## **DEDICATÓRIA**

A Deus. A Ele toda a honra e toda glória.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo seu infinito amor e cuidado em todos os momentos. Por me fortalecer nas horas em que mais precisei.

A meus pais, meus exemplos de vida. Por todos os sacrifícios que fizeram para que eu chegasse até aqui e pelo amor com que me ensinaram a ser a mulher que sou hoje. Amo vocês!

A meus familiares, que apoiaram e vibraram com cada passo dado.

Ao meu amor, meu parceiro, meu esposo Bruno, que me impulsionou e se fez alicerce nas minhas fraquezas. Que enxugou muitas lágrimas e me acompanhou nas melhores gargalhadas. Amo você!

A minha cadelinha Amora, que mesmo que tenha ficado pouco tempo entre nós, trouxe muita alegria, amor e sapequice. Obrigada por me fazer feliz minha bolinha de amor!

As queridas orientadora professora Marta Citelli dos Reis e co-orientadora professora Cláudia dos Santos Cople Rodrigues, pela paciência, carinho e ensinamentos.

Ao Centro de Referência de Nutrição a Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL) e a todos os componentes desta “grande família”.

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

Ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da Universidade Federal do Rio de Janeiro, em especial ao Prof. Dr. Marcos Fleury e à Patrícia Siqueira, pela realização dos exames laboratoriais.

Ao Laboratório de Farmacologia Bioquímica e Celular do Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes (IBRAG), o Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional (LIAN) e o Laboratório de Fisiopatologia e Bioquímica da Nutrição, por permitirem a utilização de seus laboratórios para realização das análises necessárias.

A professora Flávia Barbosa, pela ajuda nas análises estatísticas. A professora Danielly Ferraz pela revisão do trabalho. Aos professores que compuseram as bancas de qualificação e defesa, Professora Josely Correa Koury, Professor Marcos Kneip Fleury, Professora Maria Christina Maioli e Professor Ricardo Erthal Santelli, pela disponibilidade em contribuir com esta dissertação.

Às queridas amigas presentes na minha rotina, nos laboratórios e nas aulas, em especial a Juliana Omena, Thamiris de Souza e Emília Delesderrier, que foram muito além de

companheiras, foram minhas irmãs, confidentes e alegria diária. “Ohana” para sempre! Amo vocês!

Ao Ministério da Saúde, pelo financiamento deste projeto.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado, que me auxiliou a desenvolver este projeto.

A todos aqueles que participaram voluntariamente da pesquisa. Graças a vocês foi possível a realização deste trabalho.

À minha querida UERJ e a todas as pessoas que a compõe, fazendo com que a excelência em ensino seja mantida, apesar das dificuldades. UERJ RESISTE!

Queira coisas boas para a vida. Pensando assim trazemos para nós aquilo que desejamos. Se pensamos pequeno, coisas pequenas teremos... Já se desejarmos fortemente o melhor e, principalmente, lutarmos pelo melhor, o melhor vai se instalar na nossa vida.

*Carlos Drummond de Andrade*

## RESUMO

MONTEIRO, Jessyca Dias Cardoso. *Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica em pacientes com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro*. 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

A doença falciforme é um grupo de doenças genéticas hematológicas, resultantes da mutação no gene da  $\beta$ -globina, gerando um novo tipo de hemoglobina, a hemoglobina S (HbS). O genótipo da anemia falciforme (AF; HbSS) é a forma da doença com maior gravidade dentre os genótipos. A formação de polímeros de hemoglobina e alterações estruturais nas hemácias levam à hemólise crônica e vaso-occlusão. A hepcidina é o hormônio chave na regulação do metabolismo do ferro e atuando reduzindo sua absorção e biodisponibilidade. A hemólise, a anemia, a eritropoiese aumentada e a hipóxia podem reduzir a transcrição do gene da hepcidina, sendo um mecanismo contra regulatório para aumentar a absorção de ferro. Em contrapartida, situações de sobrecarga de ferro, inflamação e obesidade, podem aumentar a transcrição do gene da hepcidina, levando à redução da absorção de ferro. A relação entre hepcidina e sobrecarga de ferro foi observada em estudos em que os pacientes apresentavam sobrecarga de ferro, deixando uma lacuna no conhecimento a respeito dos pacientes que não apresentam tal condição. O objetivo do estudo foi identificar os fatores preditores da concentração sérica de hepcidina em pessoas com AF sem sobrecarga de ferro. As informações utilizadas foram coletadas entre os anos de 2014 a 2016. Os participantes foram divididos em dois grupos: com AF sem sobrecarga de ferro (concentração plasmática de ferritina  $<1000\text{ng/dL}$  –  $n=58$ ) e grupo controle ( $n=43$ ) composto por indivíduos aparentemente saudáveis. Hemoglobina (Hb), hemácias (Hm), hematócrito (Ht), capacidade de total de ligação de ferro (CTLF) e ferro sérico (Fe) foram utilizados como indicadores de anemia/hipóxia; fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF-15) e contagem de reticulócitos, como indicadores de atividade eritropoiética; lactato desidrogenase (LDH), como indicador de hemólise; ferritina (Ft) e índice de saturação da transferrina (IST), como indicadores da carga corporal de ferro; interleucina-6 (IL-6) e leucócitos, como indicadores de inflamação; índice de massa corporal (IMC), como indicador de obesidade. Para determinar a relação entre as variáveis realizou-se regressão linear múltipla, seguido pelo teste *backward*, considerando-se a hepcidina como variável dependente. A mediana da concentração de hepcidina sérica foi menor no grupo com a doença ( $4,2\text{ng/mL}$ ; IIQ:  $2,20-7,77\text{ng/mL}$ ) comparado ao grupo controle ( $7,2\text{ng/mL}$ ; IIQ:  $5,60-11,60\text{ng/mL}$ ). As variáveis determinantes da concentração de hepcidina sérica em pessoas com AF foram Ft ( $\beta=0,430$ ;  $p=0,0001$ ), LDH ( $\beta=-0,634$ ;  $p=0,0001$ ) e reticulócitos ( $\beta=-0,351$ ;  $p=0,002$ ). Para os indivíduos sem a doença, os determinantes foram Ft ( $\beta=0,220$ ;  $p=0,018$ ) e Ht ( $\beta=1,976$ ;  $p=0,034$ ). Quando feita análise de regressão utilizando-se outro ponto de corte para classificação de excesso de ferro (ferritina sérica  $\geq 300\text{ng/mL}$  para homens ou  $\geq 200\text{ng/mL}$  mulheres), as variáveis determinantes da hepcidina sérica foram, ferritina ( $\beta=0,458$ ,  $p=0,0001$ ), LDH ( $\beta=-0,659$ ;  $p=0,001$ ) e reticulócitos ( $\beta=-0,481$ ;  $p=0,013$ ) para o subgrupo com ferritina normal ( $n=38$ ). As mesmas variáveis compuseram o modelo para o subgrupo ferritina elevada ( $n=20$  – ferritina  $\beta=-0,457$  e  $p=0,0001$ ; LDH  $\beta=-0,709$  e  $p=0,0001$ ; reticulócitos  $\beta=-0,410$ ;  $p=0,0001$ ). A hemólise parece explicar a menor concentração de hepcidina sérica em indivíduos com AF sem sobrecarga de ferro. Ao mesmo tempo, em indivíduos saudáveis ou com AF, os indicadores do estado corporal de ferro correlacionam-se às concentrações de hepcidina.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Hepcidina. Estado de ferro corporal. Hemólise.

## ABSTRACT

MONTEIRO, Jessyca Dias Cardoso. *Determinants of serum hepcidin concentration in patients with sickle cell anemia without iron overload*. 2018. 72 f. Dissertação (Mestrado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

**Introduction:** Sickle cell disease is a group of hematological genetic diseases, which leads to a mutation in the  $\beta$ -globin gene, in a new type of hemoglobin, hemoglobin S (HbS). The sickle-cell anemia (SCA; HbSS) genotype is the greatest severity form of the disease. The formation of hemoglobin polymers and structural changes in the red blood cells lead to chronic hemolysis and vaso-occlusive episodes. Hcpidin is the key hormone in the regulation of iron metabolism and acts to reduce iron absorption and bioavailability. Hemolysis, anemia, hypoxia, and increased erythropoiesis can reduce the transcription of the hepcidin gene, constituting a counter-regulatory mechanism to increase iron absorption. In contrast, situations of iron overload, inflammation and obesity, are able to increase the transcription of the hepcidin gene, which may lead to lower iron absorption. Studies have linked hepcidin to iron overload. However, most patients with SCA do not present iron overload. **Objective:** evaluate the predictive factors of plasma hepcidin concentration in individuals with SCA without iron overload. **Methods:** A database was analyzed with data collected between 2014 and 2016, composed of 101 adult participants (19-59 years old), divided into: group with non-iron overload (serum ferritin  $<1000$  ng / mL) (n = 58); and control group without the disease (n = 43). Hemoglobin (Hb), red blood cells (RBC), hematocrit (Ht), total iron binding capacity (TIBC) and serum iron (Fe) were used as indicators of anemia / hypoxia; growth differentiation factor 15 (GDF-15) and reticulocytes as indicators of erythropoietic activity; lactate dehydrogenase (LDH) as an indicator of hemolysis; ferritin (Ft) and transferrin saturation index (TSI) as indicators of iron loading; interleukin-6 (IL-6) and leukocytes as indicators of inflammation; body mass index (BMI) as an indicator of obesity. To determine the relationship between the variables, multiple linear regression was performed by the backward method, considering hepcidin as a dependent variable. **Results:** The median serum hepcidin concentration was lower in the SCA group (4.2 ng / mL; Interquartile Interval, IQI: 2.20-7.77 ng / mL) when compared to the control group (7.2 ng / mL; IQI: 5.60-11.60 ng / mL). The determinant variables for serum hepcidin concentration in people with SCA were: Ft ( $p = 0.0001$ ,  $\beta = 0.430$ ), LDH ( $p = 0.0001$ ,  $\beta = -0.634$ ) and reticulocytes ( $p = 0.002$ ,  $\beta = -0.351$ ). For individuals without the disease, the determinants were: Ft ( $p = 0.018$ ,  $\beta = 0.220$ ) and Ht ( $p = 0.034$ ,  $\beta = 1.976$ ). When regression analysis was done with another cutoff for serum ferritin ( $> 300$  ng / mL for males or  $> 200$  ng / mL females), the determinants of hepcidin were: Ft ( $p = 0.0001$ ,  $\beta = 0.457$ ), reticulocytes ( $p = 0.0001$ ,  $\beta = -0.410$ ) and LDH ( $p = 0.0001$ ;  $\beta = -0.709$ ) in the high ferritin subgroup. In the subgroup with normal serum ferritin, the determinants of hepcidin were: Ft ( $p = 0.0001$ ,  $\beta = 0.458$ ), reticulocytes ( $p = 0.001$ ,  $\beta = -0.481$ ) and LDH ( $p = 0.001$ ;  $\beta = -0.659$ ). **Conclusion:** Hemolysis seems to explain the lower concentration of serum hepcidin in individuals with SCA without iron overload. At the same time, indicators of iron status correlate with hepcidin concentrations, both in healthy people and people with SCA.

Keywords: Sickle cell anemia. Hcpidin. Body iron status. hemolysis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ação da hepcidina no metabolismo do ferro.....	23
Figura 2 – Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica. ....	24
Figura 3 – Vias de sinalização da hepcidina.....	26
Figura 4 – População de estudo .....	32
Quadro 1 - Exames realizados de acordo com os fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica. ....	34
Quadro 2 - Valores de referência do Índice de Massa Corporal propostos pela Organização Mundial de Saúde.....	35
Figura 5 – Hemólise como mais forte determinante da concentração de hepcidina sérica em adultos com anemia falciforme (AF) sem sobrecarga de ferro. ....	46

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Características gerais dos participantes do estudo .....	37
Tabela 2 -	Comparação dos resultados dos exames laboratoriais dos participantes do grupo controle e do grupo anemia falciforme .....	38
Tabela 3 -	Análise de regressão linear para identificação das variáveis determinantes da concentração de hepcidina sérica, nos grupos controle e anemia falciforme.....	39
Tabela 4 -	Comparação dos resultados dos exames laboratoriais dos participantes do grupo anemia falciforme para classificação de sobrecarga de ferro (ferritina sérica elevada: $\geq 300\text{ng/mL}$ para homens e $\geq 200\text{ng/mL}$ para mulheres WORWOOD, 1997).....	40
Tabela 5 -	Análise de regressão linear multivariada para identificação de determinantes da concentração de hepcidina sérica para o grupo anemia falciforme com ferritina normal e elevada.....	40
Tabela 6 -	Análise de regressão linear para avaliação das variáveis determinantes da concentração de ferritina sérica.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Anemia Falciforme
ALT	Alanina aminotransferase
BMP	Proteína morfogenética óssea (do inglês: <i>bonemorphogenicprotein</i> )
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CSN	Conselho Nacional de Saúde
DF	Doença falciforme
DMT-1	Transportador de metal divalente-1 (do inglês: <i>divalent metal transporter</i> )
DNA	Ácido desoxirribonucleico(do inglês: <i>deoxyribonucleicacid</i> )
DXA	Densitometria por emissão de raios x de dupla energia
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
EPO	Eritropoietina
ERFE	Eritroferrona
GDF-15	Fator de diferenciação do crescimento 15(do inglês: <i>growthdifferentiationfactor 15</i> )
TFG	Taxa de filtração glomerular
Hb A	Hemoglobina normal
Hb AS	Traço falciforme
Hb F	Hemoglobina fetal
Hb S	Hemoglobina S
Hb SS	Anemia falciforme
HIF	Fator induzido pela hipóxia(do inglês: <i>hypoxiainducedfactor</i> )
HJ	Hemojuvelina
Hemorio	Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
IIQ	Intervalo interquartilico
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
IRE	Elementos responsivos ao ferro (do inglês: <i>ironresponsiveelements</i> )
IRP	Proteínas reguladoras deferro(do inglês: <i>ironregulatingproteins</i> )
IST	Índice de saturação da transferrina
LACFAR	Laboratório de Análises Clínicas Faculdade de Farmácia

LDH	Lactato desidrogenase
RNA <sub>m</sub>	RNA mensageiro
NF- $\kappa$ B	Fator nuclear Kappa B (do inglês: <i>nuclear factor kappa B</i> )
NTBI	Ferro não ligado à transferrina (do inglês: <i>non-transferrinboundiron</i> )
NUTRIFAL	Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme
PCR-us	Proteína C reativa ultra sensível
R24h	Recordatório de 24 horas
SF	Sobrecarga de ferro
SMAD	Proteína homóloga decapentaplégica (do inglês: <i>smallbodysize/mothersagainstdecapentaplegic</i> )
sTfR	Receptor solúvel de transferrina sérica (do inglês: <i>solubletransferrin receptor</i> )
STOP	Estudo de prevenção de acidente vascular cerebral na anemia falciforme (do inglês: <i>StrokePreventionTrial in SickleCell Anemia</i> )
TCLE	Termo de consentimento Livre e Esclarecido
TGF	Taxa de filtração glomerular
TfR	Receptor específico de transferrina (do inglês: <i>transferrin receptor</i> )
TNF	Fator de necrose tumoral (do inglês: <i>tumoralnecrosisfactor</i> )
TIBC	Capacidade de ligação total de ferro à transferrina (do inglês: <i>totalironbindingcapacity</i> )

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	18
1.1	<b>A doença falciforme</b> .....	18
1.2	<b>O metabolismo do ferro</b> .....	21
1.3	<b>Fatores influenciadores da produção da hepcidina</b> .....	23
1.4	<b>Hepcidina na doença falciforme</b> .....	27
2	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	30
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	31
3.1	<b>Objetivo geral</b> .....	31
3.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	31
4	<b>MÉTODOS</b> .....	32
4.1	<b>Desenho do estudo</b> .....	32
4.2	<b>População de estudo</b> .....	32
4.3	<b>Aspectos éticos</b> .....	33
4.4	<b>Desenho de estudo</b> .....	33
4.5	<b>Análises Laboratoriais</b> .....	33
4.6	<b>Avaliação antropométrica</b> .....	35
4.7	<b>Financiamento</b> .....	35
4.8	<b>Análise estatística</b> .....	35
5	<b>RESULTADOS</b> .....	37
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	42
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	46
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	47
	<b>ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto /UERJ.</b> .....	54
	<b>ANEXO B – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio)</b> .....	58
	<b>ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Hospital Universitário Pedro Ernesto</b> .....	60
	<b>ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio)</b> .....	62

<b>ANEXO E</b> – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Para os Participantes sem a Doença Falciforme (Grupo Controle) .....	65
<b>ANEXO F</b> - Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes com a Doença Falciforme .....	67
<b>ANEXO G</b> – Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes sem a Doença Falciforme.....	70

## **APRESENTAÇÃO**

Este estudo integra uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL). O NUTRIFAL foi criado em 2010, através de uma parceria entre o Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) com o Ministério da Saúde. O NUTRIFAL tem por objetivo estudar e definir as principais necessidades nutricionais das pessoas com doença falciforme por meio de pesquisas científicas, a fim de aprimorar o cuidado nutricional a estes indivíduos.

## INTRODUÇÃO

A doença falciforme (DF) é um grupo de doenças hematológicas, de ordem genética, resultante de uma mutação no gene da  $\beta$ -globina (REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010). Esta mutação leva a uma variação da hemoglobina normal (HbA) e resulta na formação de um novo tipo de hemoglobina, a hemoglobina S (HbS) (DAAK et al, 2016). A hemácia contendo a HbS apresenta estrutura em forma de foice (do inglês *sickle* = foice; *sickle cell disease* [SCD] = doença falciforme). Com a mudança de conformação, a hemácia passa a ser mais rígida, desidratada e mais propensa à hemólise (NAIK et al., 2013; PIEL et al., 2013). A homozigose da doença (HbSS), denominada de anemia falciforme, é a forma que apresenta maior gravidade quanto aos sintomas clínicos (BALLAS et al., 2010). Segundo a Organização Mundial da Saúde (BRASIL, 2005a), cerca de 300 mil crianças nascem anualmente com a doença falciforme em todo o mundo, sendo que cerca de 80% concentra-se no continente africano (REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010), onde a alta mortalidade infantil deve-se, dentre outros fatores, à precária estrutura hospitalar, educação e cuidados em saúde para a população (DAAK et al., 2016). Em 2004, foi instituído o Programa Nacional de Atenção Integral aos Portadores de Hemoglobinopatias, por meio da Portaria nº 2695/GM, de 23 de dezembro de 2004 (BRASIL, 2004), que foi consolidada em 2005, com a criação das portarias que incluíram a doença falciforme na agenda de políticas públicas da saúde brasileira, como as Portarias nº 1018/GM, de 1 de julho de 2005 (BRASIL, 2005b), GM/MS nº 1391, de 16 de agosto de 2005 (BRASIL, 2005c) e GM/MS nº 2981, de 26 de novembro de 2009 (BRASIL, 2009). Contudo, mesmo com estas políticas implementadas, o atendimento nas unidades de saúde às pessoas com doença falciforme ainda está muito longe do ideal. Vários fatores como desconhecimento da doença, falta de treinamento dos profissionais de saúde e até mesmo o preconceito social e racial, fazem com que essa hemoglobinopatia seja negligenciada (AMARAL et al., 2016; ARAÚJO, 2007).

Entre as causas do desconhecimento da doença está a escassez de estudos que investiguem todos os aspectos de saúde dessa população, o que dificulta o tratamento multiprofissional e desfavorece o quadro clínico geral. No que diz respeito à nutrição, a falta de informação é ainda mais acentuada, mesmo já sendo conhecido que a nutrição adequada é necessária para a manutenção da saúde como um todo e para a prevenção de possíveis complicações clínicas.

O ferro é um mineral essencial a inúmeras funções no organismo, tais como transporte de oxigênio, síntese de DNA, função mitocondrial e diversas reações enzimáticas

(MUCKENTHALER et al., 2017). Indivíduos com anemia falciforme cursam, em geral, com baixas concentrações de ferro devido à intensa hemólise e ao aumento na produção de novas hemácias para suprimento das funções essenciais (BENDER e SEIBEL, 2014).

A hepcidina é um hormônio chave para o metabolismo de ferro, pois é responsável pelo controle da sua captação em função da demanda corporal (PORTO et al., 2012). O papel da hepcidina na população saudável já foi bem descrito (RUCHALA e NEMETH, 2014; MICHELS et al, 2015; GANZ, 2011). Na doença falciforme, existem alguns estudos que mostram sua importância, principalmente em indivíduos que apresentam sobrecarga de ferro. Porém, poucos estudos abordam a atuação da hepcidina na anemia falciforme sem a presença de sobrecarga de ferro e como os fatores clínicos inerentes à doença determinam a concentração deste hormônio.

A partir de estudos que elucidem os mecanismos básicos do metabolismo de nutrientes, em especial o do ferro, e a repercussão destes no quadro clínico de indivíduos com anemia falciforme, será possível obter evidências que irão subsidiar a criação de estratégias clínicas e nutricionais voltadas para esta população.

## 1 REVISÃO DA LITERATURA

### 1.1 A doença falciforme

A doença falciforme é uma hemoglobinopatia hereditária cujas mudanças na conformação das hemácias para o formato de foice levam à perda da capacidade de transporte de oxigênio, vaso-oclusão, hemólise e dor crônica (BRASIL, 2002).

O grupo doença falciforme é composto por variações genótípicas diversas, tais como as hemoglobinas HbSC, HbSD, HbSE, e as talassemias (Hb  $S\beta$ -talassemia e Hb  $S\beta^0$ -talassemia) (BALLAS, et al., 2010). A homozigose da doença falciforme (HbSS) é conhecida como anemia falciforme, que é a forma mais comum no Brasil e no mundo e a que possui maior gravidade no que diz respeito a quadro clínico e progressão da doença (CANÇADO e JESUS, 2007).

O traço falciforme é caracterizado pela presença da mutação em apenas um dos alelos (genótipo HbAS) e não é considerado doença (BRASIL, 2002). Estima-se que sejam 200.000 casos em nascidos vivos por ano, presente em 4% da população geral e presente em 8% desta população afrodescendente. No Brasil, estima-se que cerca de 30.000 pessoas possuam a anemia falciforme e, todos os anos, 3.500 nascidos vivos são detectados com a doença pelo Programa de Triagem Neonatal (CANÇADO; JESUS, 2007). Dados do serviço de hematologia do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), apontam que a maioria dos pacientes atendidos na unidade não apresenta sobrecarga de ferro (cerca de 70%)<sup>1</sup>.

O primeiro caso descrito de modificação da estrutura da hemácia para uma forma alongada foi identificado através de observação *in vitro* da transformação da hemácia bicôncava para o formato de foice, no início do século XX (GALIZA NETO e PITOMBEIRA, 2003).

A mutação que caracteriza a doença, ocorre no cromossomo 11, na posição 6 da cadeia da beta-globina, onde há mudança da base nitrogenada adenina por timina, que acarreta a tradução da valina ao invés do ácido glutâmico, gerando mudança na conformação da estrutura molecular da proteína. Essa modificação forma feixes de polímeros de hemoglobina,

---

<sup>1</sup> Comunicação verbal da chefe do setor de hematologia do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti, Dr<sup>a</sup>. Cláudia Máximo, em novembro de 2018

causando enrijecimento e fragilidade da membrana das hemácias, além de deformidades na estrutura que dificultam a passagem das hemácias em forma de foice pelos vasos sanguíneos (principalmente nos microvasos). Como resultado, ocorre vaso-oclusão, hemólise e prejuízo à oxigenação dos tecidos, podendo levar a sérias consequências à saúde (BENDER; SEIBEL, 2014).

A gravidade dos sinais e sintomas na anemia falciforme pode variar significativamente (BRASIL, 2002). Pode ir de episódios de dor escassos e até crises intensas e problemas mais graves, tais como síndrome torácica aguda e acidente vascular cerebral. As complicações clínicas do paciente decorrentes do constante estado inflamatório, ocasionado pelas intensas vaso-oclusão e hemólise, podem ser influenciadas por diversos fatores, como acesso a serviços básicos, fatores climáticos, fatores socioeconômicos e até de acesso a informação e cuidados de saúde (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003). Tewari e colaboradores (2015) analisaram dados de diversos estudos relativos a esses influenciadores e observaram que fatores ambientais, tais como clima, qualidade do ar, situação econômica, exercício físico e infecção, são considerados importantes, visto que há diferenças entre pacientes de países desenvolvidos e subdesenvolvidos. Porém, para que haja dados mais consistentes, seriam necessários estudos prospectivos a fim de compreender a real influência desses fatores.

O Programa de Triagem Neonatal do Ministério da Saúde (mais conhecido como teste do pezinho), implementado para hemoglobinopatias desde 2001, foi um grande avanço que possibilitou o diagnóstico e o tratamento precoce e conseqüentemente promove progressão mais lenta da doença (SILVA et al., 2006). Quanto mais cedo o diagnóstico, maior a sobrevivência do paciente, uma vez que o tratamento será iniciado nos primeiros meses de vida e a progressão da doença torna-se mais lenta (RODRIGUES et al., 2012). O diagnóstico em adultos e crianças a partir dos 4 meses também pode ser realizado por meio da eletroforese e outros métodos, na rede básica de saúde (GROTTO, 2010).

A doença falciforme é uma doença multissistêmica, onde vários órgãos e sistemas são acometidos em decorrência das manifestações clínicas relacionadas aos eventos de vaso-oclusão e da anemia hemolítica, como hipóxia, icterícia, úlcera de perna, priapismo, hipertensão pulmonar, insuficiência renal, cálculos biliares, aumento da suscetibilidade à infecção e acidente vascular cerebral (REES et al., 2010).

O evento chave para o início das manifestações clínicas se apresenta a partir da formação da hemácia falcizada pela polimerização, em baixas condições de oxigênio. A partir

deste ponto, se inicia um ciclo onde há formação de novas hemácias com a conformação alterada, mais rígidas e incapazes de carrear o oxigênio de forma adequada (CHUI e DOVER, 2001). A vaso-oclusão ocorre também em microvasos epiteliais, provocando hipóxia e necrose tecidual. A úlcera de perna é um exemplo clássico dessa necrose, onde são liberados mediadores inflamatórios, gerando adesão celular ao endotélio vascular e baixa perfusão sanguínea (WANG, 2004).

Por outro lado, em decorrência do processo hemolítico, há liberação de hemoglobina e da enzima arginase no plasma, estimulando disfunção endotelial, proliferação vascular e estresse oxidativo. Esses mecanismos levam à vasculopatia proliferativa, que pode afetar a circulação de órgãos importantes, como cérebro, rins e pulmões (MACHADO, 2007). Manifestações hepáticas como dor no quadrante superior direito e icterícia podem ocorrer por alterações vasculares ocasionadas pela falcização (CHARLOTTE et al., 1995). Outra manifestação clínica ocasionada por alterações na circulação sanguínea é o priapismo, relativamente comum, que consiste na ereção peniana involuntária, prolongada e dolorosa, que não acompanhada de desejo ou estímulo sexual. Ela ocorre pelo quadro de isquemia no corpo cavernoso e, quando frequente, pode levar a disfunção erétil (KEOGHANE; SULLIVAN; MILLER, 2002).

O tratamento da doença falciforme baseia-se na atenção e cuidados dos quadros agudos e retardo da progressão da doença. Em casos agudos são adotadas medidas para alívio dos quadros álgicos, como hidratação intravenosa e oral, uso de medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos (BALLAS, et al., 2010).

Atualmente é empregada no tratamento das pessoas com anemia falciforme a hidroxiureia, um quimioterápico capaz de induzir a produção de hemoglobina fetal (HbF), a qual não sofre o processo de falcização, ou seja, permite que haja diminuição na proporção de hemácias falciformes circulantes no sangue, diminuindo assim as crises álgicas recorrentes além de outros sintomas da doença (BANDEIRA et al., 2004). A administração deste medicamento também reduz a expressão de moléculas de adesão, tais como fosfatidilserina e anexina V da superfície eritrocitária e plaquetária (COVAS et al., 2004), evitando a agregação de células e, conseqüentemente, as crises vaso-oclusivas. O uso é indicado a partir dos três anos de idade, para pessoas com histórico de três ou mais episódios de crises vaso-oclusivas com atendimento médico ou quadros clínicos graves como crise torácica aguda, acidentes

vasculares encefálicos, priapismo freqüente e anemia persistente nos últimos 12 meses (BRASIL, 2014).

Devido aos eventos vaso-oclusivos e hemolíticos que ocorrem nos indivíduos com a doença, a terapia de transfusão sanguínea é, muitas vezes, o tratamento mais indicado. As transfusões podem ser realizadas com o objetivo de tratar os quadros agudos e também na prevenção de complicações ou na progressão da doença (JOSEPHSON et al., 2007), como, por exemplo, em casos de acidente vascular cerebral, como mostrado nos estudos STOP 1 e STOP 2 (*Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia*), realizados em 1998 e 2005, respectivamente (ADAMS, 1998; ADAMS; BRAMBILLA, 2005).

Embora seja de extrema importância em alguns casos, a terapia crônica de transfusão pode conduzir à sobrecarga de ferro (SF) nestes pacientes, visto que cada unidade de sangue transfundido contém cerca de 200-250 mg deste mineral (HANKINS et al., 2009; INATI et al., 2011) e, fisiologicamente, o organismo não é capaz de controlar a sua eliminação (CANÇADO; JESUS, 2007). Nos casos em que o indivíduo apresenta sobrecarga de ferro, faz-se uso dos medicamentos quelantes (como deferasirox, deferrioxamine e deferiprone) que, ao formar um complexo insolúvel, evitam que o ferro excedente seja absorvido e armazenado (ALLALI et al., 2017).

## 1.2 O metabolismo do ferro

Essencial para o transporte de oxigênio, a síntese de DNA e o metabolismo energético, o ferro apresenta diversas funções celulares no organismo. Este mineral desempenha papel fundamental na formação do heme, produzido em sua grande parte pelo eritroblasto e presente nas hemácias, sendo responsável pelo carreamento do oxigênio para os tecidos. Em indivíduos adultos, estima-se que haja armazenamento de 4 a 5g de ferro pelo organismo e que cerca de 50% dele esteja presente na forma de hemoglobina (GROTTO, 2010).

O ferro pode ser obtido a partir da reciclagem de hemácias, onde os macrófagos degradam as hemácias e liberam o ferro contido para nova síntese; e em menor quantidade, pode ser obtido pela alimentação (DONOVAN; ROY; ANDREWS, 2006; STARON et al., 2017). Uma dieta adequada, que inclui todos os grupos de alimentos, fornece em média uma ingestão de 13 a 18 mg de ferro, porém apenas 1 a 2 mg são efetivamente absorvidos. O ferro dietético está presente nos alimentos em dois tipos: o ferro não-heme, presente nos alimentos

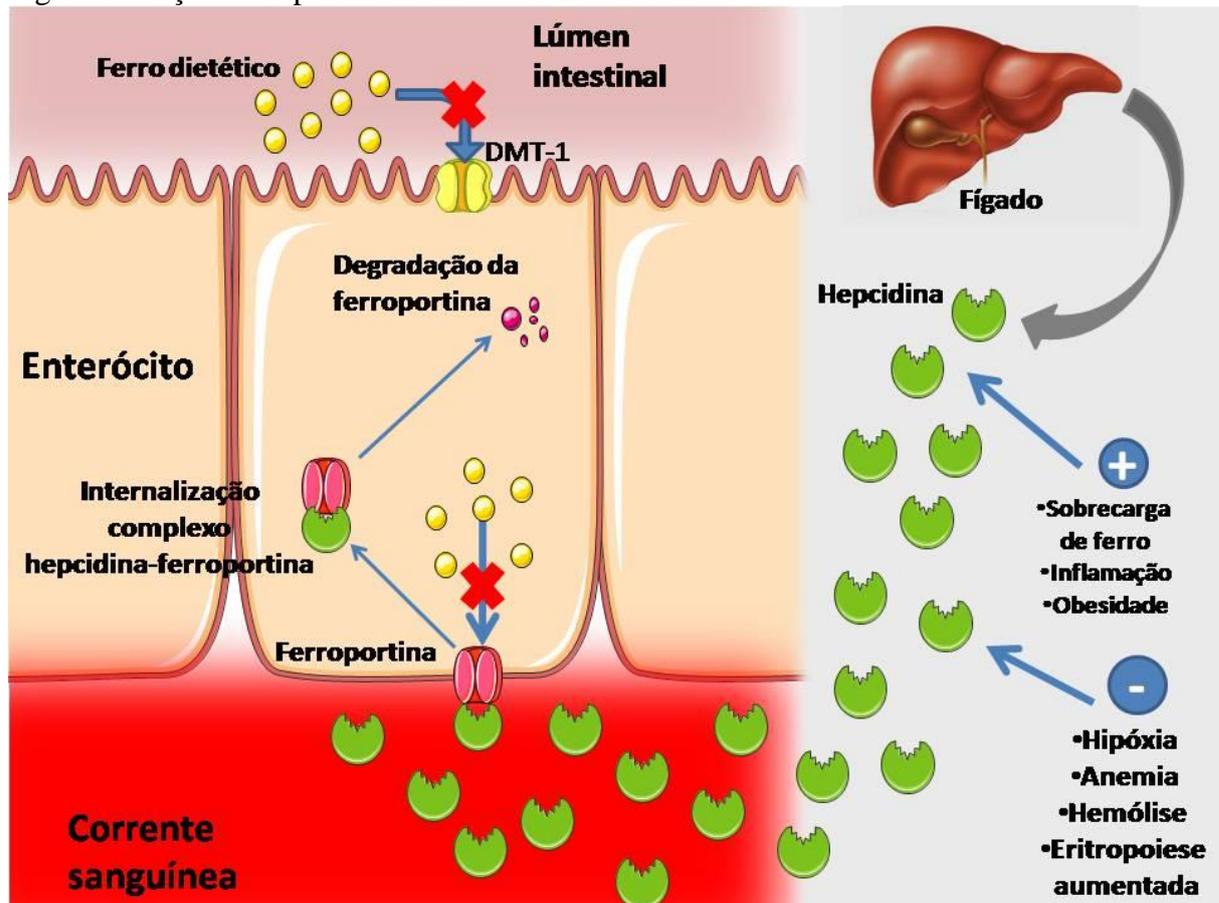
de origem vegetal (cereais, leguminosas e folhosos) e o ferro heme, contido em alimentos de origem animal (carnes em geral, com destaque para a carne vermelha, que é sua maior fonte), sendo este último o tipo com maior biodisponibilidade de absorção pelo organismo (BORTOLINI et al., 2010).

A homeostase do ferro pode ocorrer de duas formas. A forma intracelular é conduzida pelas proteínas reguladoras de ferro (IRP1 e IRP2) que tem ação na expressão de genes responsáveis por captar e estocar o ferro, como a ferroportina, o transportador de metal divalente 1 (DMT1 - do inglês *divalent metal transporter 1*) e a ferritina. Diante de concentrações intracelulares de ferro reduzidas, estas proteínas ligam-se em estruturas (IRE – elementos responsivos ao ferro) presentes em regiões não codificantes do RNA mensageiro (RNAm). Ao se ligarem à região 3' não traduzida, as IRPs protegem a degradação do RNAm e assim é continuada a síntese das proteínas. Por outro lado, ao ligarem-se à região 5' não traduzida, ocorre uma diminuição da síntese das proteínas, pois há uma inibição da tradução do RNAm em proteína (DUNN et al., 2007).

O organismo perde o ferro através da descamação de tecidos, das secreções corpóreas e, nas mulheres, pela menstruação. Como dito anteriormente, não há um mecanismo específico para eliminação do ferro (RAGHUPATHY; MANWANI; LITTLE, 2010). O excesso de ferro aumenta a formação de espécies reativas de oxigênio, que são extremamente tóxicas aos tecidos, levando a erros sucessivos nas sínteses de proteínas e DNA e gradativamente a lesões, muitas vezes irreversíveis, de órgãos vitais (DARBARI et al., 2006). A regulação da homeostase do ferro é feita pela hepcidina, um hormônio produzido de forma majoritária pelas células do fígado e fundamental na diminuição da absorção de ferro intestinal. Atua bloqueando a transferência de ferro para fora dos enterócitos, hepatócitos e os macrófagos, além de inibir a transcrição de DMT-1 (GKAMPRELA; DEUTSCH; PECTASIDES, 2017).

A ferroportina é uma proteína transportadora de ferro, presente na membrana basolateral dos enterócitos, e é o receptor da hepcidina. Em situações em que haja muito ferro disponível, o conjugado hepcidina-ferroportina é internalizado e é degradado, impedindo que haja liberação do ferro para o plasma, por ausência da ferroportina (Figura 1). Desta forma, a saturação de transferrina sérica torna-se gradativamente reduzida pela diminuição do efluxo de ferro e, assim, há uma diminuição na liberação de ferro para a eritropoiese (NEMETH et al., 2004).

Figura 1 – Ação da hepcidina no metabolismo do ferro.

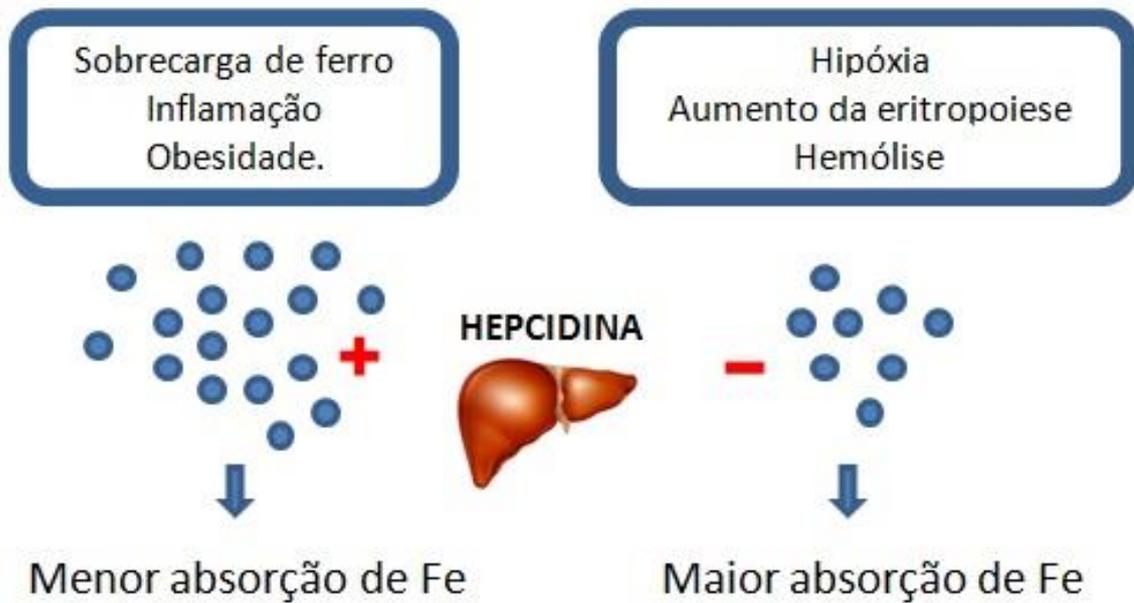


A produção da hepcidina ocorre no fígado e pode apresentar-se aumentada em casos onde há sobrecarga de ferro, quadros inflamatórios e obesidade. Já em quadros de hipóxia, anemia, hemólise e eritropoiese aumentada, a produção de hepcidina pode ser reduzida. Quando secretada, atua formando um complexo com a ferroportina e este é internalizado e degradado, impedindo que haja passagem do ferro para o plasma. A maior produção de hepcidina também interfere na transcrição do DMT-1 (transportador de metal divalente 1), impedindo a captação do ferro proveniente da dieta. Fonte: O autor (2018).

### 1.3 Fatores influenciadores da produção da hepcidina

A absorção de ferro pelo intestino depende da demanda do organismo pelo nutriente, que é reflexo de estoques de ferro ou situações específicas onde há aumento ou diminuição da sua necessidade para funções essenciais (NICOLAS et al., 2002). Alguns fatores são capazes de influenciar a síntese de hepcidina, de forma a regular uma menor ou maior absorção de ferro (Figura 2). Os fatores já descritos na literatura são: hipóxia, aumento da eritropoiese, hemólise, sobrecarga de ferro, inflamação e obesidade.

Figura 2 – Fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica.



Em situações em que há maior necessidade de utilização de ferro, há redução na síntese de hepcidina. O oposto acontece em situações onde há sobrecarga ou inflamação. Fonte: O autor (2018).

A hipóxia foi descrita como um fator capaz de promover o aumento da absorção de ferro pelo intestino (RAJA; DUANE; PETERS, 1990), uma vez que a redução de oxigenação dos tecidos estimula a produção de hemácias, fazendo-se necessário um maior aporte de ferro.

Em condições de anemia e em doenças nas quais há um aumento da eritropoiese, como nas doenças hemolíticas, ocorre aumento da necessidade de ferro, que é essencial para a produção de novas células sanguíneas (RAGHUPATHY; MANWANI; LITTLE, 2010). O fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF-15, do inglês: *growth differentiation factor-15*), que é encontrado na medula óssea, relaciona-se negativamente com a hepcidina, sendo um fator que causa sua supressão em casos de eritropoiese ineficaz (FINKENSTED et al., 2009; TANNO; NOEL; MILLER, 2010). Dentro deste mesmo contexto, se insere a avaliação de contagem de reticulócitos, pois este índice indica atividade eritropoiética aumentada, frente a uma situação de anemia hemolítica ou até mesmo a efetividade de tratamentos quimioterápicos (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2004).

Os mecanismos de ação moleculares em condições de hipóxia e anemia são semelhantes. Em situações onde há maior requerimento de ferro, como em casos de eritropoiese aumentada por anemia e hipóxia (Figura 3A), há acúmulo de fatores induzidos pela hipóxia (HIFs), que levam à transcrição do gene da eritropoietina (EPO) (MUCKENTHALER, 2017). A EPO é produzida por células renais e atua na produção de novas células sanguíneas. Dentro do processo eritropoiético, há também produção de

eritroferrona (ERFE), que é um hormônio antagônico à produção da hepcidina, uma vez que inibe a ativação da proteína homóloga decapentaplégica (SMAD), reduzindo a sinalização de síntese de hepcidina (Figura 3 B). Outro fator produzido na eritropoiese é o GDF-15 (fator de diferenciação do crescimento 15), que atua ligando-se ao seu receptor específico, bloqueando a transcrição do gene HAMP (MUCKENTHALER et.al., 2017). No estudo de Fetrin (2011) houve correlação negativa entre a expressão do gene HAMP em monócitos humanos e níveis de GDF-15, sugerindo um efeito regulatório similar ao que ocorre em hepatócitos (Figura 3A).

Na sobrecarga de ferro, o excesso de ferro apresenta potencial de toxicidade celular devido à geração de radicais livres. Nesta condição, a hepcidina apresenta-se aumentada a fim de diminuir a absorção do ferro. Com esse mecanismo é possível reduzir lesões teciduais, que podem acometer funções e órgãos essenciais como fígado e coração (PORTO et al., 2012).

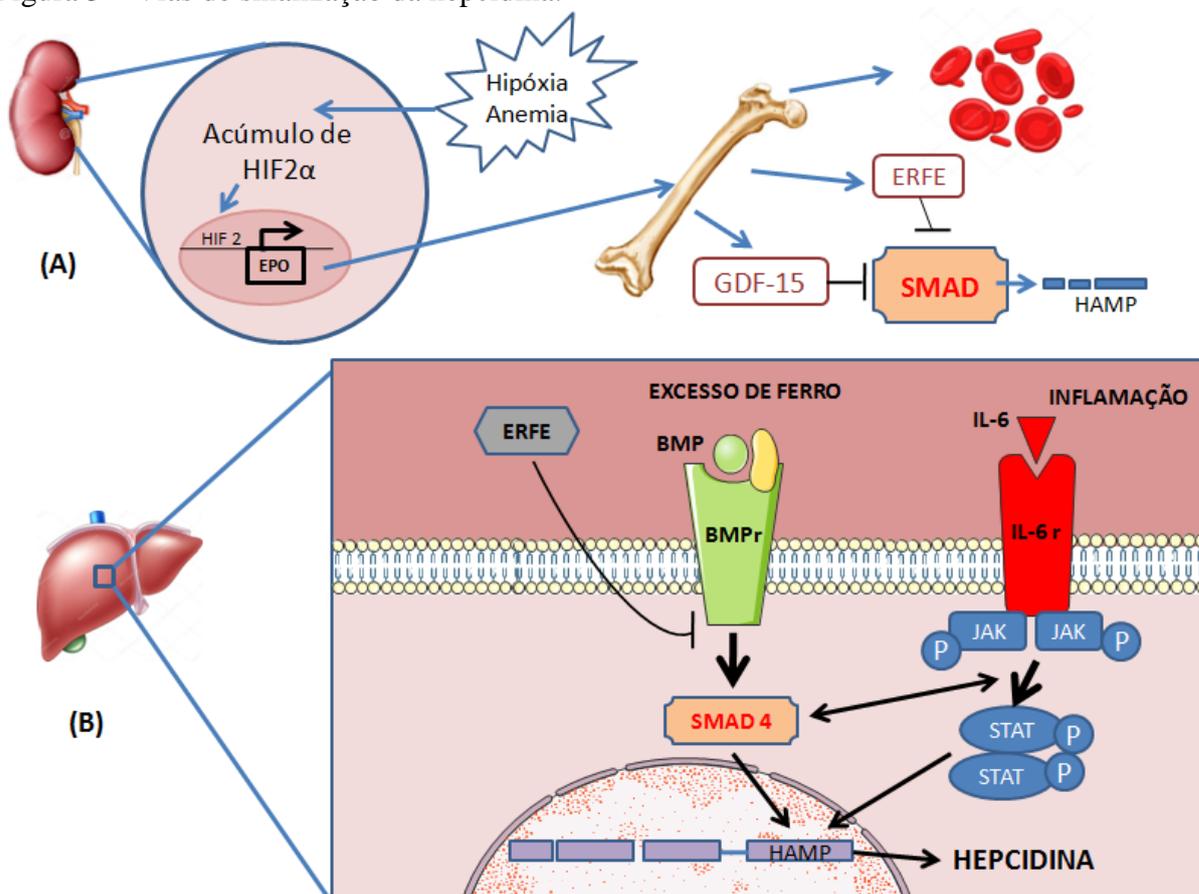
Para situações onde há altos níveis de estoque de ferro (Figura 3 B), a principal via de transcrição do gene HAMP ocorre através da sinalização da proteína morfogenética óssea (BMP) e SMAD. A hemojuvelina (HJ) torna a BMP ativa ligando-se ao seu receptor específico. Posteriormente, a SMAD fosforilada liga-se à região promotora do gene HAMP e induz a transcrição da hepcidina (de DOMENICO et.al., 2007).

Estudo realizado em modelo animal com roedores deficientes em ERFE mostrou que os animais não foram capazes de suprimir hepcidina rapidamente após uma hemorragia e exibem um atraso na recuperação volêmica. Neste mesmo estudo, camundongos transgênicos com talassemia intermediária apresentaram aumento significativo na expressão do gene codificante da ERFE, o que contribuiu para a supressão da hepcidina e aumento de sobrecarga de ferro (KAUTZ et.al., 2014). Thawer e colaboradores (2017) estudaram ERFE e as concentrações séricas de hepcidina em portadores de doença falciforme com e sem sobrecarga de ferro. O grupo sobrecarga apresentou as maiores concentrações séricas de hepcidina e o ERFE apresentou-se em menores concentrações nos participantes sem sobrecarga de ferro. Este resultado sugere que ERFE exerça sua ação sobre a hepcidina a fim de normalizar a produção de novas hemácias e de corrigir a sobrecarga de ferro.

A anemia pode ocorrer por diversos fatores, porém os mais comuns são decorrentes da carência de ferro ocasionada pela baixa ingestão deste nutriente ou em situações de inflamação (anemia da inflamação). Na anemia da inflamação, há mediação por citocinas inflamatórias que interferem diretamente na eritropoiese. Com a liberação de citocinas inflamatórias (como a interleucina-6 [IL-6]), há ativação da via de sinalização JAK/STAT, que atua diretamente na região promotora do gene HAMP, ocasionando o aumento da

transcrição de hepcidina (LEE et al., 2005). Esta via pode ocorrer concomitantemente à via da SMAD, que também irá aumentar a transcrição do gene HAMP (Figura 3B). Desta forma, a IL-6 bloqueia a liberação de ferro pelos macrófagos e reduz a absorção de ferro intestinal (WRIGHTING e ANDREWS, 2006). Pacientes com anemia da inflamação podem cursar com anemia por deficiência de ferro associada, sendo assim, de suma importância análises que diferenciem as situações que levam à anemia, a fim de oferecer o tratamento adequado ao paciente.

Figura 3 – Vias de sinalização da hepcidina.



(A) Situações de anemia e hipóxia levam ao acúmulo de HIF2 em fibroblastos renais e induzem a produção da EPO, a qual induz a eritropoiese na medula óssea e a síntese da ERFE. O GDF-15 também atua bloqueando a transcrição do gene HAMP (B) O aumento da atividade eritropoiética promove a síntese de ERFE, que inativa a via SMAD, reduzindo a transcrição da hepcidina. Em situações onde há excesso de ferro, a ativação de SMAD4 pela BMP induz a transcrição do gene HAMP. A IL-6 induz a transcrição da hepcidina pela via JAK/STAT, ligando-se a região promotora do gene da hepcidina. Fonte: O autor (2018).

A obesidade é uma doença inflamatória crônica, caracterizada pela produção de citocinas inflamatórias, como a IL-6. O estudo de Bekri e colaboradores (2006) avaliou a expressão de hepcidina nos tecidos hepático e adiposo de pacientes adultos com obesidade, diabetes e doença hepática não alcoólica (DHNA), que revelou a expressão da hepcidina não

só no tecido hepático, mas também em tecido adiposo. O grau de obesidade e a inflamação foram diretamente relacionados à expressão do gene HAMP, embora a presença de DHNA e diabetes não tenham sido relacionados.

Estudo *in vitro* mostrou que células hepáticas tratadas com leptina apresentaram aumento na expressão no gene responsável pela transcrição da hepcidina. Em uma outra etapa, onde foi utilizado um inibidor de JAK, houve diminuição significativa desta resposta. Dessa forma, foi sugerido que a leptina aumenta a produção da hepcidina através da via JAK/STAT. Logo, em indivíduos obesos, a ação da leptina pode ser uma grande influenciadora do status de ferro (CHUNG et al., 2007). Andrews e colaboradores (2015) realizaram estudo para determinar a associação entre parâmetros de ferro e inflamação em pessoas obesas com e sem diabetes mellitus tipo 2, e observaram aumento nos níveis séricos de proteína C reativa (PCR-us) e hepcidina e aumento da expressão gênica de TNF- $\alpha$ , IL-6, NF-kB em pacientes com obesidade, diabetes ou ambos, e que essas altas taxas exacerbam o estado inflamatório.

Tendo em vista todos os mecanismos moleculares descritos para a produção de hepcidina, observa-se que todos estes fatores podem estar presentes na doença falciforme e que eles podem exercer influência nas concentrações séricas de hepcidina nesses indivíduos.

#### 1.4 Hepcidina na doença falciforme

O comportamento da hepcidina na doença falciforme ainda não é suficientemente esclarecido, visto que nesta condição são observados fatores que podem aumentar e diminuir sua secreção. O estudo brasileiro de Mendonça (2016) comparou adultos com e sem doença falciforme, subdivididos em 3 grupos: controle (indivíduos saudáveis), DF+SF (pessoas com doença falciforme com sobrecarga de ferro) e DF (pessoas com doença falciforme sem sobrecarga de ferro). Observou-se que a concentração da hepcidina foi maior no grupo DF+SF e que o grupo sem sobrecarga de ferro apresentou concentrações de hepcidina menores do que o controle.

O estudo de Karafin e colaboradores (2015) foi realizado com adultos com anemia falciforme (n=40; *HbSS*) para identificar o fator mais determinante da concentração sérica de hepcidina desses indivíduos. Foram analisados os seguintes parâmetros: hepcidina, idade, gênero, dias a partir de última transfusão, número de transfusões nos últimos 12 meses, eritropoietina (EPO), proteína C reativa ultrasensível (PCR-us), alanina aminotransferase (ALT), taxa de filtração glomerular (TFG), hemoglobina (Hb), ferritina, percentual de

hemoglobina S e percentual de reticulócitos. Foram feitas análises univariadas com a hepcidina e análise da árvore de regressão para estimar a contribuição dos marcadores de atividade eritropoiética (percentual de reticulócitos e eritropoietina), carga de ferro (ferritina) e inflamação (PCR-us) para a concentração sérica de hepcidina. Todos estes marcadores estavam significativamente associados ao nível de hepcidina, sendo a atividade eritropoiética, o preditor mais forte. Os marcadores de lesão tecidual (ALT e TFG) e hemólise (Hb) não apresentaram predição significativa. Indivíduos com baixo percentual de reticulócitos e de concentração de eritropoietina apresentaram os maiores níveis de hepcidina. Alguns aspectos deste estudo dificultam a compreensão sobre quais são os determinantes da hepcidina em indivíduos sem sobrecarga de ferro, pois todos os pacientes sofriam transfusões crônicas e a população de estudo não apresentava subdivisões quanto ao *status* de ferro (valores de ferritina variaram de 20ng/dL a 12.300ng/dL). Além disso, Karafin e colaboradores (2015) fizeram uso de dados obtidos de prontuários eletrônicos em momentos diferentes.

No estudo de Omena e colaboradores (2018), com indivíduos com e sem sobrecarga de ferro, foi observado que há diferença na concentração de hepcidina em função da carga de ferro dos indivíduos. Em condições de sobrecarga de ferro, as concentrações séricas de hepcidina apresentam-se maiores do que as do grupo controle sem a doença. Por outro lado, na condição de anemia falciforme sem sobrecarga de ferro, as concentrações foram inferiores às concentrações do controle. Este dado indica que o metabolismo de ferro na anemia falciforme deve ser necessariamente interpretado levando-se em consideração a presença ou ausência de sobrecarga de ferro.

Um estudo (Nnodim et al., 2015) observou os níveis de hepcidina e eritropoietina em pacientes adultos com anemia falciforme em comparação a um grupo controle saudável. A hepcidina sérica apresentou-se mais elevada no grupo caso, em comparação ao controle. Já a eritropoietina apresentou-se maior no grupo controle, quando comparado aos portadores de anemia falciforme. Os autores sugerem que o aumento da hepcidina pode resultar do intenso estado inflamatório observado nos portadores de anemia falciforme. Porém, o estudo não deixa claro se houve alguma divisão quanto ao *status* de ferro ou histórico de transfusões, o que pode ser um viés para interpretação dos resultados.

Shen e colaboradores (2015), não observaram diferença entre os níveis de hepcidina em adultos portadores de doença falciforme (n=22) e portadores de beta-talassemia (n=18), bem como na comparação desses grupos com um grupo controle saudável (n=15). A hepcidina foi positivamente relacionada com a ferritina e transferrina. Eles realizaram divisão

quanto o número de transfusões, porém há grande variabilidade nos níveis de ferritina (HbSS média  $346.3 \pm 406.9$  e HbS $\beta$  média  $174 \pm 257.7$ )

Byrd e colaboradores (2017) realizaram estudo com crianças (n=435) com genótipos de doença falciforme e/ou alfa-talassemia, além de grupo controle sem a doença, com o objetivo de avaliar as diferenças nas concentrações séricas de hepcidina. No grupo doença falciforme, do total de participantes, apenas 1% era homozigoto (HbSS) e no grupo alfa-talassemia, 7%. A concentração de hepcidina do grupo com hemoglobinopatias apresentou-se maior em comparação ao grupo controle. Observou-se também uma correlação entre hepcidina sérica e ferritina em controles e heterozigotos dos grupos com a doença. Não foi demonstrada a variação de ferritina entre os grupos

Em resumo, outros estudos investigaram as concentrações de hepcidina na DF, porém apresentavam algumas limitações, tais como a não categorização dos grupos quanto a carga de ferro, a não diferenciação dos genótipos da doença falciforme e o uso de faixas etárias não definidas ou muito amplas, além de estudos com número de indivíduos com a doença falciforme muito pequeno. Há também uma polêmica em relação à concentração sérica de ferritina adequada para a classificação de sobrecarga de ferro, onde alguns autores defendem 1000ng/mL como ponto de corte (ANGELUCCI et al., 2008; THURET, 2013) e outros o ponto de corte também utilizado na prática clínica de  $>300\text{ng/mL}$  para homens e  $>200\text{ng/mL}$  para mulheres (WORWOOD, 1997). Desta forma, o presente estudo demonstrou em seus resultados a classificação quanto a sobrecarga de ferro também com os diferentes pontos de cortes para ferritina sérica, a fim de observar como se comportam os resultados nestas diferentes classificações.

## 2 JUSTIFICATIVA

Estudos anteriores haviam investigado os fatores determinantes das concentrações séricas de hepcidina sem categorizar os indivíduos quanto à presença ou ausência de sobrecarga de ferro. Entretanto, de acordo com os dados publicados por Omena et al. (2018), em ambas as condições, as concentrações séricas de hepcidina diferem do controle. Portanto, a presença e a ausência de sobrecarga de ferro não podem ser desconsideradas quando se pretende identificar os fatores determinantes das concentrações séricas de hepcidina. Alguns estudos têm sugerido que a sobrecarga de ferro na AF seja determinante no aumento das concentrações de hepcidina sérica. Entretanto, na ausência de sobrecarga de ferro não há dados, apesar da maioria dos indivíduos com anemia falciforme não apresentar sobrecarga. Há a possibilidade de que, a hemólise, atividade eritropoiética aumentada, anemia e hipóxia reduzam a síntese de hepcidina. Por outro lado, a característica inflamatória da doença e a ocorrência de obesidade são fatores sabidamente capazes de induzir sua síntese.

Sendo assim, é preciso analisar quais são os fatores que exercem maior influência sobre as concentrações séricas de hepcidina em indivíduos com anemia falciforme que não cursam com sobrecarga de ferro. Acreditamos que, a partir dessas informações, será possível obter subsídios para a criação de estratégias clínicas em que o controle destes fatores torne o cuidado mais específico, promovendo melhoria do estado clínico e nutricional dos indivíduos com anemia falciforme que não apresentam sobrecarga de ferro.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Identificar fatores preditores da concentração sérica de hepcidina em indivíduos com AF sem sobrecarga de ferro.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Identificar as variáveis que explicam a menor concentração de hepcidina observada no grupo com AF sem sobrecarga de ferro;
- Relacionar marcadores clínicos e do metabolismo de ferro com a concentração sérica de hepcidina;
- Comparar os resultados das regressões lineares encontrados nos grupos AF e controle.

## 4 MÉTODOS

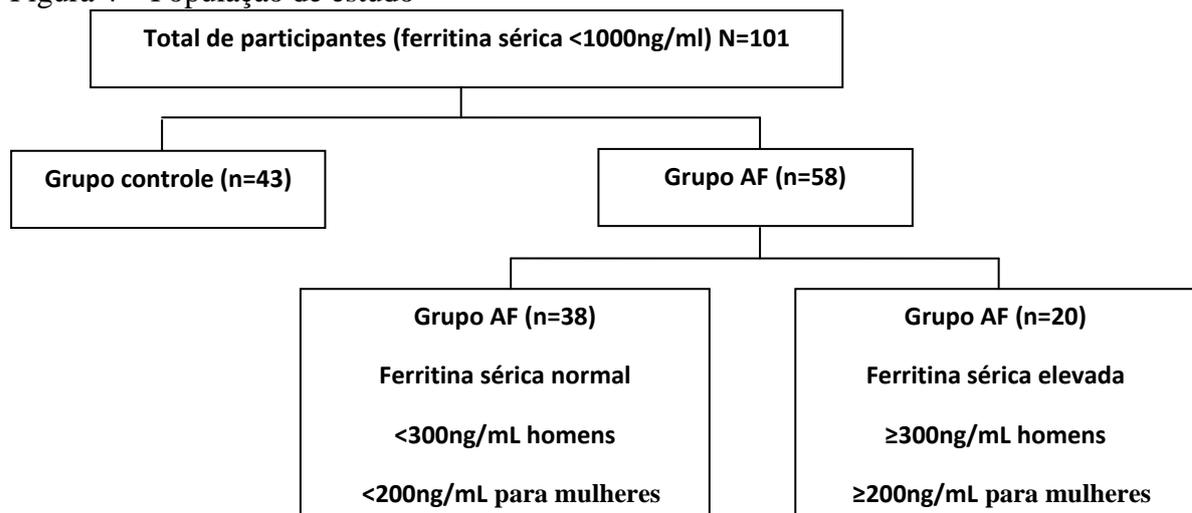
### 4.1 Desenho do estudo

Estudo do tipo descritivo, quantitativo, comparativo e seccional.

### 4.2 População de estudo

Adultos de ambos os sexos, com idade entre 19 e 59 anos, oriundos do setor de hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e do Ambulatório de Anemia Hemolítica de Adultos do Instituto Estadual de Hematologia Arthur Siqueira Cavalcanti (HEMORIO). Os indivíduos foram avaliados entre os anos de 2014 e 2016, totalizando 58 participantes, os quais foram selecionados de forma a garantir a ausência de sobrecarga de ferro, através do ponto de corte  $<1000\text{ng/mL}$  para concentração sérica de ferritina (ANGELUCCI et al., 2008; THURET, 2013). Posteriormente, este mesmo grupo foi subdividido quanto a outro ponto de corte para sobrecarga ( $\geq 300\text{ng/mL}$  para homens e  $\geq 200\text{ng/mL}$  para mulheres - WORWOOD, 1997). Foram recrutados também voluntários saudáveis para compor o grupo controle, com o total de 43 participantes.

Figura 4 – População de estudo



Para estarem aptos a participar do estudo, os voluntários deveriam estar aptos a comparecer aos locais solicitados para a realização dos exames e atendessem a faixa de idade pré-estabelecida. Para indivíduos sem a doença falciforme, a ferritina sérica deveria

apresentar-se maior que 10 ng/mL para mulheres e maior que 20 ng/mL para homens. Foram excluídos do estudo participantes com doença falciforme que tivessem sido hospitalizados e/ou realizado transfusões nos últimos 15 dias anteriores à avaliação, indivíduos do grupo sem doença falciforme que apresentassem com traço falcêmico ou de outras hemoglobinopatias, outras doenças hematológicas e/ou que fizessem o uso de medicamentos para tratamento de diabetes e hipo/hipertireoidismo. As gestantes de ambos os grupos também foram excluídas.

### **4.3 Aspectos éticos**

Todos os participantes foram esclarecidos sobre os objetivos da pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, ficando de posse de uma via assinada pelos responsáveis pela pesquisa. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto sob o parecer de número 758.174 (Anexo 1) e no Comitê de Ética do Hemorio sob o parecer de número 391/15 (Anexo 2). Todos os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexos 3, 4 e 5), conforme a Resolução nº 466/2011 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) (BRASIL, 2012).

### **4.4 Desenho de estudo**

Os participantes foram convidados a participar, tendo sido esclarecido o objetivo e todas as etapas do estudo. Os indivíduos que aceitaram participar receberam o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), que foi lido e assinado em duas vias de igual teor, onde uma ficou em posse do participante e outra com a equipe de pesquisadores. Solicitou-se que o indivíduo realizasse um jejum de 12h anteriores ao horário da coleta.

No Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional (Instituto de Nutrição da UERJ), foram realizadas as seguintes etapas do estudo: coleta de sangue e preenchimento de ficha clínica contendo dados pessoais como identificação, telefone para contato, endereço residencial, data de nascimento e cor de pele/etnia auto-referida. A ficha clínica também continha perguntas sobre a história clínica do indivíduo, dados hematológicos, dados antropométricos e dietéticos (Anexos 6 e 7).

### **4.5 Análises Laboratoriais**

Para as análises laboratoriais o sangue foi coletado em um tubo contendo EDTA e outro contendo gel separador, objetivando a obtenção dos seguintes indicadores: hemograma

completo, percentual de HbS, contagem de reticulócitos, dosagens de lactato desidrogenase (LDH), proteína C-reativa ultrasensível (PCR us), hemoglobina fetal (HbF), interleucina-6 (IL-6), ferro sérico, ferritina, hepcidina, fator de diferenciação do crescimento (GDF-15), capacidade total de ligação do ferro (TIBC) nos participantes com e sem a doença falciforme (Quadro 1).

Quadro 1 - Exames realizados de acordo com os fatores determinantes da concentração de hepcidina sérica.

Fator determinante	Exames
Hipóxia	Hemoglobina Hemácias
Anemia	Hemácias CTLF Ferro sérico
Eritropoiese aumentada	GDF-15 Reticulócitos
Hemólise	LDH
Sobrecarga de ferro	Ferritina IST
Inflamação	IL-6 Leucócitos
Obesidade	IMC

Os métodos aplicados variaram de acordo com os exames: para o hemograma completo foi utilizado contador automatizado Horiba Pentra 60 C+ (Horiba®); a contagem de reticulócitos foi feita por coloração com azul de crezil brilhante; a concentração de LDH foi obtida empregando-se o método de cinética contínua em ultravioleta; o PCR-us analisado por nefelometria; hemoglobina fetal empregou-se a cromatografia líquida de alta eficiência por troca iônica; ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro usou-se método colorimétrico; ferritina, interleucina-6, hepcidina e GDF-15 utilizou-se o método imunoenzimático (ELISA).

As amostras coletadas em tubo contendo gel separador foram centrifugadas a 700 x g, durante 10 minutos, aliqüotadas em microtubos e congelados em freezer à -80°C. Esses tubos foram levados para o Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), onde foram feitas as análises, perfil eletroforético, contagem de reticulócitos, lactato desidrogenase e proteína C reativa ultra sensível. Os ensaios imunoenzimáticos foram realizados no Laboratório de Bioquímica Nutricional do Instituto de Nutrição da UERJ.

#### 4.6 Avaliação antropométrica

Após a coleta de sangue, foram obtidas as medidas antropométricas de massa corporal (kg) e altura (m). A massa corporal foi aferido utilizando balança eletrônica da marca Filizola®, modelo Personal, calibradas e com capacidade para 150 Kg. Os participantes se posicionaram em pé e no centro da balança, sem os sapatos, acessórios e adornos que pudessem interferir na medida. Enquanto a altura foi obtida por meio do estadiômetro de parede com escala em alumínio, de 2,20 metros, da marca Tonelli para os pacientes atendidos no HUPE, e, para os indivíduos que compõem o grupo sem a doença, foi utilizado o estadiômetro de parede do tipo compacto, de 2,20 metros, da marca Seca. Todos foram colocados em pé, descalços ou com meias e de costas para o estadiômetro, com a visão voltada para o horizonte, corpo ereto, braços alinhados ao troco, pés para frente e calcanhares unidos. Após a descida do cursor, o participante se afastou e foi feita a leitura em metros e centímetros. A partir do peso e da altura foi realizado o cálculo do índice de massa corporal (IMC), pela divisão do peso (em kg) pela altura ao quadrado ( $m^2$ ), obtendo-se o resultado expresso em  $Kg/m^2$ . A classificação do IMC foi realizada pelos valores de referência para adultos, proposta pela Organização Mundial da Saúde em 1995 (Quadro 2).

Quadro 2 - Valores de referência do Índice de Massa Corporal propostos pela Organização Mundial de Saúde.

Classificação do IMC	IMC ( $kg/m^2$ )
Baixo peso	< 18,50
Adequado	18,50 a 24,99
Sobrepeso	25,00 a 29,99
Obesidade	$\geq 30,00$

Fonte: Adaptado de OMS, 1995.

#### 4.7 Financiamento

O presente estudo integra uma das linhas de pesquisa do Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL), tendo financiamento do Ministério da Saúde.

#### 4.8 Análise estatística

As variáveis contínuas foram testadas quanto a normalidade empregando o teste de Komolgorov-Smirnov. A análise descritiva foi apresentada como mediana e valores dos

percentis 25 e 75. As variáveis categóricas foram expressas frequência (%) de acordo com o grupo: controle ou anemia falciforme. A comparação entre grupos foi realizada pelo teste de Mann-Whitney para amostras independentes. Foi realizado teste qui-quadrado para comparação e diferença estatística entre as variáveis categóricas.

O coeficiente de correlação de Spearman foi empregado para avaliar a associação entre as variáveis contínuas. Posteriormente foi utilizada a análise de Regressão Linear (RL) com pós-teste de *backward*, com objetivo de identificar as variáveis determinantes da concentração plasmática de hepcidina. Para a realização desta análise foi necessário a conversão das variáveis para a base Log10. O sexo, a idade e o IMC foram empregados como variáveis de ajuste, pois exercem influência direta sobre a concentração plasmática de hepcidina (CANÇADO e CHIATTONE, 2010; ZIMMERMANN et al., 2008). A cor da pele dos participantes também foi utilizada como variável de ajuste, uma vez que não era pareada entre os grupos, e por se conhecer que a doença falciforme apresenta-se, em sua maioria, em pessoas negras (pretos/pardos) (FRY, 2005). As variáveis testadas para predição da hepcidina foram selecionadas de acordo com citações em estudos anteriores, pelo fato de alterarem diretamente ou indiretamente a concentração de hepcidina. Por este motivo foram aplicadas para o teste de RL as variáveis: Hemoglobina (Hb), Hemácias (Hm), Hematócrito (Ht), Capacidade total de ligação de ferro (CTLF) ferro sérico (Fe), Ferritina (Ft), Índice de saturação da transferrina (IST), Lactato desidrogenase (LDH), Interleucina-6 (IL-6) e leucócitos (Leuc).

As variáveis: hemácias, hemoglobina e hematócrito apresentaram elevado valor de colinearidade ( $VIF > 20$ ), sendo assim, o percentual do hematócrito foi selecionado para compor o modelo estatístico por apresentar melhor correlação com o desfecho do que os demais.

Foi considerado como significância o valor de  $p \leq 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas através do software SPSS (versão 17.0, IBM-USA).

## 5 RESULTADOS

Para o presente estudo, foram avaliados 101 participantes, dos quais 58 fizeram parte do grupo anemia falciforme sem sobrecarga de ferro (AF) e 43 participantes compuseram o grupo controle (CONT), sem a doença. As características gerais dos participantes podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1 - Características gerais dos participantes do estudo

Variáveis		Grupo controle (n=43)	Grupo anemia falciforme (n=58)	p-valor
Idade (mediana; P25-P75)		26 (23-38)	27(23-38)	0,096
Sexo (n, %)	Masculino	18 (42)	35 (58)	0,001
	Feminino	25 (58)	23 (42)	0,098
Cor/raça (n,%)	Branco	24 (56)	2 (4)	0,0001
	Preto/pardo	18 (42)	56 (96)	0,0001
	Amarelo/indígena	1 (2)	0	0,154
IMC (mediana; P25-P75)		24,6 (21,8-27,0)	20,6 (18,7-23,8)	0,002
Baixo peso (n,%)		1 (2)	11 (19)	0,0001
Eutrofia (n,%)		21 (49)	37 (64)	0,007
Sobrepeso (n,%)		16 (37)	8 (14)	0,0001
Obesidade (n,%)		5 (12)	2 (3)	0,041

Resultados apresentados como mediana (P25-P75) para idade e Índice de massa corporal (IMC). Para sexo, cor/raça e faixas de IMC, resultados expressos em percentual. Valores de significância (p-valor) obtidos através do teste U de Mann-Whitney de amostras independentes. Teste Qui-quadrado para diferença estatística entre os valores percentuais. Valor de significância:  $p < 0,05$ .

A mediana da idade dos participantes dos grupos foi similar, sendo que, para o grupo controle a maioria dos participantes era do sexo masculino e para o grupo AF, a maioria dos participantes era do sexo feminino. Quanto à variável cor/raça, a maioria dos participantes do grupo controle, se auto-declarou como branca. Já no grupo AF, quase em sua totalidade, os participantes se auto-declararam como pretos/pardos.

Para o IMC, observou-se que os grupos apresentaram, em sua maioria, indivíduos classificados como eutróficos, porém notou-se um percentual maior de participantes com baixo peso no grupo AF. Já no grupo CONT, notou-se um percentual maior de pessoas com sobrepeso quando comparado ao grupo AF.

Os resultados dos exames bioquímicos de ambos os grupos estudados estão apresentados na tabela 2.

Todas as variáveis, exceto o ferro sérico, foram diferentes entre os grupos. No grupo controle, foram observados valores maiores de hemácias, hemoglobina, hematócrito, hepcidina e CTLF. Já no grupo AF, foram observados valores maiores de leucócitos, ferritina, LDH, IST, GDF-15 e IL-6.

Para identificar as variáveis determinantes da concentração de hepcidina sérica, foi realizada a análise de regressão linear, com a opção de análise por *backward*, cujos resultados foram apresentados na tabela 3.

Tabela 2 - Comparação dos resultados dos exames laboratoriais dos participantes do grupo controle e do grupo anemia falciforme

Exames laboratoriais	Grupo controle		Grupo anemia falciforme		p-valor	Referência
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75		
Hemácias (M/mm <sup>3</sup> )	4,77	4,39-5,18	2,44	2,13-2,77	0,0001	H: 4,64-4,84 / M: 4,05-5,25
Hemoglobina (g/dL)	13,50	12,80-14,70	8,15	7,20-9,40	0,0001	H:14,3-18,3 / M:12,3-15,7
Hematócrito (%)	40,10	38,70-44,10	24,35	21,67-28,30	0,0001	H:24,5-52,9 / M:37,6-46,3
Hepcidina (ng/mL)	7,20	5,60-11,60	4,20	2,20-7,77	0,0001	ND
Ferritina (ng/mL)	29,80	17,10-68,50	167,80	60,25 - 436,27	0,0001	H:20-299 / M:10-199
Ferro sérico (mg/dL)	105,00	69,00-129,00	111,50	92,00- 146,75	0,069	H:30-200 / M:20-110
CTLF (µg/dL)	333,00	301,00-383,00	293,00	244,75-349,00	0,002	250-450
IST (%)	31,40	20,50-41,80	38,40	29,31-58,00	0,001	20-50
LDH (U/L)	349,00	293,00-391,00	894,00	596,50- 1328,50	0,0001	115-225
GDF-15 (pg/mL)	504,80	396,00- 652,40	1227,35	593,72 -1496,67	0,0001	ND
IL-6 (pg/mL)	0,00	0,00- 2,50	3,65	2,40-8,30	0,0001	ND
Leucócitos (x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	5,80	4,90-6,60	10,70	7,20-13,70	0,0001	4,4 – 11,3

Resultados são expressos como mediana (P25–P75). P-valor obtido pelo teste Mann-Whitney U. Grupos Anemia Falciforme (AF) e Grupo controle (CONT). Capacidade total de ligação de ferro (CTLF); Lactato desidrogenase (LDH); Índice de saturação da transferrina (IST); Fator de diferenciação do crescimento-15(GDF-15); Interleucina-6 (IL-6). Valor de mediana para IL-6 zerado, no grupo controle, significa valor abaixo do nível de detecção. Siglas: H (homens); M (mulheres); ND (não determinado).

Tabela 3 - Análise de regressão linear para identificação das variáveis determinantes da concentração de hepcidina sérica, nos grupos controle e anemia falciforme.

Variáveis	Grupo controle			
	$\beta$	IC (P25-P75)	<i>p</i>	R <sup>2</sup>
Ferritina	0,220	0,042/0,397	0,018	0,625
Hematócrito	1,976	0,167/3,785	0,034	
Variáveis	Grupo anemia falciforme			
	$\beta$	IC (P25-P75)	<i>p</i>	R <sup>2</sup>
Ferritina	0,430	0,316 / 0,543	0,0001	0,793
LDH	-0,634	-0,847 / -0,421	0,0001	
CTLF	-0,269	-0,581 / 0,043	0,088	
Reticulócitos	-0,351	-0,566 / -0,135	0,002	

Regressão linear multivariada, método *backward*. Variável dependente: Hpcidina. Variáveis incluídas na análise: hemácias, hemoglobina, hematócrito, CTLF, ferro sérico, ferritina, IST, GDF-15, reticulócitos, LDH, leucócitos e IL-6. Variáveis de ajuste: Sexo, cor, IMC e idade. Índice de saturação da transferrina (IST); Capacidade total de ligação de ferro (CTLF); Interleucina-6 (IL-6); Lactato desidrogenase (LDH) e Fator de diferenciação do crescimento-15 (GDF-15); Intervalo de confiança (IC). P-valor: <0,05.

As variáveis que se apresentaram como influenciadoras na concentração de hepcidina sérica para o grupo controle foram a ferritina ( $p = 0,018$ ) e o hematócrito ( $p = 0,034$ ). Enquanto, para o grupo anemia falciforme foram a ferritina ( $p = 0,0001$ ), o LDH ( $p = 0,0001$ ), a CTLF ( $p = 0,088$ ) e reticulócitos ( $p = 0,002$ ).

A caracterização de sobrecarga de ferro na AF costuma utilizar a concentração de ferritina sérica de 1000ng/mL como ponto de corte (ANGELUCCI et al., 2008; THURET, 2013). Entretanto, há também outro ponto de corte utilizado na prática clínica. Sendo assim, foi realizada análise de regressão linear subdividindo-se o grupo AF com base nos seguintes valores para classificação de ferritina sérica elevada:  $\geq 300$ ng/mL para homens e  $\geq 200$ ng/mL para mulheres (WORWOOD, 1997). Foram realizadas, portanto, novas análises estatísticas para esses subgrupos (ferritina normal e ferritina elevada). A análise dos parâmetros bioquímicos está demonstrada na tabela 4 e os resultados da análise de regressão linear dos dois subgrupos, encontram-se descritos na tabela 5.

Tabela 4 - Comparação dos resultados dos exames laboratoriais dos participantes do grupo anemia falciforme para classificação de sobrecarga de ferro (ferritina sérica elevada:  $\geq 300\text{ng/mL}$  para homens e  $\geq 200\text{ng/mL}$  para mulheres WORWOOD, 1997)

Exames laboratoriais	AF + ferritina normal		AF+ ferritina elevada		p-valor
	Mediana	P25-P75	Mediana	P25-P75	
Hemácias ( $\text{M/mm}^3$ )	2,49	2,12-2,89	2,30	2,13-2,59	0,462
Hemoglobina (g/dL)	8,30	7,20-9,40	8,05	7,12-9,27	0,782
Hematócrito (%)	24,75	21,22-28,62	24,20	22,15-28,07	0,782
Hepcidina (ng/mL)	2,55	1,70-4,20	9,80	7,15-16,72	<b>0,0001</b>
Ferritina (ng/mL)	75,80	46,15-164,50	530,35	419,47-693,70	<b>0,0001</b>
Ferro sérico (mg/dL)	114,00	92,00-148,00	104,50	91,25-147,00	0,782
CTLF ( $\mu\text{g/dL}$ )	320,00	260,50-370,25	272,50	221,25-327,50	0,081
IST (%)	37,05	27,60-56,10	45,75	30,25-61,30	0,782
LDH (U/L)	1027,50	692,00-1582,00	671,50	352,00-999,75	0,053
GDF-15 (pg/mL)	1227,35	624,75-1548,75	1412,40	671,70-1568,70	0,205
IL-6 (pg/mL)	3,550	2,60-9,35	4,00	2,20-5,50	0,914
Leucócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	10,25	7,27-12,12	11,90	7,00-15,50	0,159
Reticulócitos ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	8,70	4,85-14,52	7,40	5,47-10,20	0,759

Resultados são expressos como mediana (P25–P75). P-valor obtido pelo teste Mann-Whitney U. Grupos Anemia Falciforme (AF) e Grupo controle (CONT). Capacidade total de ligação de ferro (CTLF); Lactato desidrogenase (LDH); Índice de saturação da transferrina (IST); Fator de diferenciação do crescimento-15(GDF-15); Interleucina-6 (IL-6).

Na comparação dos parâmetros bioquímicos dos grupos ferritina normal e ferritina elevada para a classificação de WORWOOD (1997), foram observados valores com diferença estatística para ferritina ( $p=0,0001$ ), como já era esperado pela separação dos grupos quanto a este parâmetro, e também para hepcidina ( $p=0,0001$ ). Apesar de não apresentar diferença estatística, o valor de LDH aproximou-se do valor de significância ( $p=0,053$ ).

Tabela 5 - Análise de regressão linear multivariada para identificação de determinantes da concentração de hepcidina sérica para o grupo anemia falciforme com ferritina normal e elevada

Adultos com anemia falciforme e ferritina normal (n=38)				
Variáveis	$\beta$	IC (P25-P75)	p	R <sup>2</sup>
Ferritina	0,458	0,279/0,285	0,0001	
LDH	-0,659	-1,028/-0,289	0,001	0,601
Reticulócitos	-0,481	-0,548/-0,074	0,013	
Adultos com anemia falciforme e ferritina elevada (n=20)				
Variáveis	$\beta$	IC (P25-P75)	p	R <sup>2</sup>
Reticulócitos	-0,410	-0,620/-0,199	0,0001	
Ferritina	0,457	0,346/0,569	0,0001	0,781
LDH	-0,709	-0,953/ -0,465	0,0001	

Regressão linear multivariada, método *backward*. Variável dependente: Hepcidina. Variáveis incluídas na análise: hemácias, hemoglobina, hematócrito, CTLF, ferro sérico, ferritina, IST, GDF-15, LDH, reticulócitos, leucócitos e IL-6. Variáveis de ajuste: Sexo, cor, IMC e idade. Índice de saturação da transferrina (IST); Capacidade total de ligação de ferro (CTLF); Interleucina-6 (IL-6); Lactato desidrogenase (LDH); Fator de diferenciação do crescimento-15 (GDF-15); Intervalo de confiança (IC). P-valor:  $<0,05$ . Ferritina sérica elevada:  $>300\text{ng/mL}$  para homens e  $>200\text{ng/mL}$  para mulheres (WORWOOD, 1997).

Para o subgrupo AF com ferritina normal, os determinantes da concentração de hepcidina sérica foram a ferritina ( $p=0,0001$ ), o LDH ( $p=0,001$ ) e os reticulócitos ( $p=0,013$ ). Para o subgrupo AF com ferritina elevada, as variáveis determinantes foram reticulócitos ( $p=0,0001$ ), ferritina ( $p=0,0001$ ) e LDH ( $p=0,0001$ ).

Apesar da concentração de hepcidina sérica mediana do grupo AF ter sido menor do que o controle (tabela 2), a ferritina apresentou-se como preditora da concentração de hepcidina, correlacionando-se de forma positiva. Portanto, foi realizada uma nova análise de regressão linear, objetivando identificar as variáveis predictoras da concentração de ferritina. Os resultados desta análise podem ser observados na tabela 6.

Tabela 6. Análise de regressão linear para avaliação das variáveis determinantes da concentração de ferritina sérica

<b>Grupo controle</b>				
<b>Variáveis</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b>IC (P25-P75)</b>	<b>P</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Hepcidina	0,261	0,495/1,580	0,001	0,701
<b>Grupo anemia falciforme</b>				
<b>Variáveis</b>	<b><math>\beta</math></b>	<b>IC (P25-P75)</b>	<b>P</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
Hepcidina	1,467	1,109/1,825	0,0001	
LDH	0,933	0,402/1,464	0,001	0,650
Reticulócitos	0,604	0,200/1,008	0,005	

Regressão linear multivariada, método *backward*. Variável dependente: ferritina sérica. Variáveis incluídas na análise: hemácias, hemoglobina, hematócrito, hepcidina, CTLF, ferro sérico, ferritina, IST, GDF-15, LDH, leucócitos e IL-6. Variáveis de ajuste: Sexo, cor, IMC e idade. Índice de saturação da transferrina (IST); Capacidade total de ligação de ferro (CTLF); Interleucina-6 (IL-6); Lactato desidrogenase (LDH); Fator de diferenciação do crescimento-15 (GDF-15); Intervalo de confiança (IC). P-valor: <0,05.

A variável que explica a concentração de ferritina sérica no grupo controle foi a hepcidina ( $p=0,001$ ). Já para o grupo AF, os determinantes foram a hepcidina ( $p=0,0001$ ), LDH ( $p=0,001$ ) e os reticulócitos ( $p=0,005$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Conhecer o metabolismo do ferro na anemia falciforme é importante para o adequado acompanhamento clínico e controle da progressão da doença, uma vez que a homeostase desse mineral precisa ser finamente regulada para evitar sua deficiência e/ou seu excesso. Dentro deste contexto, a hepcidina, hormônio regulador do metabolismo de ferro, apresenta-se como marcador chave para o entendimento dessa homeostase. No estudo de Omena e colaboradores (2018), observou-se que o grupo de indivíduos adultos com AF sem sobrecarga de ferro apresentou concentrações séricas de hepcidina inferiores ao grupo controle. Por outro lado, o grupo composto por adultos com AF e com sobrecarga de ferro apresentou as maiores concentrações séricas de hepcidina, quando comparado com o grupo sem sobrecarga de ferro e com o grupo controle. Estes dados reforçam a idéia de que, na doença falciforme, o metabolismo de ferro precisa ser estudado considerando-se a presença e a ausência de sobrecarga de ferro.

Embora não existam números oficiais, a maioria dos indivíduos com doença falciforme (aproximadamente 70%<sup>1</sup>) atendidos pelo Hemorio não apresenta sobrecarga de ferro. Apesar disso, há uma lacuna no conhecimento científico a respeito das características hematológicas deste grupo. No presente estudo, procurou-se identificar os fatores determinantes da concentração sérica de hepcidina no grupo de pessoas com AF sem sobrecarga de ferro. A redução da hepcidina neste grupo parece desempenhar um papel protetor para que o indivíduo não apresente quadro de anemia ainda mais severa. Logo, levantou-se a hipótese de que os eventos fisiológicos que estariam influenciando a redução da hepcidina neste grupo seriam a hemólise (identificada pelo marcador LDH), a atividade eritropoiética ineficiente (GDF-15) e a anemia (hemácia, hemoglobina, hematócrito).

Os participantes dos grupos apresentaram médias de idade semelhantes. Para o IMC, ambos os grupos se inseriram na faixa de eutrofia. Porém foi possível observar um percentual maior de participantes classificados em sobrepeso/obesidade no grupo controle e um percentual maior de indivíduos classificados como baixo peso no grupo AF. O baixo peso em indivíduos com AF foi observado em alguns estudos, que detectaram déficit no desenvolvimento corporal, na maturação óssea e na maturação sexual (ZEMEL et.al., 2007; KAWCHAK et.al., 2007), uma vez que a doença cursa com alto catabolismo, demanda metabólica elevada derivada da hemólise crônica e da inflamação, déficit que pode repercutir até a vida adulta. O cuidado nutricional específico e minucioso é de extrema importância, pois

as carências nutricionais podem afetar ainda mais o quadro clínico a curto, médio e longo prazo (AL SAQLADI et.al., 2008). Na análise de regressão, o IMC foi utilizado como variável de ajuste, uma vez que a obesidade tem um perfil pró-inflamatório e influencia a produção de hepcidina e o status corporal de ferro (ZIMMERMANN et al., 2008). Estudo de Andrews e colaboradores (2015), mostrou que níveis elevados de proteína C-reativa, de hepcidina e o aumento da expressão gênica de TNF- $\alpha$ , IL-6, NF-kB em pacientes com obesidade exacerbam o estado inflamatório.

As variáveis idade e sexo também foram utilizadas como variáveis de ajuste, visto que estas características podem ter reflexo no metabolismo do ferro (CANÇADO e CHIATTONE, 2010). Como os grupos foram heterogêneos quanto à cor/raça, também foi necessária a realização do ajuste dos grupos para esta variável, além do fato de a anemia falciforme se apresentar com maior frequência na população afrodescendente (FRY, 2005).

No presente estudo, o grupo controle apresentou maiores concentrações de hepcidina quando comparado ao grupo com anemia falciforme. Isso corrobora com o estudo de Fertrin e colaboradores (2011), que analisou participantes com  $\beta$ -talassemia intermediária, anemia falciforme, anemias hemolíticas, anemia megaloblástica e voluntários saudáveis. O grupo AF apresentou níveis mais baixos de hepcidina em comparação ao grupo controle. Assim como no estudo de Fertrin e colaboradores (2014), a ferritina correlacionou-se fortemente com a concentração de hepcidina nos grupos estudados. Fertrin e colaboradores (2014) não separou os grupos de acordo com a presença ou não de sobrecarga de ferro (ferritina > 1000 ng/mL). No presente estudo, todos os indivíduos apresentavam concentrações séricas de ferritina inferiores a 1000 ng/mL. Apesar disso, observamos que os valores de ferritina foram diferentes entre os grupos, tendo o grupo AF apresentado valores superiores ao controle. Em nosso estudo, a análise de regressão mostrou que a ferritina foi determinante da concentração de hepcidina sérica no grupo AF ( $\beta = 0,430$ ;  $p = 0,0001$ ) e no grupo controle ( $\beta = 0,220$ ;  $p = 0,018$ ).

Em indivíduos saudáveis, as concentrações de ferritina sérica refletem os estoques de ferro corporal e sua determinação na prática clínica é muito utilizada no diagnóstico de deficiência de ferro. Porém, na anemia falciforme, ocorrem situações um tanto quanto ambíguas. Estudos de Weiss (2005) e Katodritou e Christakis (2006) mostraram que as citocinas inflamatórias IL-1 e a IL-6 modulam a tradução de ferritina. Portanto, em condições de inflamação crônica, a ferritina pode não refletir clinicamente os estoques de ferro. Por este motivo, subdividimos o grupo AF com base nos seguintes valores para classificação de ferritina sérica elevada:  $\geq 300$ ng/mL para homens e  $\geq 200$ ng/mL para mulheres

(WORWOOD, 1997). Os resultados da análise de regressão linear mostram que em ambos os subgrupos a LDH apresenta-se como preditora da concentração de hepcidina, mesmo corrigindo pela inflamação.

No estudo realizado por Karafin e colaboradores (2015), a ferritina foi o segundo maior influenciador da produção do hormônio em pessoas com AF. Entretanto, o grupo com anemia falciforme incluiu pessoas com e sem sobrecarga de ferro, havendo uma grande variação nos valores de ferritina sérica (de 20 a 12.400 ng/mL).

Omena e colaboradores (2018) observaram que as concentrações de hepcidina sérica foram inferiores pessoas com AF sem sobrecarga de ferro e superiores no grupo com sobrecarga quando comparadas às concentrações do grupo controle, sem anemia falciforme. Desta forma, tornou-se evidente a necessidade de distinção da sobrecarga de ferro para interpretação dos resultados.

O estudo de Ryan e colaboradores (2018) buscou esclarecer a causa da hiperferritinemia na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) atribuída à inflamação. Observaram que apesar dos altos níveis de ferritina serem associados aos marcadores de lesão hepática e a resistência à insulina, a hepcidina sérica e o ferro hepático (avaliado por ressonância magnética) foram os mais fortes preditores dos níveis de ferritina. O presente estudo também procurou identificar se a ferritina das pessoas com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro estaria sendo influenciada pelo estoque de ferro ou pela inflamação inerente à doença (tabela 6). Verificou-se que a concentração de ferritina foi influenciada pela hepcidina sérica nos dois grupos do estudo (CONT:  $\beta = 0,0,261$  -  $p = 0,001$ ; AF:  $\beta = 1,467$  -  $p = 0,0001$ ), sendo que no grupo AF, além da hepcidina, o LDH ( $\beta = 0,933$  -  $p = 0,001$ ) e os reticulócitos ( $\beta = 0,604$  -  $p = 0,005$ ) também se mostraram como influenciadores das concentrações de ferritina, corroborando com a ideia de que a intensa hemólise possa estar promovendo o aumento da ferritina. Na comparação dos exames laboratoriais (tabela 4), observa-se o aumento da hepcidina no grupo com a ferritina elevada, o que corrobora com os achados de estudos anteriormente citados a respeito dessa íntima relação entre hepcidina e ferritina.

No presente estudo na comparação entre os grupos, a CTLF apresentou-se maior no grupo controle, sugerindo que em indivíduos saudáveis, este parâmetro reflete a necessidade de ferro e seus estoques. Apesar da CTLF aumentar em condições de deficiência de ferro, ela pode ser reduzida na presença de quadro inflamatório (COOK et.al., 1992). O grupo anemia falciforme apresentou menores concentrações plasmáticas de CTLF e maiores concentrações plasmáticas de parâmetros ligados à inflamação (IL-6 e leucócitos), que conseqüentemente poderia influenciar nas concentrações de hepcidina. Na análise de regressão, corrigindo para

inflamação, a CTLF apresentou-se no modelo final da regressão para o grupo AF, porém não apresentou significância estatística.

A comparação do hematócrito e da hemoglobina entre os grupos AF e controle, são compatíveis com o quadro de anemia presente na doença, já que nas anemias hemolíticas há redução desses parâmetros devido à diminuição da meia vida dos eritrócitos pela hemólise (BRASIL, 2002). A análise de regressão apontou o hematócrito como influenciador positivo da concentração de hepcidina no grupo controle ( $\beta = 1,976$ ;  $p = 0,034$ ). Isso se deve ao fato de que em situações de anemia, a hepcidina apresenta-se diminuída para que haja uma maior absorção de ferro e em casos de aumento do estado corporal de ferro ou em situações de inflamação, as concentrações de hepcidina sejam maiores a fim de diminuir a absorção de ferro. Este é um mecanismo fisiológico essencial para homeostase de ferro e é esperado que em pessoas saudáveis, ocorra normalmente. Apesar de ser um parâmetro importante no manejo da doença, não há estudos que mostrem a sua relação com a hepcidina em pessoas com AF que não apresentem sobrecarga de ferro.

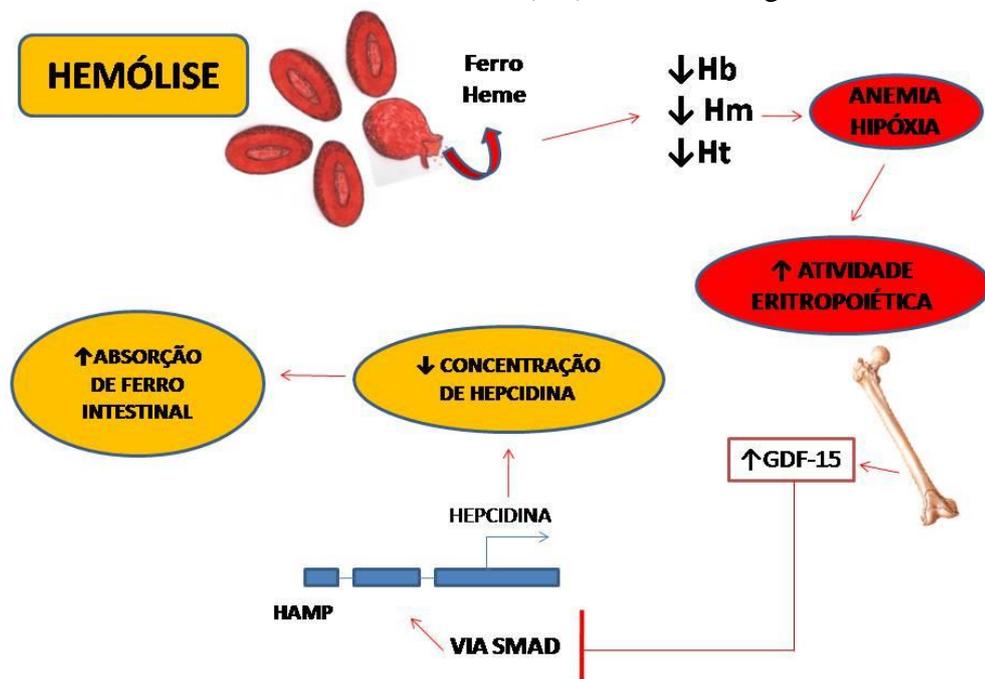
No grupo AF, o LDH e os reticulócitos foram considerados como determinante da concentração da hepcidina ( $\beta = -0,712$ ;  $p = 0,0001$  e  $\beta = -0,351$ ;  $p = 0,002$ , respectivamente). Este dados, em conjunto com outros dados desta dissertação (tabela 2), corroboram com a hipótese de que a hemólise, por ocasionar anemia e hipóxia (hemácia, hemoglobina e hematócrito), possa aumentar a atividade eritropoiética (GDF-15) e reduzir a hepcidina. Embora as concentrações séricas do fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF-15) tenham sido maiores no grupo AF em comparação ao grupo controle, ele não foi identificado como variável determinante da concentração de hepcidina em nenhuma das análises de regressão realizadas, corroborando com os dados de Sayani e colaboradores (2008). No estudo de Karafin e colaboradores (2015), em que os indivíduos com e sem sobrecarga de ferro foram analisados conjuntamente, o maior determinante da concentração da hepcidina foi a função eritropoiética, avaliada pela eritropoietina (EPO) e pelo percentual de reticulócitos. Os autores sugeriram que o melhor parâmetro para a atividade eritropoiética seria o GDF-15, já que o EPO seria um parâmetro indireto da função eritropoiética. A não separação dos participantes quanto à presença de sobrecarga de ferro é uma limitação importante, já que o conteúdo corporal de ferro influencia na função eritropoiética e tem relação direta com a concentração de hepcidina. O GDF-15 induz a supressão de hepcidina. Assim, presume-se que ele promova a diminuição das concentrações séricas de hepcidina e, conseqüentemente, maior absorção de ferro, que estará disponível para a função eritropoiética.

## Conclusão

Os resultados deste estudo permitem concluir que a hemólise é um fator determinante da concentração de hepcidina sérica em pessoas com anemia falciforme sem sobrecarga de ferro. Sabendo que o aumento da hemólise acarreta maior atividade eritropoiética, e, conseqüentemente maior gasto energético, nossos resultados sugerem que as concentrações de hepcidina sérica reduzidas possam ser indicativas de maior necessidade energética, bem como de nutrientes essenciais à hematopoiese, como proteínas, ferro e vitaminas (vitamina B12, ácido fólico, entre outras) (Kohno et al, 2013). Por outro lado, condutas terapêuticas que reduzam a velocidade de hemólise poderão impactar na concentração de hepcidina sérica.

Tendo em vista a necessidade de investigação mais aprofundada sobre o metabolismo de ferro, em especial o papel da hepcidina e sua ação em indivíduos com anemia falciforme, seria de grande valia a verificação de como ocorre de fato a absorção de ferro intestinal, em função da concentração da hepcidina, estado clínico e nutricional.

Figura 5 – Hemólise como mais forte determinante da concentração de hepcidina sérica em adultos com anemia falciforme (AF) sem sobrecarga de ferro.



Foi observada redução na concentração de hepcidina no grupo AF e, através de análises de regressão múltipla, a hemólise (LDH) foi a mais forte influenciadora da concentração de hepcidina sérica. A intensa hemólise causa diminuição de hemoglobina (Hb), hemácias (Hm) e hematócrito, resultando em um quadro de hipóxia, que gera uma cascata de sinalização para aumento da atividade eritropoiética e transcrição de eritropoietina (EPO) e fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF-15). Estes por sua vez, agem bloqueando a via da SMAD, não permitindo a transcrição do gene da hepcidina. Desta forma, a captação de ferro intestinal é aumentada, a fim de suprir a demanda deste nutriente para a formação de novas hemácias.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. J. et al. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *The New England Journal of Medicine*, v. 339, n. 1, p. 5-11, 1998.
- ADAMS, R. J.; BRAMBILLA, D. Discontinuing Prophylactic Transfusions Used to Prevent Stroke in Sickle Cell Disease. *The New England Journal of Medicine*, v. 353, n. 26, p. 2769-2778, 2005.
- ALLALI, S. et al. Management of iron overload in hemoglobinopathies. *Transfusion Clinique et Biologique*, 2017.
- AL-SAQLADI, A.-WM et al. Growth and nutritional status of children with homozygous sickle cell disease. *Annals of tropical paediatrics*, v. 28, n. 3, p. 165-189, 2008.
- AMARAL, J. L. et al. Perfil sociodemográfico, econômico e de saúde de adultos com doença falciforme. *Northeast Network Nursing Journal*, v. 16, n. 3, 2016.
- ANDREWS, M.; SOTO, N.; ARREDONDO-OLGUÍN, M. Association between ferritin and hepcidin levels and inflammatory status in patients with type 2 diabetes mellitus and obesity. *Nutrition*, v. 31, n. 1, p. 51-57, 2015.
- 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.
- ARAÚJO, P. I C. O autocuidado na doença falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 239-246, 2007.
- 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.
- BANDEIRA, F. M. G. C. et al. Hidroxiuréia em pacientes com síndromes falciformes acompanhados no Hospital Hemope, Recife-PE. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 26, n. 3, p. 189-94, 2004.
- 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.
- BENDER, M. A.; SEIBEL, G. D. Sickle cell disease. In: PAGON, R. A. et al. *NCBI Bookshelf* – a service of the National Library of Medicine. National Institutes of Health. 2014.
- BORTOLINI, G. A.; FISBERG, M. Orientação nutricional do paciente com deficiência de ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, n. 2, p. 105-113, 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes*. Brasília: ANVISA, 2002. 142 p.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Aprova o Componente Especializado da Assistência Farmacêutica. Portaria nº 2981, de 26 de novembro de 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Hidroxiureia: Uso e Acesso*. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Atenção Integral as Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias. Portaria nº 1018/GM, de 1 de julho de 2005b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Institui o Projeto Piloto de Atenção Integral aos Pacientes com Hemoglobinopatias. Portaria nº 2695/GM, de 23 de dezembro de 2004.

BYRD, K. et al. Differences in Hcpidin Concentrations by Sickle Cell and  $\alpha$ -Thalassemia Genotype: A Cross-Sectional Study Nested Within the Kenya WASH Benefits Trial. *The FASEB Journal*, v. 31, n. 1 Supplement, p. 43.4-43.4, 2017.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.

CANÇADO, Rodolfo D.; CHIATTONE, Carlos S. Iron deficiency anaemia in the adult: causes, diagnosis and treatment. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, n. 3, p. 240-246, 2010.

CHARLOTTE, F. et al. Vascular lesions of the liver in sickle cell disease. A clinicopathological study in 26 living patients. *Archives of pathology & laboratory medicine*, v. 119, n. 1, p. 46-52, 1995.

CHUI, David HK; DOVER, George J. Sickle cell disease: no longer a single gene disorder. *Current opinion in pediatrics*, v. 13, n. 1, p. 22-27, 2001.

CHUNG, B. et al. Leptin increases the expression of the iron regulatory hormone hepcidin in HuH7 human hepatoma cells. *The Journal of nutrition*, v. 137, n. 11, p. 2366-2370, 2007.

COOK, J. D.; BAYNES, R. D.; SKIKNE, B. S. Iron deficiency and the measurement of iron status. *Nutrition Research Reviews*, v. 5, n. 1, p. 198-202, 1992.

COVAS, D. T. et al. Effects of hydroxyurea on the membrane of erythrocytes and platelets in sickle cell anemia. *Haematologica*, v. 89, n. 3, p. 273-280, 2004.

DAAK, A. A. et al. Sick cell disease in western Sudan: genetic epidemiology and predictors of knowledge attitude and practices. *Tropical Medicine & International Health*, v. 21, n. 5, p. 642-653, 2016.

DARBARI, D. S. et al. Circumstances of Death in Adult Sick Cell Disease Patients. *American Journal of Hematology*, v.81, n.11, p.858-863, 2006.

DE DOMENICO, I.; WARD, D. M.; KAPLAN, J. Heparin regulation: ironing out the details. *The Journal of clinical investigation*, v. 117, n. 7, p. 1755-1758, 2007.

DONOVAN, A.; ROY, C. N.; ANDREWS, N. C. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology*, v. 21, n. 2, p. 115-123, 2006.

DUNN, Louise L.; RAHMANTO, Yohan Suryo; RICHARDSON, Des R. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends in cell biology*, v. 17, n. 2, p. 93-100, 2007.

EL BESHAWY, A. et al. Study of serum hepcidin in hereditary hemolytic anemias. *Hemoglobin*, v. 36, n. 6, p. 555-570, 2012.

FERTRIN, K. Y.; LANARO, C.; FRANCO-PENTEADO, C .F. 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*, vol. 89, n. 4, p. 385-390, 2014.

FERTRIN, K. Y. et al. *Aspectos da regulação do metabolismo do ferro nas hemoglobinopatias*. 2011. 186 p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

FINKENSTEDT, A. et al. Regulation of iron metabolism through GDF15 and hepcidin in pyruvate kinase deficiency. *British journal of haematology*, v. 144, n. 5, p. 789-793, 2009.

FRY, P. H. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *História, Ciências, Saúde-Manguinhos*, v. 12, n. 2, 2005.

GALIZA NETO, G. C.; PITOMBEIRA, M. S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. Aspectos moleculares da anemia falciforme. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.39 n.1, p51-56, 2003.

GANZ, T. Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood*, v. 117, n. 17, p. 4425-4433, 2011.

GKAMPRELA, E.; DEUTSCH, M.; PECTASIDES, D. Iron deficiency anemia in chronic liver disease: etiopathogenesis, diagnosis and treatment. *Annals of Gastroenterology*, v. 30, n. 4, p. 1-9, 2017.

GOMEZ, S. et al. Comparative analysis of iron homeostasis in sub-Saharan African children with sickle cell disease and their unaffected siblings. *Frontiers in pediatrics*, v. 4, p. 8, 2016.

GROTTO, H. Z. W. Fisiologia e metabolismo do ferro. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 32, suppl. 2, p. 8-17, 2010.

GROTTO, H. Z. W. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos em sua homeostase. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v.30, n.5, p.390-397, 2008.

HANKINS, J. S. et al. R2\* magnetic resonance imaging of the liver in patients with iron overload. *Blood*, v. 113, n. 20, p. 4853-4855, 2009.

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.

JOHNSON, S.B. The Family and the Child with Chronic Illness. In D.C. Turks & R.D. Kerns (Eds.), *Health, Illness, and Families: A Life-span Perspective* (pp. 220–254). (1985) New York: John Wiley & Sons.

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.

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.

KATODRITOU, E. CHRISTAKIS, J. Recent advances in the pathogenesis and management of anaemia of chronic disease. *Haematology*, v. 9, n. 1, p. 45-55, 2006.

KAUTZ, L. et al. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics*, v. 46, n. 7, p. 678, 2014.

KAWCHAK, D. A. et al. Adequacy of dietary intake declines with age in children with sickle cell disease. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, v. 107, n. 5, p. 843-848, 2007.

KEOGHANE, S. R.; SULLIVAN, M. E.; MILLER, M. A. W. The aetiology, pathogenesis and management of priapism. *BJU international*, v. 90, n. 2, p. 149-154, 2002.

KOHNO, K. et al. Management of erythropoiesis: cross-sectional study of the relationships between erythropoiesis and nutrition, physical features, and adiponectin in 3519 Japanese people. *European journal of haematology*, v. 92, n. 4, p. 298-307, 2014.

KUPESIZ, A. et al. The effect of hemolysis on plasma oxidation and nitration in patients with sickle cell disease. *Free radical research*, v. 46, n. 7, p. 883-890, 2012.

LEE, P. et al. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 102, n. 6, p. 1906-1910, 2005.

MACHADO, R. F. P. Hipertensão arterial pulmonar associada à anemia falciforme. *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, v. 33, n. 5, p. 583-591, 2007.

- MENDONÇA, J. O. B. de. *Avaliação das Alterações no Metabolismo de Ferro na Doença Falciforme sob a Ótica da Heparidina Sérica*. Mestrado em Nutrição – Programa de Pós Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, Universidade do Estado do Rio de Janeiro. 2016. 82f.
- MICHELS, K. et al. Heparidin and host defense against infectious diseases. *PLoS pathogens*, v. 11, n. 8, p. e1004998, 2015.
- MUCKENTHALER, M. U. et al. A red carpet for iron metabolism. *Cell*, v. 168, n. 3, p. 344-361, 2017.
- NAIK, R. P. et al. Venous thromboembolism in adults with sickle cell disease: a serious and under-recognized complication. *The American journal of medicine*, v. 126, n. 5, p. 443-449, 2013.
- NEMETH, E. et al. Heparidin 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 heparidin is regulated by anemia, hypoxia and inflammation. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 110, n. 7, p. 1037-1044, 2002.
- NNODIM, J. et al. Heparidin and erythropoietin level in sickle cell disease. *British Journal of Medicine and Medical Research*, v. 8, n. 3, p. 261-265, 2015.
- OMENA, J. et al. Serum Heparidin Concentration in Individuals with Sickle Cell Anemia: Basis for the Dietary Recommendation of Iron. *Nutrients*, v. 10, n. 4, p. 498, 2018.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). *WHO expert committee on Physical status: The use and interpretation of anthropometry*. Genebra: [s.n.], 1995.
- PIEL, F.B. et al. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010–2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. *PLoS medicine*, v. 10, n. 7, p. e1001484, 2013.
- PORTO, G.; OLIVEIRA, S.; PINTO, J. P. Heparidina: a molécula-chave na regulação do metabolismo do ferro. *Jornal Português de Gastrenterologia*, v. 19, n. 1, p. 26-32, 2012.
- RAGHUPATHY, R.; MANWANI, D.; LITTLE, J. A. Iron overload in sickle cell disease. *Advances in hematology*, v. 2010, p. 1-9, 2010.
- RAJA, K. B.; DUANE, P.; PETERS, T. J. Effects of turpentine-induced inflammation on the hypoxic stimulation of intestinal Fe<sup>3+</sup> absorption in mice. *International journal of experimental pathology*, v. 71, n. 6, p. 785, 1990.
- REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. T. Sickle-cell disease. *Lancet*, v. 376, n. 9757, p. 2018-2031, 2010.
- REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, Mark T. Sickle-cell disease. *Lancet*, v. 376, n. 9757, p. 2018-2031, 2010.

- RODRIGUES, D. O. W et al. História da triagem neonatal para doença falciforme no Brasil—capítulo de Minas Gerais. *REVISTA MÉDICA DE MINAS GERAIS-RMMG*, v. 22, n. 1, 2012.
- ROSS, S. L. et al. Identification of Antibody and Small Molecule Antagonists of Ferroportin-Hepcidin Interaction. *Frontiers in pharmacology*, v. 8, p. 838, 2017.
- RUCHALA, P.; NEMETH, E. The pathophysiology and pharmacology of hepcidin. *Trends in pharmacological sciences*, v. 35, n. 3, p. 155-161, 2014.
- RYAN, J. D. et al. Hepatic iron is the major determinant of serum ferritin in NAFLD patients. *Liver International*, v. 38, n. 1, p. 164-173, 2018.
- SAYANI, F. et al. Disease Specific Modulation of Serum Hepcidin: Impact of GDF-15 and Iron Metabolism Markers in Thalassemia Major, Thalassemia Intermedia and Sickle Cell Disease: A Univariate and Multivariate Analysis. *Blood*, v.112, n.11, p.3850, 2008.
- SHEN, J. et al. Lack of Difference in Hepcidin Levels in Sickle Cell Anemia and Sickle Cell Beta Thalassemia. *Blood*, v.126, n.23, p.4591, 2015.
- SILVA, W. S. et al. Avaliação da cobertura do programa de triagem neonatal de hemoglobinopatias em populações do Recôncavo Baiano, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 22, n. 12, p. 2561-2566, 2006.
- STARON, R. et al. Dietary hemoglobin rescues young piglets from severe iron deficiency anemia: Duodenal expression profile of genes involved in heme iron absorption. *PloS one*, v. 12, n. 7, p. e0181117, 2017.
- TANNO, T.; NOEL, P.; MILLER, J. L. Growth differentiation factor 15 in erythroid health and disease. *Current opinion in hematology*, v. 17, n. 3, p. 184, 2010.
- TEWARI, S. et al. Environmental determinants of severity in sickle cell disease. *Haematologica*, v. 100, n. 9, p. 1108-1116, 2015.
- THAWER, F. et al. Erythroferrone (ERFE) and Hepcidin Levels in Sickle Cell Disease with and without Transfusional Iron Overload. *Blood*, v. 130, suppl. 1, p.3518, 2017.
- THURET, I. Post-transfusional iron overload in the haemoglobinopathies. *Comptes rendus biologiques*, v. 336, n. 3, p. 164-172, 2013.
- WANG, W. F. Sickle cell anemia and other sickling syndromes. *Wintrobe's clinical hematology*, 2004.
- WEISS, G.. Modification of iron regulation by the inflammatory response. *Best practice & research Clinical haematology*, v. 18, n. 2, p. 183-201, 2005.
- WORWOOD, M. Influence of disease on iron status. *Proceedings of the Nutrition Society*, v. 56, n. 1B, p. 409-419, 1997.

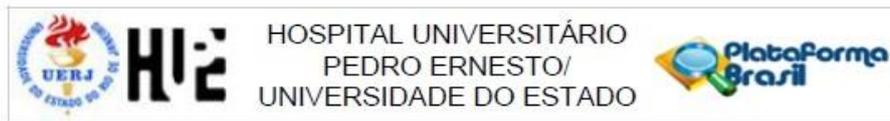
WRIGHTING, D. M.; ANDREWS, N. C. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, v. 108, n. 9, p. 3204-3209, 2006.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Hematologia: fundamentos e práticas. São Paulo: Atheneu, 2004.

ZEMEL, B. S. et al. Effects of delayed pubertal development, nutritional status, and disease severity on longitudinal patterns of growth failure in children with sickle cell disease. *Pediatric Research*, v. 61, n. 5, Part 1, p. 607, 2007.

ZIMMERMANN, M. B. et al. Adiposity in women and children from transition countries predicts decreased iron absorption, iron deficiency and a reduced response to iron fortification. **International journal of obesity**, v. 32, n. 7, p. 1098, 2008.

**ANEXO A – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto /UERJ.**



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme

**Pesquisador:** marta citelli dos reis

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**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:** 758.174

**Data da Relatoria:** 20/08/2014

**Apresentação do Projeto:**

Adequada.

**Objetivo da Pesquisa:**

- Objetivo Primário:

.Estudar o metabolismo de ferro em indivíduos com doença falciforme.

- Objetivo Secundário:

.Estudar o comportamento dos marcadores do metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme.

.Identificar a prevalência de sobrecarga de ferro nos pacientes com doença falciforme, atendidos no Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE).

.Correlacionar os marcadores séricos do metabolismo de ferro com as concentrações hepática e cardíaca de ferro; Descrever o consumo de ferro em pacientes com doença falciforme.

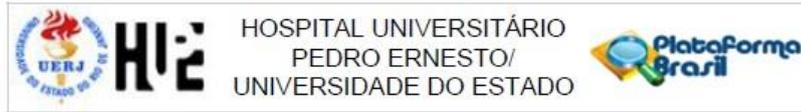
**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

- Riscos:

Não há riscos evidentes.

- Benefícios:

**Endereço:** Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
**Bairro:** Vila Isabel **CEP:** 20.551-030  
**UF:** RJ **Município:** RIO DE JANEIRO  
**Telefone:** (21)2868-5253 **Fax:** (21)2264-0853 **E-mail:** cep-hupe@uerj.br



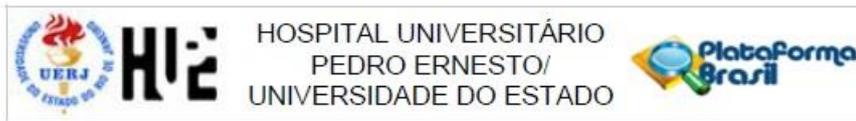
Continuação do Parecer: 758.174

Além dos pacientes receberem todos os resultados dos exames realizados, eles receberão atenção nutricional. Acreditamos que com os resultados desta pesquisa possamos contribuir para realização de uma conduta dietética mais segura quanto à necessidade de restrição de ferro. Os alimentos ricos em ferro, como carnes e feijões, muitas vezes deixam de ser consumidos devido a uma falta de consenso a respeito do risco que eles oferecem à saúde das pessoas que sofrem transfusões sanguíneas frequentes. Entretanto, estes mesmo alimentos são fontes importantes de outros nutrientes como proteínas, zinco, compostos fenólicos, entre outros.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Está planejada uma amostra total de 210 indivíduos, divididos em grupo controle e grupo caso na proporção 2:1, respectivamente, pareados por sexo e faixa etária. A inclusão no grupo caso ocorrerá da seguinte forma: após levantamento do número total de possíveis participantes, serão sorteados 70% que participarão do estudo. Já o grupo controle será composto por estudantes e funcionários da Universidade do Estado do Rio de Janeiro bem como por pessoas conhecidas dos pacientes, que se voluntariem a participar. Durante os atendimentos a pacientes com doença falciforme, que ocorrem no Ambulatório de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto, serão apresentados termos de consentimento livre e esclarecido e de assentimento. A coleta de sangue dos indivíduos com doença falciforme ocorrerá no Hospital Universitário Pedro Ernesto, e as coletas do grupo controle ocorrerão no Laboratório de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição da UERJ. A análise dos dados bioquímicos de ambos os grupos ocorrerá no Laboratório de Análises Clínicas Faculdade de Farmácia da UFRJ LACFAR, da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Serão realizados hemograma completo, contagem de reticulócitos, dosagens de lactato desidrogenase (LDH), proteína C reativa (PCR), hemoglobina fetal, ferro sérico, ferritina, transferrina, receptor solúvel de transferrina sérica e hepcidina em indivíduos com doença falciforme e em indivíduos saudáveis. A coleta de dados relativos ao consumo alimentar dar-se-á por meio de três recordatórios de 24 horas em momentos distintos: primeiramente, após a coleta de sangue (previamente agendada), durante a primeira consulta com a nutrição; na segunda consulta com o serviço de Nutrição; e, por fim, no momento da entrega dos resultados dos exames bioquímicos, na terceira consulta. Pacientes que apresentarem sinais de sobrecarga de ferro (valores de ferritina acima de 700 g/L) serão submetidos ao exame de ressonância magnética nuclear através da técnica de T2\*, com o objetivo de avaliar a concentração de ferro hepático e cardíaco, a ser realizado no Serviço de Radiologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. Ao final da pesquisa, os laudos destes exames serão disponibilizados aos pacientes.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.561-030  
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
 Telefone: (21)2868-8263 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 758.174

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

-TCLE: Só existe a necessidade de uma pequena modificação: Na última página deve conter espaços separados destinados a nome assinatura e data para o pesquisador e paciente (e responsável se for o caso). Porém nas demais páginas só existe necessidade de espaço destinado a rúbrica do pesquisador e do paciente (e responsável se for o caso).

**Recomendações:**

Pendência: realizar as pequenas alterações no TCLE descritas anteriormente.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Documentação dentro das boas práticas em pesquisa. Foram analisados as documentações e as mesmas se encontram dentro das normas e sem riscos eminentes ao sujeito de pesquisa envolvido.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

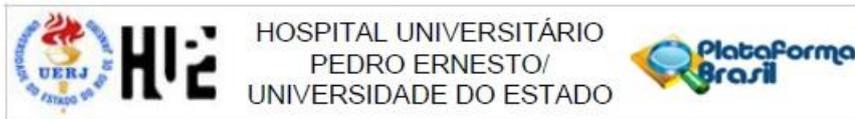
**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

1. Comunicar toda e qualquer alteração do projeto e termo de consentimento livre e esclarecido. Nestas circunstâncias a inclusão de pacientes deve ser temporariamente interrompida até a resposta do Comitê, após análise das mudanças propostas. 2. Os dados individuais de todas as etapas da pesquisa devem ser mantidos em local seguro por 5 anos para possível auditoria dos órgãos competentes. 3. O Comitê de Ética solicita a V. S<sup>a</sup>., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
 Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030  
 UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
 Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: oep-hupe@uerj.br



Continuação do Parecer: 758.174

RIO DE JANEIRO, 20 de Agosto de 2014

---

Assinado por:  
**ANTONIO FELIPE SANJULIANI**  
(Coordenador)

Endereço: Avenida 28 de Setembro 77 - Térreo  
Bairro: Vila Isabel CEP: 20.551-030  
UF: RJ Município: RIO DE JANEIRO  
Telefone: (21)2868-8253 Fax: (21)2264-0853 E-mail: cep-hupe@uerj.br

## ANEXO B – Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio)



GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE

**HEMORIO**  
INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA  
ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI

### COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HEMORIO

Rio de Janeiro, 27 de abril de 2016.

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

Prezada Pesquisadora,

O projeto, "**Alterações no Metabolismo de Ferro em Pessoa com Doenças Falciforme**", registrado no CEP HEMORIO sob o número 391/15, foi apresentado de acordo com a Resolução 466/12. Assim, após apresentação e análise dos documentos recebidos, o Comitê de Ética em Pesquisa HEMORIO considera o projeto **APROVADO**.

Ressaltamos abaixo, algumas orientações fundamentais, as quais o pesquisador deve estar muito atento:

- O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado;
- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade de regime oferecido a um dos grupos da pesquisa que requeira ação imediata;
- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificações ao CEP e à ANVISA, junto com seu posicionamento;
- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.
- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente até 27/10/2016 e ao término do estudo.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA  
Rua Frei Caneca, 8 – Centro – Rio de Janeiro – CEP 20211-030

Tel.: (21) 2299-9442 R. 2215 – Fax: 2242-4250 – [www.hemorio.rj.gov.br](http://www.hemorio.rj.gov.br) – cep@hemorio.rj.gov.br



GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE



**HEMORIO**  
INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA  
ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI

Sendo assim, por favor, contate a Coordenação do CEP HEMORIO (Sra. Marcia Villa Nova, Thaís Oliveira ou Joselaine Sousa) pelo telefone 2332-8612, ramal 2415, a fim de estabelecermos o fluxo de sua pesquisa e tomarmos outras providências pertinentes.

Atenciosamente,

Marcia Villa Nova  
Coordenadora do CEP HEMORIO

COMITÉ DE ÉTICA EM PESQUISA

Rua Frei Caneca, 6 – Centro – Rio de Janeiro – CEP 20211-030

Tel.: (21) 2299-9442 R. 2215 – Fax: 2242-4250 – [www.hemorio.rj.gov.br](http://www.hemorio.rj.gov.br) – [cep@hemorio.rj.gov.br](mailto:cep@hemorio.rj.gov.br)

**ANEXO C - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Hospital Universitário Pedro Ernesto**

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme**”. O objetivo deste estudo é avaliar a sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme. Nesta pesquisa iremos:

- 1- Avaliar sua alimentação através de 3 questionários dietéticos que serão aplicados em suas consultas na nutrição e no dia agendado para a coleta de sangue.
- 2- Fazer um exame de sangue para dosar os marcadores de ferro no organismo.
- 3- Caso necessário, realizar um exame de ressonância magnética para verificar a concentração de ferro no seu fígado e no coração.

Serão realizadas algumas perguntas a respeito dos dados clínicos de cada participante.

Para o exame de sangue e ressonância magnética serão solicitados alguns preparos simples que vão ser explicados no momento da marcação da avaliação. Os exames serão realizados em dias e horários marcados com antecedência e dentro de sua disponibilidade.

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.

Os resultados obtidos através da análise do sangue coletado poderão ajudar na identificação do comportamento dos marcadores de ferro, avaliando se há ou não a presença da sobrecarga deste mineral em seu organismo.

---

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/ Nutr. Mestranda Juliana Omena (cel:99614-7577)/CEP HUPE (<tel:2868-8362>)

---

Nome do Paciente

---

Assinatura do Paciente

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Após procedimentos que necessitem jejum, como é o caso da coleta de sangue, serão oferecidos a você lanches. A sua participação na pesquisa será voluntária, não havendo, portanto, remuneração para tal. Não haverá o ressarcimento de gastos financeiros relativos ao deslocamento até o local da pesquisa.

Caso você apresente sinais de sobrecarga de ferro, será realizado um exame de ressonância magnética, um procedimento diagnóstico no qual ondas de radiofrequência são enviadas aos tecidos no interior do corpo. Eventualmente, poderá ser administrado um meio de contraste para-magnético (gadólínio). Em poucos pacientes pode ocorrer uma reação adversa ao contraste incluindo náusea, cefaleia, urticária, coceira e vômitos. Muito raramente, complicações mais sérias ou reação anafilática podem ocorrer (01 caso em 100.000 - 500.000 procedimentos); os médicos e demais funcionários do setor onde o exame será realizado estão treinados para reconhecer eventuais reações e trata-las de imediato. Se você possui marcapasso cardíaco, implantes e próteses metálicas ou esteja no primeiro trimestre de gestação, avise à pesquisadora responsável, pois não será possível a realização do exame de ressonância magnética.

Os resultados obtidos por meio deste exame irão informar a concentração de ferro em órgãos como fígado e coração. Além de receber todos os resultados dos exames realizados, você também receberá atenção nutricional. Acreditamos que os resultados desta pesquisa possam contribuir para uma alimentação mais segura em relação ao consumo de alimentos fontes de ferro.

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 não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. 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. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Garantimos que sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição ou com o tratamento que você faz.

---

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/ Nutr. Mestranda Juliana Omena (cel:99614-7577)/ CEP HUPE (<tel:2868-8362>)

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

---

Assinatura do Paciente

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

**ANEXO D – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para os Participantes oriundos do Instituto de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio)**

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você está sendo convidado (a) para participar do estudo “**Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme**”, que irá avaliar a sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme, em que eu, Juliana Omena Braga de Mendonça, estarei participando ativamente. Este termo de consentimento serve para você poder entender a pesquisa e decidir se deseja participar, por isso estamos fazendo neste primeiro encontro.

Antes de prosseguirmos, é necessário realizar alguns esclarecimentos:

O metabolismo de ferro é o conjunto de transformações que o ferro sofre dentro do organismo e que ocorrem desde a seu aparecimento, transporte e armazenamento, até a sua eliminação. Na doença falciforme, ainda não sabemos ao certo como ocorre esse metabolismo e quais são suas possíveis alterações em relação às pessoas que não possuem esta doença.

Para que você possa decidir se gostaria ou não de participar deste estudo, é necessário que haja o conhecimento sobre os benefícios e riscos. Por isso, vamos apresenta-los abaixo e, em qualquer momento, você pode parar e tirar suas dúvidas.

Esta pesquisa deseja estudar se há alguma alteração no metabolismo de ferro nas pessoas com doença falciforme, tanto naquelas que possuem sobrecarga de ferro transfusional (isto é, um aumento na quantidade de ferro presente no organismo) quanto nas pessoas que não possuem. Os resultados deste estudo irão permitir que você saiba se possui alguma alteração relacionada ao ferro. Acreditamos que estes resultados possam contribuir para uma alimentação mais segura em relação ao consumo de alimentos fontes de ferro.

Neste estudo, iremos:

- Fazer um exame de sangue que irá avaliar se você possui alguma alteração no metabolismo de ferro, se possui algum grau de inflamação e também para dosar alguns nutrientes no seu sangue. A coleta de sangue realizada é semelhante àquela que você já faz habitualmente no seu tratamento e será feita por um profissional de saúde que irá realizar todos os procedimentos adequados. Entretanto, sinais e sintomas relacionados à coleta de sangue, como dor localizada, hematomas e infecção no local da punção poderão aparecer, ainda que pouco frequentes e passageiros.
- Preencher a ficha clínica da pesquisa, onde constam algumas perguntas a respeito de seus dados pessoais (nome, telefone, endereço, data de nascimento e cor de pele/etnia auto referida), sua história clínica (genótipo, histórico de transfusões sanguíneas, uso de medicamentos, dentre outros) e sobre a sua alimentação.
- Avaliar o que você come, utilizando um questionário específico (recordatório de 24 horas), no qual você irá descrever os alimentos, bebidas, forma de preparo e tamanho das porções consumidas nas

24 horas anteriores. Este questionário será aplicado em dois momentos diferentes, sendo um no dia da realização da coleta de sangue e o outro na consulta com a nutrição. Este questionário é respondido brevemente, em no máximo, 20 minutos.

- Avaliar seu estado nutricional por meio de medidas como o peso e a altura.
- Se você apresentar sinais de sobrecarga de ferro, será solicitada a realização de um exame de ressonância magnética para verificar a concentração de ferro no seu fígado e no coração. Para este exame, serão solicitados alguns preparos simples que vão ser explicados no momento da marcação da avaliação. Os exames serão realizados em dias e horários marcados com antecedência e dentro de sua disponibilidade. Eventualmente, poderá ser administrado um meio de contraste para-magnético (gadolínio) para que o exame seja realizado. Em poucos pacientes, pode ocorrer uma reação adversa ao contraste incluindo náusea, cefaleia, urticária, coceira e vômitos. Muito raramente, complicações mais sérias ou reação anafilática podem ocorrer (01 caso em 100.000 - 500.000 procedimentos); os médicos e demais funcionários do setor onde o exame será realizado estão treinados para reconhecer eventuais reações e trata-las de imediato. Se você possui marca-passo cardíaco, implantes e próteses metálicas ou esteja no primeiro trimestre de gestação, é necessário que sejamos avisados, pois não será possível a realização deste exame.

Para a realização da coleta de sangue e do exame de ressonância magnética serão necessários alguns preparos simples, que explicaremos no momento da marcação destes procedimentos. Eles serão realizados em dias e horários marcados com antecedência e dentro de sua disponibilidade. Após procedimentos que necessitem jejum, serão oferecidos a você lanches. A coleta de sangue será realizada na Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), no Instituto de Nutrição, no 12º andar e o exame de ressonância magnética ocorrerá no Setor de Radiologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE). As consultas serão realizadas no Hemório.

Não haverá qualquer custo ou forma de pagamento pela sua participação na pesquisa. Não dispomos de verbas para pagamento de passagens, mas faremos o possível para que o agendamento respeite seu itinerário e não represente uma despesa desnecessária.

Você será acompanhado pelas nutricionistas do estudo por um período mínimo de doze meses em consultas previamente agendadas com hora marcada. A equipe de Nutrição é composta por nutricionistas e alunas de Nutrição ligadas ao Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL), sendo nosso contato direto a nutricionista Juliana Omena Braga de Mendonça.

As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação e seu nome não será revelado ainda que informações de seu registro médico sejam utilizadas para propósitos educativos ou de publicação, que ocorrerão independentemente dos resultados obtidos.

É importante que você tenha conhecimento de que sua participação no presente estudo é completamente voluntária e 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.

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: 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 de 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](mailto: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)

\_\_\_\_\_ (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 Juliana Omena Braga de Mendonça)

**ANEXO E – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido Para os Participantes sem a Doença Falciforme (Grupo Controle)**

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Você está sendo convidado para participar da pesquisa “**Alterações no metabolismo de ferro em pessoas com doença falciforme**”. O objetivo deste estudo é avaliar a sobrecarga de ferro em pessoas com doença falciforme. Nesta pesquisa iremos:

- 1- Avaliar sua alimentação através de 2 questionários dietéticos que serão aplicados no dia agendado para a coleta de sangue e por telefone.
- 2- Fazer um exame de sangue para dosar os marcadores de ferro no organismo.

Serão realizadas algumas perguntas a respeito dos dados clínicos de cada participante.

Para o exame de sangue serão solicitados alguns preparos simples que vão ser explicados no momento da marcação da avaliação. O exame será realizado no dia e horário marcado com antecedência e dentro de sua disponibilidade.

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.

---

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/ Nutr. Mestranda Juliana Omena (cel:99614-7577)/CEP HUPE (<tel:2868-8362>)

---

Nome do Participante

---

Assinatura do Participante

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

Os resultados obtidos através da análise do sangue coletado poderão ajudar na identificação do comportamento dos marcadores de ferro em seu organismo.

Após procedimentos que necessitem jejum, como é o caso da coleta de sangue, serão oferecidos a você lanches. A sua participação na pesquisa será voluntária, não havendo, portanto, remuneração para tal. Não haverá o ressarcimento de gastos financeiros relativos ao deslocamento até o local da pesquisa.

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

As informações obtidas nesta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. 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. Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Garantimos que sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição.

---

Nome e assinatura do Pesquisador

Prof. Marta C. Reis/ Nutr. Mestranda Juliana Omena (cel:99614-7577)/ CEP HUPE (<tel:2868-8362>)

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

---

Assinatura do Participante

Data \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_.

## ANEXO F - Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes com a Doença Falciforme



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO BIOMÉDICO – INSTITUTO DE NUTRIÇÃO  
NUTRIFAL/AMB. NUTRIÇÃO EM HEMATOLOGIA (HUPE) – AMB. DE NUTRICAÇÃO (HEMORIO)



## FICHA CLÍNICA DA PESQUISA – PARTICIPANTES COM DOENÇA FALCIFORME

Nº do Formulário: |\_\_|\_\_|\_\_|

### I. Identificação do questionário

8 NA e 9 NI

Nome Completo do Paciente:	
Endereço:	
Telefones para contato:	
Procedência do Paciente	1. HUPE 2. HEMORIO 3. Outros _____  __
Data de Nascimento	__ __ / __ __ / __ __ __ __
Data da Avaliação	__ __ / __ __ / __ __ __ __
Idade	__ __  e _____ meses
Sexo	1. Masc 2. Fem  __
Qual é sua cor/etnia	1. Branca 2. Preta 3. Parda 4. Amarela 5. Indígena  __
Horário de Início da entrevista	__ __ h __ __ min

### II. Entrevista

1. Sabe seu genótipo? Se <b>Sim</b> , qual? _____	1. Sim	2. Não	__
2. Possui alguma outra doença além da doença falciforme? Se <b>Sim</b> , qual? _____	1. Sim	2. Não	__
3. Você já fez alguma cirurgia? Se <b>Sim</b> , qual? _____	1. Sim	2. Não	__
4. Você teve algum problema de saúde nas últimas 3 semanas? Se <b>Sim</b> , qual? _____	1. Sim	2. Não	__
5. Você esteve internado a menos de 2 semanas? Se <b>Sim</b> , qual foi o motivo? _____	1. Sim	2. Não	__
6. Você teve algum tipo de infecção nos últimos 2 meses? Se <b>Sim</b> , qual? _____	1. Sim	2. Não	__
7. Você fez/faz uso de algum tipo de suplementação de ferro? Se <b>Sim</b> , qual a dosagem? _____ Há quanto tempo faz/fez? _____ Se <b>não faz mais</b> , há quanto tempo parou? _____	1. Sim	2. Não	__
8. Você tomou algum tipo de suplementação vitaminas ou de minerais a menos de 2 meses (com exceção do ácido fólico)?  Se <b>Sim</b> , qual(is)? _____ Há quanto tempo? _____	1. Sim	2. Não	__
9. Você já teve alguma orientação para restringir um determinado tipo de alimento?	1. Sim	2. Não	__

Se <i>Sim</i> , qual(is)? _____			
Quem orientou? _____			
<b>10.</b> Nos últimos 6 meses, você teve vontade de comer algo que não fosse alimento?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , o que? _____			
<b>11.</b> Já realizou alguma transfusão sanguínea?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>12.</b> Já realizou troca sanguínea?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Qual a frequência da transfusão? _____			
Qual a frequência da troca sanguínea? _____			
Quando foi a 1ª vez que você realizou uma transfusão sanguínea? _____			
Quando foi a 1ª vez que você realizou uma troca sanguínea? _____			
Ao longo da vida, quantas transfusões você já realizou? ( ) De 1 a 4 ( ) De 5 a 9 ( ) De 10 a 15 ( ) Mais de 15			
Ao longo da vida, quantas trocas você 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?  __ _ _ / __ _ _ / __ _ _  - _____			
<b>13.</b> Você usa hidroxiureia (HU)?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , há quanto tempo? _____			
<b>14.</b> Você fez/ faz o uso de algum quelante de ferro?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , qual? _____			
Há quanto tempo? _____			
Se não faz mais o uso, há quanto tempo parou? _____			
<b>15.</b> A que horas que você comeu pela ultima vez?  __ _ _ h __ _ _ min			
<b>15.</b> Você teve febre ontem?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , Quantos graus? _____			
<b>16.</b> Você faz uso regular de bebida alcoólica?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , qual? _____			
Qual a frequência? _____			
<b>Somente para mulheres</b>			
<b>17.</b> Qual a idade da menarca? _____	( ) Ainda não menstruou		
<b>18.</b> Você ainda menstrua?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , qual o dia do início da última menstruação?  __ _ _ / __ _ _ / __ _ _  - _____			
Se <i>Não</i> , qual o mês /ano (ou quantos anos tinha) em que parou de menstruar?  __ _ _ / __ _ _ _ _ _			
Se <i>Não</i> , faz ou fez uso de reposição hormonal?			
<b>1. Sim</b> , qual o período? _____ <b>2. Não</b> <b>3. Não mas já fiz</b> , qual o período? _____ <input type="checkbox"/>			
Se <i>Sim</i> , utiliza (ou) qual tipo de reposição? _____			
<b>Somente para mulheres</b>			
<b>19.</b> Usa anticoncepcional?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , por quanto tempo? _____			
Se <i>Sim</i> , qual a marca/nome? _____			
<b>Se <i>Não</i></b> , já usou no passado?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , por quanto tempo usou no passado? _____			
<b>20.</b> Usa DIU?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
Se <i>Sim</i> , de qual tipo? ( ) Hormonal ( ) DIU com cobre			
Há quanto tempo? _____			
<b>Se <i>Não</i></b> , já usou no passado?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
De qual tipo? ( ) Hormonal ( ) DIU com cobre			
Por quanto tempo utilizou? _____			
Há quanto tempo parou? _____			
<b>Durante os últimos 12 meses:</b>			
<b>21.</b> Você apresentou 3 ou mais crises algicas?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>22.</b> Realizou 6 ou mais transfusões?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>23.</b> Apresentou 1 ou mais úlceras?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>
<b>24.</b> Apresentou 1 ou mais síndrome torácica aguda?	<b>1. Sim</b>	<b>2. Não</b>	<input type="checkbox"/>



## ANEXO G – Ficha Clínica da Pesquisa de Participantes sem a Doença Falciforme



UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO  
CENTRO BIOMÉDICO – INSTITUTO DE NUTRIÇÃO  
NUTRIFAL/AMB. NUTRIÇÃO EM HEMATOLOGIA (HUPE) – AMB. DE NUTRICAÇÃO (HEMORIO)



## FICHA CLÍNICA DA PESQUISA – PARTICIPANTES SEM DOENÇA FALCIFORME

Nº do Formulário: |\_\_|\_\_|\_\_|

### I. Identificação do questionário

8 NA e 9 NI

Nome Completo:	
Endereço:	
Telefones para contato:	
Data de Nascimento	_ _ / _ _ / _ _ _ _
Data da Avaliação	_ _ / _ _ / _ _ _ _
Idade	_ _  e _____ meses
Sexo	1. Masc 2. Fem <span style="float: right;"> _ </span>
Qual é sua cor/etnia	1. Branca 2. Preta 3. Parda 4. Amarela 5. Indígena <span style="float: right;"> _ </span>
Horário de Início da entrevista	_ _ h _ _ min

### II. Entrevista

16. Possui alguma doença? Se <i>Sim</i> , qual? _____	1. Sim 2. Não	_
17. Você já fez alguma cirurgia? Se <i>Sim</i> , qual? _____	1. Sim 2. Não	_
18. Você teve algum problema de saúde nas últimas 3 semanas? Se <i>Sim</i> , qual? _____	1. Sim 2. Não	_
19. Você esteve internado a menos de 2 semanas? Se <i>Sim</i> , qual foi o motivo? _____	1. Sim 2. Não	_
20. Você teve algum tipo de infecção nos últimos 2 meses? Se <i>Sim</i> , qual? _____	1. Sim 2. Não	_
21. Você fez/faz uso de algum tipo de suplementação de ferro? Se <i>Sim</i> , qual a dosagem? _____ Há quanto tempo faz/fez? _____ Se <b>não faz mais</b> , há quanto tempo parou? _____	1. Sim 2. Não	_
22. Você tomou algum tipo de suplementação vitaminas ou de minerais a menos de 2 meses? Se <i>Sim</i> , qual(is)? _____ Há quanto tempo? _____	1. Sim 2. Não	_
23. Você já teve alguma orientação para restringir um determinado tipo de alimento? Se <i>Sim</i> , qual(is)? _____ Quem orientou? _____	1. Sim 2. Não	_
24. Nos últimos 6 meses, você teve vontade de comer algo que não fosse um alimento? Se <i>Sim</i> , o que? _____	1. Sim 2. Não	_

25. Já realizou alguma transfusão sanguínea?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
26. Já realizou troca sanguínea?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Qual a frequência? _____			
Quando foi a 1ª vez que você realizou uma transfusão sanguínea? _____			
Quando foi a 1ª vez que você realizou uma troca sanguínea? _____			
Ao longo da vida, quantas transfusões você já realizou? ( ) De 1 a 4 ( ) De 5 a 9 ( ) De 10 a 15 ( ) Mais de 15			
Ao longo da vida, quantas trocas você 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?	_ _ _ / _ _ _ / _ _ _	-	_____
27. Você já realizou alguma doação de sangue?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , é doador regular (3-4 vezes ao ano)?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>é doador regular</b> , há quanto tempo doa sangue? _____			
Já doou sangue <b>esse ano (doador regular e não regular)</b> ?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Quantas vezes? _____			
Qual a última vez que doou sangue neste ano? _____			
28. Você fez/ faz o uso de algum quelante de ferro?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , qual? _____			
Há quanto tempo? _____			
Se não faz mais o uso, há quanto tempo parou? _____			
29. A que horas que você comeu pela ultima vez?	_ _ _ h _ _ _ min		
15. Você teve febre ontem?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , Quantos graus? _____			
16. Você faz uso regular de bebida alcoólica?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , qual? _____			
Qual a frequência? _____			
<b>Somente para mulheres</b>			
17. Qual a idade da menarca? _____	( ) Ainda não menstruou		
18. Você ainda menstrua?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , qual o dia do início da última menstruação?  _ _ _ / _ _ _ / _ _ _ -			_____
Se <b>Não</b> , qual o mês /ano (ou quantos anos tinha) em que parou de menstruar?  _ _ _ / _ _ _ _ _ _			_____
Se <b>Não</b> , faz ou fez uso de reposição hormonal?			
1. Sim, qual o período? _____	2. Não	3. Não mas já fiz, qual o período? _____	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , utiliza (ou) qual tipo de reposição? _____			
<b>Somente para mulheres</b>			
19. Usa anticoncepcional?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , por quanto tempo? _____			
Se <b>Sim</b> , qual a marca/nome? _____			
Se <b>Não</b> , já usou no passado?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , por quanto tempo usou no passado? _____			
20. Usa DIU?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
Se <b>Sim</b> , de qual tipo? ( ) Hormonal ( ) DIU com cobre			
Há quanto tempo? _____			
Se <b>Não</b> , já usou no passado?	1. Sim	2. Não	<input type="checkbox"/>
De qual tipo? ( ) Hormonal ( ) DIU com cobre			
Por quanto tempo utilizou? _____			
Há quanto tempo parou? _____			
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: _____

