



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Instituto de Nutrição

Marise Crivelli

**Avaliação da densidade e estrutura óssea de adultos com anemia falciforme**

Rio de Janeiro

2021

Marise Crivelli

**Avaliação da densidade e estrutura óssea de adultos com anemia falciforme**



Tese apresentada como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Alimentação, Nutrição e Saúde.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flávia Fioruci Bezerra

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

Rio de Janeiro

2021

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

C936 Crivelli, Marise  
Avaliação da densidade e estrutura óssea de adultos com anemia falciforme /  
Marise Crivelli. – 2021.  
75 f.

Orientadora: Flávia Fioruci Bezerra  
Coorientadora: Cláudia dos Santos Cople-Rodrigues  
Tese (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de  
Nutrição.

1. Nutrição – Teses. 2. Anemia falciforme – Teses. 3. Densitometria óssea –  
Teses. I. Bezerra, Flávia Fioruci. 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  
tese, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Marise Crivelli

**Avaliação da densidade e estrutura óssea de adultos com anemia falciforme**

Tese apresentada, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Alimentação, Nutrição e Saúde.

Aprovada em 30 de novembro de 2021.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flavia Fioruci Bezerra (orientadora)  
Instituto de Nutrição – UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia dos Santos Cople-Rodrigues (coorientadora)  
Instituto de Nutrição – UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Lúcia Fleiuss de Farias  
Hospital Universitário Clementino Fraga Filho- UFRJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Andrea Ribeiro Soares  
Hospital Universitário Pedro Ernesto-UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Amina Chain Costa  
Instituto de Nutrição– UFF

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Citelli dos Reis  
Instituto de Nutrição– UERJ

Rio de Janeiro

2021

## DEDICATÓRIA

Ao meu pai, e minha mãe (*in memoriam*).

## AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-graduação em alimentação, nutrição e saúde da UERJ e todo o corpo docente do Instituto de Nutrição da UERJ. Gratidão por tudo o que me proporcionou nesses quatro anos de trajetória.

Às minhas queridas orientadoras e coorientadora Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Flavia Fioruci Bezerra e Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Cople, agradeço a oportunidade concedida, carinho e incentivo na construção desta tese.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marta Citelli por todas as suas contribuições.

Ao Prof. Dr. Ronir Raggio que tive a sorte de conhecer em tempos de pandemia, pelo apoio e colaboração.

Aos professores que compuseram a banca de qualificação e defesa, pelas valiosas contribuições.

Aos meus queridos amigos Pylyp e Gilda pelo apoio e carinho nos momentos em que mais precisei.

Ao meu marido Cesar e minhas filhas Beatriz e Luisa que sempre me incentivaram e me apoiaram em todos os momentos.

Ao meu pai que tanto amo, que me ensinou a nunca desistir de meus sonhos. Agradeço todos os dias por fazer parte da minha vida.

*Não há saber mais ou saber menos: há saberes diferentes.*

Paulo Freire

## RESUMO

CRIVELLI, Marise. **Avaliação da densidade e estrutura óssea de adultos com anemia falciforme**. 2021. 75 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021

A anemia falciforme é a hemoglobinopatia hereditária mais frequente no mundo e considerada um importante problema de saúde pública. Caracteriza-se por alterações morfológicas e funcionais das hemácias que causam um extenso conjunto de manifestações clínicas associadas à vaso-oclusão e hemólise acentuada que afetam diversos tecidos, incluindo o tecido ósseo. A manifestação dessas alterações está sujeita à influência de diversos fatores incluindo a gravidade da doença, o histórico clínico e de tratamento recebido ao longo da vida (incluindo as transfusões e a consequente sobrecarga de ferro), entre outros. Há também questões metodológicas envolvidas na avaliação óssea que carecem de esclarecimento. O objetivo geral deste estudo foi descrever a saúde óssea em indivíduos adultos com anemia falciforme. Os resultados são apresentados na forma de dois artigos originais. No primeiro artigo, investigamos a adequação da massa óssea em função da presença de sobrecarga de ferro, bem como sua associação com indicadores bioquímicos de hemólise e de estado de ferro. A amostra foi composta por 68 indivíduos adultos (entre 20 e 59 anos) de ambos os sexos, divididos em dois grupos em função da presença (n=18) ou ausência (n=50) de sobrecarga de ferro indicada por valores de ferritina >1000 ng/mL. Os parâmetros ósseos foram avaliados por absorciometria por dupla emissão de raios X (DXA) e incluíram dados de densidade mineral óssea (DMO) em diferentes sítios (coluna lombar, fêmur total, colo femoral e antebraço) e de microarquitetura óssea (escore de osso trabecular, TBS). Em todo o grupo, 56% dos indivíduos apresentaram baixa massa óssea em pelo menos um dos sítios ósseos avaliados, com maior frequência na coluna lombar. Os valores de TBS foram compatíveis com microarquitetura degradada em mais de 50% dos indivíduos. Não foram observadas diferenças significativas nos parâmetros ósseos avaliados entre os grupos em função da sobrecarga de ferro. As concentrações de ferro, lactato desidrogenase (LDH), bilirrubina total e direta apresentaram associação inversa com diversos parâmetros ósseos avaliados (correlação de Spearman,  $P < 0.05$ ). No segundo artigo, foi investigada a densidade, a microarquitetura e a morfometria óssea da coluna lombar em oitenta e seis indivíduos adultos (20 a 59 anos) com anemia falciforme. A avaliação da morfometria foi possível em uma subamostra de trinta e três indivíduos (>40 anos). Observamos que mais de 60% dos indivíduos com anemia falciforme apresentaram baixa DMO e fraturas moderadas e/ou severas em pelo menos uma vértebra. Em 53,5% dos indivíduos foi possível identificar degradação (total ou parcial) da microarquitetura óssea por TBS. Observamos ainda que o TBS foi sensível para demonstrar alteração da microarquitetura óssea mesmo em indivíduos com escore-Z normal e sem alteração morfológica de coluna vertebral. Os resultados obtidos a partir dos dois estudos sugerem que não há maior prejuízo da massa óssea entre os indivíduos com anemia falciforme que apresentam sobrecarga de ferro. No entanto, as associações entre os parâmetros ósseos e as concentrações de LDH e bilirrubinas sugerem uma influência da intensidade da hemólise sobre a saúde óssea destes indivíduos. Sugerimos ainda que a avaliação da microarquitetura óssea pode contribuir para a detecção precoce de alterações ósseas nesses pacientes e que o estudo morfológico da coluna vertebral é elucidativo para análise da estrutura óssea dos indivíduos com anemia falciforme e contribui para a interpretação das alterações de densidade mineral óssea observadas nesses indivíduos.

Palavras-chave: Densidade mineral óssea. DXA. Sobrecarga de ferro. TBS. Morfometria. VFA.



## ABSTRACT

CRIVELLI, Marise. **Evaluation of bone density and structure in adults with sickle cell anemia**. 2021. 75 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021

Sickle cell anemia is the most frequent hereditary hemoglobinopathy in the world and considered an important public health problem. It is characterized by morphological and functional alterations of red blood cells that cause an extensive set of clinical manifestations associated with vasoocclusion and marked hemolysis that affect several tissues, including bone tissue. The manifestation of these changes is subject to the influence of various factors including the severity of the disease, the clinical history and treatment received throughout life (including transfusions and the consequent iron overload), among others. There are also methodological issues concerning in bone evaluation that need elucidation. The general objective of this thesis was to describe bone health in adult individuals with sickle cell anemia. The results are demonstrated in the form of two original articles. In the first article, we investigated the adequacy of bone mass due to the presence of iron overload, as well as its association with biochemical indicators of hemolysis and iron status. The sample consisted of sixty-eight adults (between 19 and 59 years old) of both sexes, divided into two groups according to the presence (n=18) or absence (n=50) of iron overload indicated by ferritin values >1000 ng/mL. Bone parameters was evaluated by Dual-energy X-ray absorptiometry, (DXA) and included bone mineral density (BMD) data at different sites (lumbar spine, total femur, femoral neck, and forearm) and bone microarchitecture (trabecular bone score, TBS). In the whole group, 56% of the individuals presented low bone mass in at least one of the evaluated bone sites, with greater frequency in the lumbar spine. TBS values are compatible with degraded microarchitecture in more than 50% of individuals. No significant differences were noticed in the bone parameters evaluated between the groups as a function of iron overload. The concentrations of iron, lactate dehydrogenase (LDH), total and direct bilirubin showed an inverse association with various bone parameters evaluated (Spearman correlation,  $P < 0.05$ ). In the second article, we investigated the density, microarchitecture, and bone morphometry of the lumbar spine in eighty-six adult individuals (19 to 59 years old) with sickle cell anemia. Morphometry was evaluated in a subsample of thirty-three people (>40 years old). We regarded yet that more than 60% of individuals with sickle cell anemia had low BMD and moderate or severe fractures in at least one vertebra. In 53.5% of the people, it was possible to identify degradation (total or partial) of bone microarchitecture by TBS. We also observed that the TBS was sensible to demonstrate alteration of bone microarchitecture even in individuals with normal Z-score and without morphological alteration of the spine. The results obtained from the two studies suggest that there is no greater impairment of bone mass among individuals with sickle cell anemia and iron overload. However, the associations between bone parameters with LDH and bilirubin concentrations suggest an influence of hemolysis intensity on the bone health of these individuals. We also suggest that the evaluation of bone microarchitecture may contribute to the early detection of bone changes in these patients and that the morphological study of the spine is elucidative for the analysis of the bone structure of individuals with sickle cell anemia and contributes to the interpretation of bone mineral density changes observed in these individuals.

Keywords: Bone mineral density. DXA. Iron overload. TBS. Morphometry. VFA.

## RESUMEN

Crivelli, Marise. **Evaluación de la densidad y estructura ósea en adultos con Anemia Drepanocítica**. 2021. 75 f. Tese (Doutorado em Alimentação, Nutrição e Saúde) – Instituto de Nutrição. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

La anemia drepanocítica es la hemoglobinopatía hereditaria más frecuente en el mundo y considerada un importante problema de salud pública. Se caracteriza por alteraciones morfológicas y funcionales de los hematíes que causan un amplio conjunto de manifestaciones clínicas asociadas con vaso oclusión y hemólisis marcada que lleva a perjuicio de diversos tejidos, incluido el tejido óseo. La manifestación de estos cambios está sujeta a la influencia de varios factores como la gravedad de la enfermedad, la historia clínica y el tratamiento recibido a lo largo de la vida (incluidas las transfusiones y la consiguiente sobrecarga de hierro), entre otros. Además, hay cuestiones metodológicas involucradas en la evaluación ósea que necesitan aclaración. El objetivo general de esta tesis fue describir la salud ósea en individuos adultos con anemia de células falciformes. Los resultados se presentan en forma de dos artículos originales. En el primer artículo, investigamos la adecuación de la masa ósea debido a la presencia de sobrecarga de hierro, así como su asociación con indicadores bioquímicos de hemólisis y estado de hierro. La muestra estuvo constituida por sesenta y ocho individuos adultos (entre 19 y 59 años) de ambos sexos, divididos en dos grupos según la presencia (n=18) o ausencia (n=50) de sobrecarga de hierro indicada por valores de ferritina >1000 ng/mL. Los parámetros óseos se evaluaron mediante absorciometría de rayos X de doble emisión (DXA) e incluyeron datos de densidad mineral ósea (DMO) en diferentes sitios (columna lumbar, fémur total, cuello femoral y antebrazo) y microarquitectura ósea (puntuación ósea trabecular, TBS). En todo el grupo, el 56% de los individuos presentaron baja masa ósea en al menos uno de los sitios óseos evaluados, con mayor frecuencia en la columna lumbar. Los valores de TBS son compatibles con la microarquitectura degradada en más del 50% de los individuos. No se observaron diferencias significativas en los parámetros óseos evaluados entre los grupos en función de la sobrecarga de hierro. Las concentraciones de hierro, lactato deshidrogenasa (LDH), bilirrubina total y directa mostraron una asociación inversa con varios parámetros óseos evaluados (correlación de Spearman,  $P < 0,05$ ). En el segundo artículo, investigamos la densidad, la microarquitectura y la morfometría ósea de la columna lumbar en ochenta y seis individuos adultos (19 a 59 años) con anemia de células drepanocíticas. La morfometría se evaluó en una submuestra de treinta y tres individuos (>40 años). Observamos que más del 60% de los individuos con anemia de células drepanocíticas tenían un DMO bajo y fracturas moderadas o graves en al menos una vértebra. En el 53,5% de los individuos fue posible identificar la degradación (total o parcial) de la microarquitectura ósea por TBS. También observamos que el TBS fue sensible a demostrar alteración de la microarquitectura ósea incluso en individuos con puntuación Z normal y sin alteración morfológica de la columna vertebral. Los resultados obtenidos de los dos estudios sugieren que no hay un mayor deterioro de la masa ósea entre los individuos con anemia de células falciformes y sobrecarga de hierro. Sin embargo, las asociaciones entre los parámetros óseos y las concentraciones de LDH y bilirrubina sugieren una influencia de la intensidad de la hemólisis en la salud ósea de estos individuos. Incluso, sugerimos que la evaluación de la microarquitectura ósea puede contribuir a la detección precoz de alteraciones óseas en estos pacientes y que el estudio morfológico de la columna vertebral ayuda a aclarar el análisis de la estructura ósea de individuos con anemia falciforme y contribuye a la interpretación de las alteraciones de la densidad mineral ósea observadas en estos individuos.

Palabras clave: Densidad mineral ósea. DXA. Sobrecarga de Hierro. TBS. Morfometria. VFA.

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
±	Mais ou menos
g	Gramma
Kg	Quilograma
Kg/m <sup>2</sup>	Quilograma por metro ao quadrado
μL	Microlitro
mL	Mililitro
ng/dL	Nanograma por decilitro
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
g/cm <sup>2</sup>	Gramma por centímetro quadrado
ng/mL	Nanograma por mililitro
UI dia	Unidade internacional por dia

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Reação esquemática da fisiopatologia da doença falciforme .....	18
Figura 2 - Resumo esquemático das complicações esqueléticas na DF.....	22
Figura 3 - Mecanismos celulares envolvidos na perda óssea associada à sobrecarga de ferro.....	23
Figura 4 - Interpretação dos resultados da morfometria vertebral por Vertebral Fracture Assessment (VFA). Imagem IDXA Ge Lunar Healthcare, indicando compressão vertebral em T7.....	27
Figura 5 - Intepretação do TBS. ....	28

### Artigo 2

Figura 1 - Número de alterações morfológicas identificadas nas mulheres (A, n=19) e nos homens (B, n =14) com anemia falciforme.....	64
Figura 2 - Análise da microarquitetura óssea em função da presença ou ausência de alterações morfológicas e do Escore- Z nas vértebras de L1 a L4. ....	64
Quadro 1 - Características ósseas dos participantes outliers.....	65
Quadro 2 - Vértebras com alteração morfológica e deformidade em H dos participantes outliers .....	65

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

### Artigo 1

- Tabela 1 - Características gerais dos participantes segundo a ausência ou presença de sobrecarga de ferro (Ferritina  $\geq 1000$  ng/mL). ..... 49
- Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais de acordo com a ausência ou presença de sobrecarga de ferro (Ferritina  $\geq 1000$  ng/mL) em pacientes com anemia falciforme..... 49
- Tabela 3 - Parâmetros ósseos em função da sobrecarga de ferro segundo o sexo..... 50
- Tabela 4 - Distribuição dos indivíduos sem e com sobrecarga de ferro segundo a condição da microarquitetura óssea..... 50
- Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Spearman entre os marcadores bioquímicos de hemólise e os parâmetros ósseos ..... 51

### Artigo 2

- Tabela 1 - Características gerais dos indivíduos com anemia falciforme..... 62
- Tabela 2 - Parâmetros ósseos da coluna lombar em função da avaliação da microarquitetura por TBS de adultos com anemia falciforme..... 63
- Tabela 3 - Parâmetros ósseos da coluna lombar com e sem exclusão segundo diferentes critérios nos adultos acima de 40 anos de idade com anemia falciforme..... 63

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRASSO	Associação Brasileira de Avaliação Óssea e Osteometabolismo
AF	Anemia Falciforme
ATPase	Adenosinatrifosfatase
DF	Doença Falciforme
DMO	Densidade mineral óssea
DXA	Absorciometria por dupla emissão de raios-X, do inglês, <i>Dual-energy X-ray absorptiometry</i>
ELISA	Imunoensaio enzimático
HbA	Hemoglobina A
HbAS	Traço falciforme
HbC	Hemoglobina C
HbD	Hemoglobina D
HbF	Hemoglobina fetal
HbS	Hemoglobina S
HEMORIO	Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti
HUPE	Hospital Universitário Pedro Ernesto
INU	Instituto de Nutrição
ISCD	Sociedade Internacional de Densitometria Clínica, do inglês, <i>International Society for Clinical Densitometry</i>
LACFAR	Laboratório de Análises da Faculdade de Farmácia da UFRJ
LDH	Lactato desidrogenase
LIAN	Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional
NOF	Fundação Nacional de Osteoporose, do inglês, <i>National Osteoporosis Foundation</i>
NUTRIFAL	Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Proteína C reativa
TBS	Escore de osso trabecular, do inglês <i>Trabecular Bone Score</i>
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
VFA	Avaliação de fratura vertebral, do inglês <i>Vertebral Fracture Assessment</i>

## SUMÁRIO

	<b>APRESENTAÇÃO</b> .....	15
	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	16
1	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	17
1.1	<b>Epidemiologia da doença falciforme</b> .....	17
1.2	<b>Fisiopatologia da doença falciforme</b> .....	17
1.3	<b>Composição, estrutura e metabolismo ósseo</b> .....	20
1.4	<b>Implicações ósseas na anemia falciforme</b> .....	21
1.4	<b>Avaliação óssea além da densidade mineral</b> .....	26
2	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	29
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	30
3.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	30
3.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	30
4	<b>MÉTODOS</b> .....	31
4.1	<b>Desenho e população de estudo</b> .....	31
4.2	<b>Aspectos éticos</b> .....	32
4.3	<b>Antropometria</b> .....	32
4.4	<b>Exames laboratoriais</b> .....	32
4.5	<b>Análise por DXA</b> .....	33
4.5.1	<u>Avaliação da densidade mineral óssea</u> .....	33
4.5.2	<u>Avaliação da microarquitetura óssea</u> .....	34
4.5.3	<u>Avaliação das alterações morfológicas vertebrais</u> .....	35
4.6	<b>Análise dos dados</b> .....	35
5	<b>RESULTADOS</b> .....	37
5.1	<b>Artigo 1: Sobrecarga de ferro, indicadores de hemólise e suas associações com a densidade e a microarquitetura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme</b> .....	37
5.1.1	<u>Introdução</u> .....	37
5.1.2	<u>Métodos</u> .....	39
5.1.2.1	Coleta de dados gerais e antropométricos .....	39
5.1.2.2	Análises bioquímicas .....	40
5.1.2.3	Avaliação da massa e microarquitetura óssea .....	40
5.1.2.4	Análise estatística .....	41

5.1.3	<u>Resultados</u> .....	41
5.1.4	<u>Discussão</u> .....	43
5.1.5	<u>Referências Bibliográficas</u> .....	46
5.2	<b>Artigo 2: Densidade, microarquitetura e morfometria óssea da coluna lombar em adultos com anemia falciforme</b> .....	51
5.2.1	<u>Introdução</u> .....	52
5.2.2	<u>Métodos</u> .....	53
5.2.2.1	Desenho e população de estudo.....	53
5.2.2.2	Coleta de dados gerais e medidas antropométricas .....	53
5.2.2.3	Densidade mineral óssea (DMO) .....	54
5.2.2.4	Microarquitetura óssea .....	54
5.2.2.5	Avaliação de fratura vertebral .....	55
5.2.2.6	Análises estatísticas.....	55
5.2.3	<u>Resultados</u> .....	56
5.2.4	<u>Discussão</u> .....	57
5.2.7	<u>Referências Bibliográficas</u> .....	60
	<b>CONCLUSÕES</b> .....	66
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	67
	<b>PRINCIPAIS ACHADOS</b> .....	73
	<b>ANEXO A</b> - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto /Universidade Estadual do Rio de Janeiro(UERJ). .....	74
	<b>ANEXO B</b> - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio).....	75



## APRESENTAÇÃO

A presente tese faz parte do projeto “Estudo da relação entre o estado nutricional, taxa metabólica basal e níveis séricos de antioxidantes em adultos com anemia falciforme”, integrando uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL). O NUTRIFAL foi criado em 2010, por meio de uma parceria entre o Instituto de Nutrição da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e o Ministério da Saúde, tendo 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.

Elegeram-se como campo de aplicação da pesquisa o Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e o Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), ambos referência no tratamento de doenças hematológicas no estado do Rio de Janeiro.

O objetivo desta tese foi avaliar a densidade e a qualidade óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme pois, tanto a presença de alterações ósseas, como os fatores associados ao seu aparecimento permanecem pouco elucidados.

Este documento está estruturado nos seguintes capítulos: introdução; revisão da literatura; justificativa; objetivos; métodos; resultados e discussão; conclusões. Os materiais complementares utilizados no estudo estão apresentados no capítulo “apêndice”. O capítulo “Resultados” foi desenvolvido no formato de dois artigos científicos. O primeiro intitula-se “Influência da sobrecarga de ferro sobre a densidade e a microarquitetura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme” e o segundo intitula-se “Avaliação da densidade, microarquitetura e morfometria óssea da coluna lombar em adultos com anemia falciforme”: Ambos serão submetidos à avaliação para publicação em periódico de circulação internacional.

## INTRODUÇÃO

A anemia falciforme é uma doença genética ligada a alterações morfológicas e funcionais dos glóbulos vermelhos que causam um conjunto de manifestações clínicas associadas a lesão vascular e a anormalidades da coagulação (GUARDA et al., 2019). A causa da doença é a mutação do gene que produz a hemoglobina A, originando uma mutante, a hemoglobina S (HbS) (REES, et al., 2010). O gene da HbS pode combinar-se com outras anormalidades hereditárias das hemoglobinas, como hemoglobina C (HbC), hemoglobina D (HbD), talassemia (alfa/beta), entre outras (NAOUM, 2000), que caracterizam as várias formas de doença falciforme. A anemia falciforme é caracterizada pela homozigose da HbS e os indivíduos com essa doença apresentam as formas clínicas mais graves (KATO, 2018).

No Brasil, a anemia falciforme é a doença hematológica de origem genética mais prevalente (NAOUM, 2000; MANFREDINI et al., 2007), sendo considerada um problema de saúde pública. Até a década de 1990, a expectativa de vida dos indivíduos com doença falciforme não ultrapassava a quarta década (THEIN et al., 2016). No entanto, a expectativa de vida vem aumentando se aproximando à da população em geral (PIEL et al., 2017).

Em decorrência da fisiopatologia da doença, são observadas manifestações clínicas em diversos órgãos e sistemas, incluindo alterações esqueléticas. Em estudos com indivíduos com anemia falciforme é observada uma alta prevalência de complicações ósseas, tais como necrose avascular, deformidades da coluna vertebral, baixa massa óssea, osteoporose e fraturas (OSUNKWO., 2013; FRANCHESCHI et al., 2020). Embora diversos autores descrevam elevada frequência de baixa densidade mineral óssea em indivíduos com anemia falciforme (MILLER et al., SARRAI et al., 2006; BALDANZI et al., 2011), há questões fisiopatológicas e metodológicas envolvidas nesta avaliação que ainda carecem de esclarecimento. Além disso, a maioria dos estudos concentra-se na avaliação da densidade mineral óssea, sendo poucos os que se utilizam de avaliações complementares (VALDEBÁRRANO et al, 2019). Como as manifestações ósseas são capazes de gerar incapacidade física crônica progressiva é fundamental o seu estudo buscando novas estratégias de diagnóstico e tratamento, a fim de melhorar o estado de saúde dessas pessoas (ODIÉVRE et al., 2011; GADARAH et al, 2015).

## **1 REVISÃO DA LITERATURA**

### **1.1 Epidemiologia da doença falciforme**

A anemia falciforme (AF) é reconhecida como um problema de saúde pública mundial (WHO AFRICA, 2011; UNITED NATIONS, 2014), com maior prevalência de número de casos na África subsaariana, na bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia devido ao considerável nível de proteção que o traço falciforme fornece contra a malária grave (PIEL et al., 2017). Estima-se que no ano de 2010, nasceram no mundo aproximadamente 312 mil crianças com AF (HbSS) e aproximadamente 5 milhões com heterozigose para a hemoglobina S. A morbimortalidade da anemia falciforme, forma homozigótica da doença, é influenciada pela idade e está relacionada aos cuidados de saúde no país em que o indivíduo reside (Piel et al., 2013).

No Brasil, trata-se da doença hereditária monogênica mais comum, ocorrendo, predominantemente, entre os afrodescendentes, cuja distribuição do gene S varia entre os estados (CANÇADO, 2007). O traço falciforme é caracterizado pela heterozigose para o gene da hemoglobina S e os indivíduos geralmente são assintomáticos. Sua identificação na triagem neonatal possibilita a orientação de casais com maiores possibilidades de ter um filho com a doença (Brasil, 2004). Neste contexto é importante destacar que a estimativa é de que a cada ano nasçam 3.000 crianças com doença falciforme e 200.000 com traço falciforme no nosso país (BRASIL, 2012).

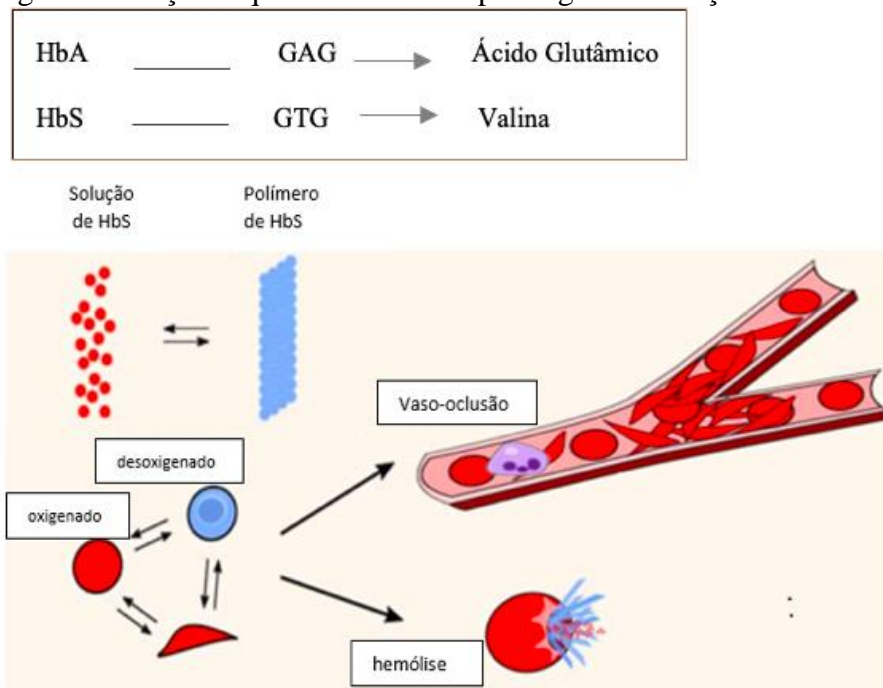
### **1.2 Fisiopatologia da doença falciforme**

A estrutura da hemoglobina é formada por quatro subunidades, compostas de dois pares de cadeias de globinas que podem ser de 4 tipos: alfa, beta, delta e gama. Cada cadeia polipeptídica é quimicamente ligada a um grupo prostético de ferro, o grupamento heme. As combinações entre as diversas cadeias de proteínas dão origem as diferentes hemoglobinas presentes nas hemácias desde o período intrauterino até a vida adulta. No período gestacional, a hemoglobina fetal (HbF) é composta por quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias alfa e duas cadeias gama (FERRAZ et al., 2007). Após o nascimento e até os seis meses de vida ocorrem alterações necessárias para a adaptação às diferentes tensões de oxigênio nos pulmões, e a síntese da HbF é permanentemente substituída pela síntese da hemoglobina A (HbA). Esta

última é constituída por duas cadeias polipeptídicas alfa e duas cadeias polipeptídicas beta (FRANCO et al, 2006; FERRAZ et al., 2007).

A etiologia da anemia falciforme é uma mutação pontual no cromossoma 11 do gene beta da globina, em que há a substituição de uma base nitrogenada do códon GAG para GTG, resultando na troca do ácido glutâmico (Glu) pela valina (Val) na posição número seis do gene. Desta substituição origina-se uma molécula de hemoglobina anormal denominada hemoglobina S (HbS) (NAOUM, 2000; GALIZA NETO et al., 2003; THEIN et al., 2016) (Figura 1). A modificação na estrutura espacial da HbS permite a sua ligação a uma molécula adjacente de hemoglobina, provocando a formação de polímeros de filamentos que podem se ligar compondo microtúbulos denominados tactóides, que deformam as hemácias (ODIÈVRE et al., 2011). A deformação mais conhecida ocorre quando os feixes de polímeros se organizam paralelamente, dando à hemácia uma forma alongada conhecida por hemácia em forma de foice (ZAGO, 2007; REES et al., 2010; ODIÈVRE et al., 2011) (Figura 1).

Figura 1. Reação esquemática da fisiopatologia da doença falciforme



A substituição da adenina (A) por timina (T) no sexto códon do gene  $\beta$ -globina provoca a substituição do ácido glutâmico pela valina. Quando desoxigenada a HbS polimeriza-se, resultando em alteração na forma da hemácia (em formato de foice) e em danos da membrana celular. Algumas hemácias falcizadas se aderem às células do endotélio, levando à vaso-oclusão e provocando lesão por reperfusão e inflamação. Uma parte da hemólise que ocorre no interior dos vasos sanguíneos, ocasiona lesão endotelial e inflamação. Fonte: Adaptado de Steinberg, 2020

Diversos fatores podem favorecer a hipóxia, que é responsável pela manutenção do fenômeno falcêmico, tais como a quantidade de hemoglobina S e de hemoglobina fetal, tensão

de oxigênio, pH do sangue, hiperosmolaridade, fragilidade mecânica da célula falciforme e hemólise extravascular (BATISTA e ANDRADE, 2005). Além disso, é necessário que haja retardo na circulação sanguínea, pois o fenômeno de falcização não é instantâneo, uma vez que, se a hemoglobina voltar a se oxigenar, ela pode retomar a sua forma discóide (ZAGO, 2007). Ainda que isso ocorra, a formação de polímeros de HbS dentro das hemácias, mesmo que reversível, com o tempo leva à falência parcial das bombas de sódio, potássio, cálcio e ATPase. Por conseguinte, a permeabilidade da membrana celular se altera, fornecendo assim uma nova passagem para a perda de água e favorecendo a desidratação eritrocitária. Com a perda de água, a concentração de HbS corpuscular média aumenta, facilitando novas polimerizações da HbS. O estágio final deste processo são hemácias irreversivelmente falcizadas (ZAGO, 2007; REES et al., 2010; ODIÈVRE et al., 2011). As hemácias densas com altas concentrações de hemoglobina corpuscular média apresentam baixa afinidade pelo oxigênio e alta viscosidade acarretando a anemia hemolítica e consequentemente menor sobrevida do indivíduo com anemia falciforme (NAOUM, 2000; ODIÈVRE et al., 2011). A HbS polimerizada no endotélio vascular gera oclusão na microcirculação e isquemia, seguida por restauração do fluxo sanguíneo, o que promove lesão tecidual mediada por reperfusão. Estes ciclos de isquemia e reperfusão resultam em hemólise, disfunção endotelial, inflamação, hipercoagulabilidade e estresse oxidativo, sendo este o principal mecanismo responsável pelos fenômenos vaso-oclusivos, característicos do indivíduo com anemia falciforme (PLATT, 2000; REES et al., 2010).

O processo fisiopatológico da hemólise também é impulsionado pela polimerização da HbS. A hemólise intravascular está relacionada com o estresse oxidativo e contribui para o desenvolvimento da disfunção endotelial, inflamação e consequentemente vasculopatia progressiva (KATO; STEINBERG et al., 2020). Tanto a vaso-occlusão como a hemólise podem desencadear sintomas dolorosos agudos, sendo a principal causa de morbidade na anemia falciforme, podendo acometer vários órgãos e sistemas gerando complicações que impactam no estado de saúde destes indivíduos (YAWN, et al, 2014; VAISHYA, et al., 2015; THEIN, et al., 2016).

A incidência e a prevalência dos sintomas clínicos e de complicações variam de acordo com a faixa etária e alterações bioquímicas (BRASIL, 2002). Dentre as complicações, destacam-se as neurológicas (acidente vascular cerebral por oclusão parcial ou total de grandes vasos cerebrais e formação de trombos), pulmonares, priapismo, nefropatia, complicações hepatobiliares, tromboembolismo venoso, além de apresentar risco de desenvolver alterações ósseas agudas e crônicas (THEIN et al., 2016). As complicações esqueléticas podem ser agudas,

como a artrite séptica e osteomielite, ou crônicas, como necrose avascular, osteonecrose e fragilidade óssea por diminuição da massa óssea (ALMEIDA, 2005; THEIN et al., 2016).

### 1.3 Composição, estrutura e metabolismo ósseo

O osso é um tecido conjuntivo especializado, mineralizado e metabolicamente ativo, que, em conjunto com a cartilagem, compõe o sistema esquelético. Possui funções de suporte para os músculos e de sustentação do corpo, proteção dos órgãos vitais e da medula óssea, sendo o principal local de reserva de íons cálcio e o mais importante regulador sistêmico deste mineral no organismo (SUDA, 1992; BARON, 1993; MC CLUNG, et al., 2017). É composto por uma fração orgânica e uma fração inorgânica. A fração orgânica é formada por fibras colágenas que representam 95% de toda a matriz, sendo responsável pela capacidade plástica do osso. A fração inorgânica representa 50% do peso da matriz óssea e é composta principalmente por íons de fosfato e cálcio, com importante influência nas propriedades mecânicas do osso, proporcionando rigidez e resistência óssea (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

O tecido ósseo é também constituído por três tipos de células: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Apesar de se inter-relacionarem, estas células diferem de função. Os osteoblastos são oriundos de células mesenquimais indiferenciadas e produzem a matriz óssea que posteriormente será mineralizada. Os osteócitos derivam de osteoblastos e formam uma rede sensorial que responde às tensões mecânicas sofridas pelo esqueleto. Estão localizados em cavidades ou lacunas dentro da matriz óssea. Os osteoclastos são derivados dos macrófagos e responsáveis pela reabsorção óssea (PARFITT, 2011; FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

Os osteócitos são responsáveis por gerenciar os processos de formação e reabsorção óssea que, em situações normais em um indivíduo adulto, encontram-se em equilíbrio resultando em manutenção do conteúdo mineral ósseo. Se houver desequilíbrio deste processo, com predomínio de uma fase sobre a outra, teremos como resultado ganho ou perda da massa óssea (HEANEY, 2003; FLORENCIO-SILVA et al., 2015). Tanto a formação quanto a reabsorção óssea resultam na liberação de moléculas na corrente sanguínea que podem ser utilizadas como marcadores bioquímicos de remodelação sendo úteis para a avaliação da dinâmica do metabolismo ósseo. Os marcadores de formação óssea são majoritariamente produtos dos osteoblastos, e os marcadores de reabsorção são sobretudo oriundos da matriz colágena degradada pela atividade osteoclástica (SEIBEL, 2005; SARAIVA, 2002; PIETSCH, 2016).

A estrutura e a densidade óssea, bem como suas alterações, podem ser avaliadas diretamente por métodos de imagem tais como a tomografia computadorizada (TC), tomografia

computadorizada quantitativa periférica de alta resolução (HRpQCT), ressonância magnética, absorciometria por dupla emissão de raios X (DXA) e biópsia óssea. O método mais amplamente utilizado para a avaliação da densidade mineral óssea (DMO) é o DXA (KANIS, 2005). A baixa DMO, é um forte preditor de fraturas, especialmente no colo femoral. A cada redução de um desvio padrão na DMO, o risco de fratura aumenta em duas a três vezes. No entanto, além das medidas da DMO, é importante identificar fatores de risco clínicos para a osteoporose e fraturas (RADOMINSKI et al., 2017). Além disso, embora a DMO seja o principal determinante da resistência óssea e do risco de fratura, a microarquitetura óssea trabecular constitui um componente importante a ser avaliado. Nos últimos 10 anos, o escore do osso trabecular (TBS) vem sendo utilizado como ferramenta complementar às medidas da DMO como método de avaliação da estrutura trabecular óssea utilizando as imagens de varredura DXA (HANS et al., 2011).

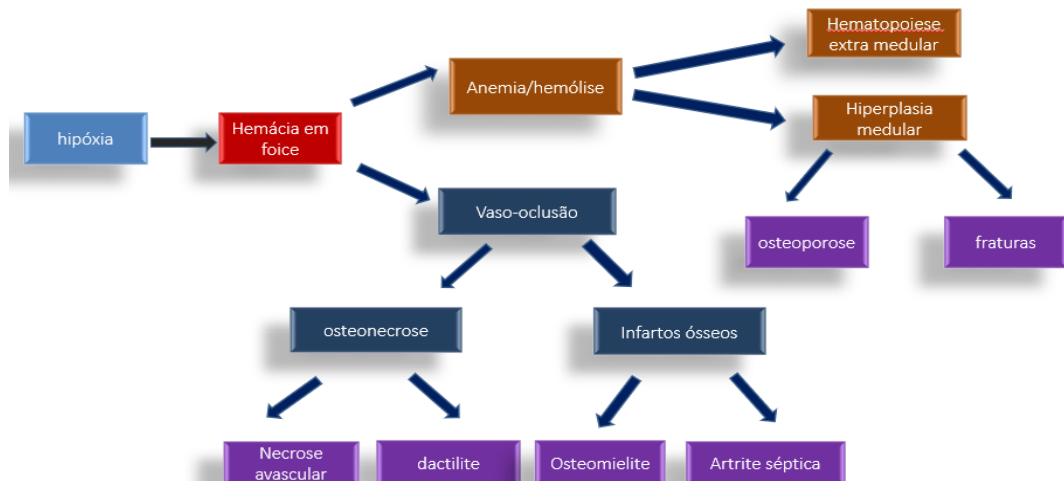
#### 1.4 Implicações ósseas na anemia falciforme

As manifestações ósseas são comuns na DF e descritas como importante causa de incapacidade crônica de caráter progressivo (SARRAI, 2007; BALDANZI, 2011). Entretanto, os estudos que se referem a estas complicações são escassos e a fisiopatologia das implicações ósseas não está totalmente esclarecida (BEZERRA, 2012; GIORDANO, 2021). As causas são atribuídas principalmente à hemólise causando intensa eritropoiese e hiperplasia medular. Como resultado da expansão medular, há diminuição da espessura cortical e trabecular óssea ocasionando fragilidade óssea e fraturas. A vaso-oclusão pode resultar em trombose arterial associada principalmente à falcização das hemácias que, quando presente em vasos responsáveis pela irrigação óssea, leva à hipóxia tecidual e osteonecrose.

As manifestações ósseas podem ser agudas, representadas por crises dolorosas localizadas em uma ou mais regiões do esqueleto, osteomielite, artrite séptica, necrose avascular, principalmente na cabeça femoral, e dactilite, que ocorre quase que exclusivamente em crianças abaixo dos 5 anos. As manifestações crônicas, relacionadas principalmente com a baixa massa óssea, são: osteoporose, colapso vertebral e risco aumentado para fraturas em outros sítios ósseos (KOSARAJU, 2017; GIORDANO, 2021). É importante destacar que na coluna vertebral ocorre uma das manifestações ósseas mais características da doença, a deformidade referida como “boca de peixe” ou “vértebra em formato de H” devido ao formato bicôncavo da vértebra que caracteriza o colapso vertebral, que pode ocorrer devido aos infartos ou fragilidade óssea (VALDEBÁRRANO et al, 2019). Apesar da associação da DF com baixa massa óssea ser reconhecida por diversos autores (MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007;

SADAT-ALI et al., 2008), os fatores que a determinam ainda não estão totalmente elucidados (JENEY, 2017; BORDBAR, 2017). É importante ressaltar que diferente do que ocorre na população em geral, ela independe de fatores de risco como idade, sexo e estado da menopausa (BORDBAR, 2017; GIORDANO, 2021). Além da hemólise, outras causas são sugeridas para explicar a razão da baixa massa óssea, tais como sobrecarga de ferro em consequência das transfusões de sangue que podem ser frequentes nesses indivíduos, deficiência de vitamina D, atraso puberal, doenças hepáticas e renais relacionadas à DF (GIORDANO, 2021). Outros fatores, que podem também estar relacionados parcialmente à baixa massa óssea, são inflamação, desnutrição e baixa atividade física (BORDBAR, 2017).

Figura 2 - Resumo esquemático das complicações esqueléticas na DF



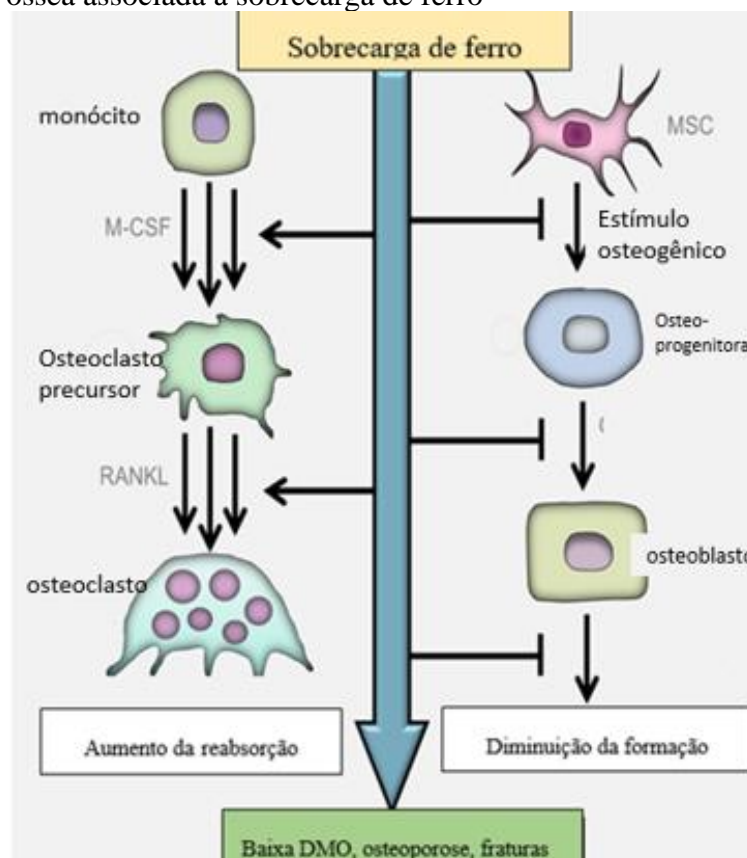
Fonte: Adaptado de KOSARAJU, 2017

Face às diversas causas para baixa massa óssea nos indivíduos com AF, não há consenso em relação aos fatores determinantes da sua ocorrência (RUDY, 2019). Baldanzi e colaboradores (2011) sugerem que a baixa massa óssea de indivíduos com DF se deve à hemólise, caracterizada pelo aumento dos níveis de LDH e de reticulócitos, bem como diminuição dos níveis de hemoglobina (BALDANZI et al., 2011). Estes achados corroboram parcialmente com o estudo de Sarrai e colaboradores (2006) que associou a baixa massa óssea de indivíduos com DF com menores concentrações de hemoglobina, mas também ao IMC (SARRAI et al., 2006). Em contrapartida, ao avaliar os fatores associados à atividade dos osteoclastos, estimada pelas concentrações de fosfatase ácida tartarato-resistente (TRACP 5b), Nourai e colaboradores (2011) observaram que os marcadores inflamatórios (interleucina 6 e 8) foram os preditores independentes mais importantes das concentrações de TRACP 5b. As concentrações de ferritina não apresentaram associação com as concentrações de TRACP 5b, sugerindo que, ao invés da sobrecarga de ferro, é a inflamação que estimula a atividade dos osteoclastos na anemia falciforme (NOURAI et al., 2011). Essa hipótese é apoiada por RUDY



e colaboradores (2019) que também relacionaram a ação de citocinas inflamatórias ao aumento da reabsorção óssea (RUDY et al., 2019). No entanto, o estudo de revisão de Jeney e colaboradores (2017) sugere mecanismos que justificam a baixa massa óssea por sobrecarga de ferro tanto devido ao aumento da reabsorção como por inibição da formação óssea (JENEY, 2017) (Figura 3). Um estudo transversal revelou que cerca de 70% dos pacientes com DF com ferro sérico elevado apresentavam menor massa óssea, sugerindo assim um efeito negativo do excesso de ferro sobre o osso (SADAT-ALI et al., 2011).

Figura 3 - Mecanismos celulares envolvidos na perda óssea associada à sobrecarga de ferro



Os osteoclastos são diferenciados das células mielóides da linhagem monócito/macrófago. A diferenciação é iniciada pelo fator estimulante da colônia de macrófagos (M-CSF) e pelo Ligante do Receptor Ativador do Fator Nuclear kappa B (RANKL). Os osteoclastos multinucleares são formados através da fusão de precursores osteoclastos mononucleares. O ferro facilita a diferenciação, ativação e reabsorção óssea. Os osteoblastos derivam de células-tronco mesenquimais multipotentes (MSCs). O ferro inibe a diferenciação osteogênica das MSCs e inibe a mineralização da matriz extracelular. O aumento da reabsorção óssea por osteoclastos e a diminuição da formação óssea por osteoblastos contribui para a perda óssea em pacientes com sobrecarga sistêmica de ferro. Fonte: Adaptado de Jeney, 2017.

Por outro lado, há também estudos que, por questões metodológicas, associam a ocorrência de DMO elevada em diferentes áreas do esqueleto em consequência principalmente dos infartos ósseos (NELSON et al, 2003; ALLARD et al, 2018) ou mesmo,

por sobreposição do fígado com sobrecarga de ferro, a nível das primeiras vértebras lombares, ocasionando falha na interpretação dos resultados da DMO (DE LUNA et al, 2018). A falta de consenso entre os estudos, entretanto, não é atribuída apenas aos fatores determinantes da baixa massa óssea. Pode, também, ser parcialmente atribuída à faixa etária heterogênea dos diferentes grupos estudados, aos diferentes genótipos incluídos (HbSC, HbS $\beta$ +Tal, HbS $\beta$ 0Tal), ao comprometimento multifatorial e, especialmente, à adoção de diferentes métodos para avaliação da massa óssea, assim como diferentes sítios ósseos avaliados. A maioria dos estudos evidencia diminuição da DMO e até mesmo osteoporose (BRINKER et al., 1998; MILLER et al., 2006; SARRAY et al., 2006; OSUNKWO, 2013, GADARAH et al., 2015). Em contrapartida, outros estudos apontam problemas na realização dos exames de densitometria que surgem quando a anatomia de um paciente é alterada (fatores internos) ou na presença de órteses ortopédicas, piercings ou outros artefatos (fatores externos), comprometendo o resultado fornecido pelo equipamento (NELSON et al., 2003; ALLARD et al.; DE LUNA et al., 2018) (Quadro 1).

Quadro 1. Estudos que avaliaram a densidade mineral óssea em indivíduos adultos com doença falciforme

	<b>População estudada</b>	<b>Genótipo</b>	<b>Tipo de estudo</b>	<b>Método de avaliação óssea</b>	<b>Principais resultados obtidos</b>
Nelson et al, 2003	Afro-Americanos, 18-50 anos: Com DF - 14 H/ 18 M Controles - 15 H/ 15 M	HbSS (24) HbSC (04) HbS/ $\beta$ (04)	Corte transversal Estudo prospectivo	pQCT (Norland Stracted XCT 960) Medidas: rádio ultra distal não dominante.	DMO cortical +trabecular 13% menor nos pacientes com DF. DMO trabecular : não houve diferença significativa em relação ao grupo controle. Não foi observado diferença entre os fenótipos.
Miller et al, 2006	Adultos com DF, 18-55 anos: 14 H / 18 M	HbSS (21) HbSC (8) HbS/ $\beta$ (3)	Corte transversal Estudo prospectivo	DXA (Hologic 4500) Medidas: coluna lombar (L1-L4), colo femoral, fêmur total, trocânter e antebraço.	72% dos pacientes apresentaram baixa DMO em um ou mais sítios anatômicos. A prevalência de baixa DMO na coluna lombar 66% , no colo femoral 50% e no radio distal 31%. A baixa DMO foi maior nos homens 92% vs 55% nas mulheres.
Sarrai et al, 2006	Adultos com DF, 15-80 anos: 30 H/ 73 M	HbSS (60) HbSC (25) HbS $\beta$ +Tal (11) HbS $\beta$ 0Tal (7)	Corte transversal Estudo retrospectivo e prospectivo	Análise de prontuários e resultados DXA . (DPX $\alpha$ GE, Hologic 4500, Prodigy Advanced GE), DPX A Lunar-GE. Medidas:coluna lombar, colo femoral e rádio ultradistal.	Baixa DMO associada com menor IMC , menor nível de Hb e maiores concentrações de ferritina. Sem relação com estado de menopausa,sexo ou idade. Baixa DMO mais prevalente nos indivíduos HbSS . Maior tendência a baixa DMO na coluna lombar.
Voskaridou et al, 2006	Adultos, 23-70 anos:	HbS $\beta$ +Tal (52)	Corte transversal	Rx: coluna lombar e colo	RX : coluna lombar( fraturas =0) ; DXA: osteopenia /

	Com DF - 23 H/ 29 M Controles - 10 homens/ 15 mulheres		Estudo prospectivo	femoral direito e esquerdo. DXA GE (sem especificação) Medidas: coluna lombar (L1-L4), colo femoral	osteoporose (17), osteosclerose(30). Pacientes com osteosclerose apresentaram aumento da DMO. Hipótese: Pacientes com HbS / $\beta$ -talassemia podem desenvolver osteopenia / osteoporose devido à expansão da medula óssea ou osteoesclerose devido à isquemia após uma crise vaso-oclusiva.
Baldanzi et al. (2011)	Adultos brasileiros , N= 65, 20-65 anos	HbSS e HbS $\beta$	Corte. Transversal Estudo prospectivo	DXA GE DPXL. Medidas: DMO coluna lombar (L1-L4) e colo femoral.	DMO normal (12), osteopenia (37) , osteoporose (16). Pacientes com osteopenia / osteoporose tiveram aumento dos níveis de LDH e contagem de reticulócitos quando comparados com pacientes com DMO normal. Pacientes com osteoporose apresentaram diminuição dos níveis de hemoglobina. A alta prevalência de baixa DMO foi associada à hemólise nesta população.
Sadat-Ali, et al, 2008	Adultos ,com AF, 27 $\pm$ 6,7 anos 45 H/ 58M	HbSS (103)	Corte transversal Estudo Observacional	DXA coluna lombar e colo femoral	-DMO baixa em 62,2% dos homens e 67,06% das mulheres . A osteoporose estava associada a baixos níveis de estradiol em homens e mulheres. Apenas 1 homem apresentou níveis de testosterona abaixo do normal. -Os esteróides sexuais desempenham um papel importante no desenvolvimento da osteopenia/osteoporose.
Gadarah, et al, 2015	55 adultos HbSS $\geq$ 18 anos 55 controles 33 H / 22 M	HbSS	Corte transversal Estudo prospectivo	DXA GE Healthcare Lunar Prodigy Advanced. Medidas: coluna lombar (L1-L4) colo femoral e fêmur total.	DMO normal (22), osteopenia (20), osteoporose (13). Osteopenia/osteoporose: Coluna lombar (18), radio distal (10), colo femoral (5). pacientes do grupo controle: osteopenia (2) Pacientes com osteoporose apresentaram baixas concentrações séricas de vitamina D3 ( $\leq$ 20 ng / mL) e de testosterona ( $\leq$ 0.9 ng / mL).
Allard et al, 2018	Talassemia, 38 H / 50 M Doença falciforme 7 H/ 19 M > 24 até 40 anos.	Tal (88) DF (26) Controles (22)	Corte transversal Estudo retrospectivo	Hologic Discovery A Medidas: Coluna lombar (L1/L2)/(L3-L4) LIC:SQUID biosusceptometer, modelo 5700 Ferritometer (Tristan Tech., San Diego, CA)	8% dos pacientes com sobrecarga de ferro e apresentaram Z-Score normal na coluna na análise L1-L4. Quando excluídas L1-L2 destes pacientes houve redução do Z-Score -2.0 DP A sobrecarga de ferro maior que 5000 mg de Fe/g de peso úmido (30 mg FE/g de peso seco), pode alterar a leitura do DXA a nível de L1-L2.

De Luna, 2018	N=135 indivíduos >17 anos 49 H /86 M África Subsaariana (76%) e Caribe francês (18%)	SS(97), SC(28), Sβ+(6) Sβ <sup>β</sup> (4)	Estudo transversal, prospectivo observacional	DXA Hologic QDR 4500. Medidas: coluna lombar (L1-L4) e colo femoral direito. RX da coluna lombar e quadril DMO elevada definida por Z-Score +2,5DP	-DMO elevada em 20 pacientes: SS(11), SC(5), Sβ+(3), Sβ <sup>β</sup> (1) em pelo menos 1 sítio ósseo. DMO elevada em coluna e femur (6). Predomínio pacientes com genótipo SS/ Sβ <sup>β</sup> talassemia e mais velhos (p=0,0007) Em pacientes com DMO elevada a média do Z-score foi +2,7 (coluna lombar) e +3,2 (colo femoral ). ZScore < -1 DP (49 pacientes); ZScore ≤ -2,5DP (11 pacientes).
---------------	--	--	---	--	--

Fonte: Autoria própria, 2021

#### 1.4 Avaliação óssea além da densidade mineral

A absorciometria por dupla emissão de raios-X (DXA) é o método mais frequentemente utilizado na avaliação óssea. Este método é capaz de quantificar o grau de atenuação do feixe energético de fótons, oriundo do tubo de raios-X depois deste ter atravessado o tecido mole corporal e o tecido ósseo. O feixe energético pode ser único (equipamentos tipo pencil-beam) ou em leque (equipamentos fan-beam). Esta diferença, assim como os detectores de cintilação, determina a velocidade e a qualidade da imagem da varredura obtida (BOWNICK, 2012). A imagem do DXA é bidimensional e calcula os valores de DMO integralmente (osso cortical e trabecular). A sua aplicação inclui sítios esqueléticos centrais, nos quais há predomínio de fraturas, como na coluna lombar ou no fêmur proximal, e sítios periféricos, como o antebraço. Além disso, a dose de radiação utilizada é baixa, e seu custo não é elevado quando comparado a outros métodos. Dentre suas aplicações clínicas destaca-se sua utilização para o diagnóstico de osteoporose, segundo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) (KANIS, 1994), com determinação do risco relativo de fraturas nas várias regiões esqueléticas, e monitoramento da massa óssea em análises sequenciais, permitindo identificar pacientes candidatos à intervenção terapêutica (NOF, 2014).

As fraturas por fragilidade são resultado da perda da resistência óssea relacionada à qualidade, densidade e geometria óssea (KANIS, 1994), sendo a DMO considerada a medida mais importante para previsão de osteoporose (LOURES, 2017). No entanto, a análise por DXA apresenta limitações. É uma técnica de análise óssea bidimensional e seus resultados são expressos por densidade de área, incluindo osso cortical e osso trabecular (ALLARD et al., 2018).

Mais recentemente, com o propósito de superar, em parte, suas limitações, foram disponibilizadas algumas ferramentas (*softwares*) que permitem varreduras em posicionamentos adicionais, assim como análises a partir de imagens do DXA pré-existent.

Essas ferramentas, tais como a que permite a análise da coluna em perfil (Vertebral Fracture Assessment – VFA) e o escore de osso trabecular (Trabecular Bone Score – TBS), podem ser úteis na elucidação das alterações ósseas desses indivíduos e consequentemente podem contribuir para uma interpretação mais adequada da DMO dos pacientes com doença falciforme.

A partir da morfometria da coluna em perfil por DXA, utilizando o *software* VFA, é possível visualizar as vértebras T7 a L4. A análise é semiquantitativa e utiliza critérios de análise visual (GENANT et al., 1993), sendo capaz de identificar fraturas e deformidades vertebrais. São calculadas as alturas anterior, média e posterior das vértebras por pontos posicionados em cada vértebra, além de rotular o grau de comprometimento das mesmas (Figura 4).

Figura 4 - Interpretação dos resultados da morfometria vertebral por Vertebral Fracture Assessment (VFA). Imagem IDXA Ge Lunar Healthcare, indicando compressão vertebral em T7.

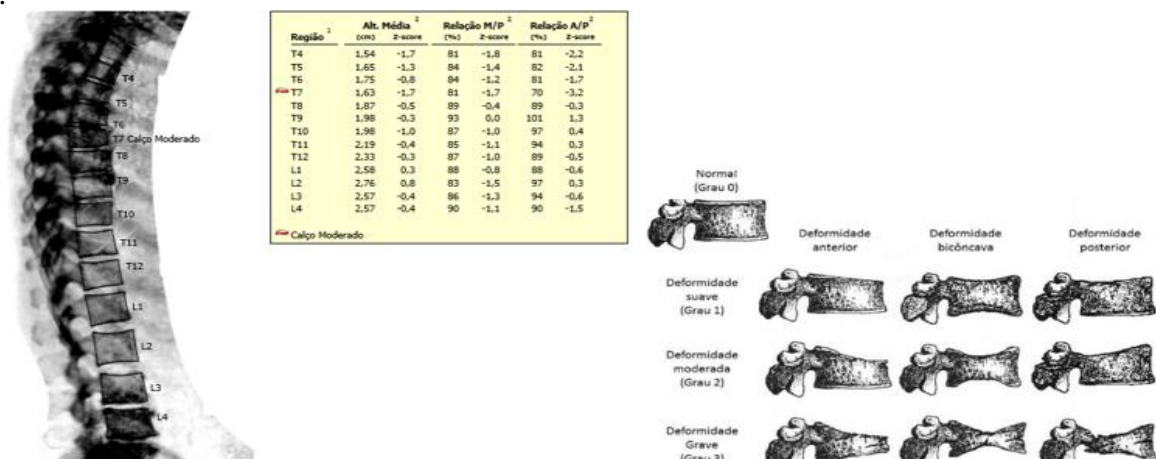
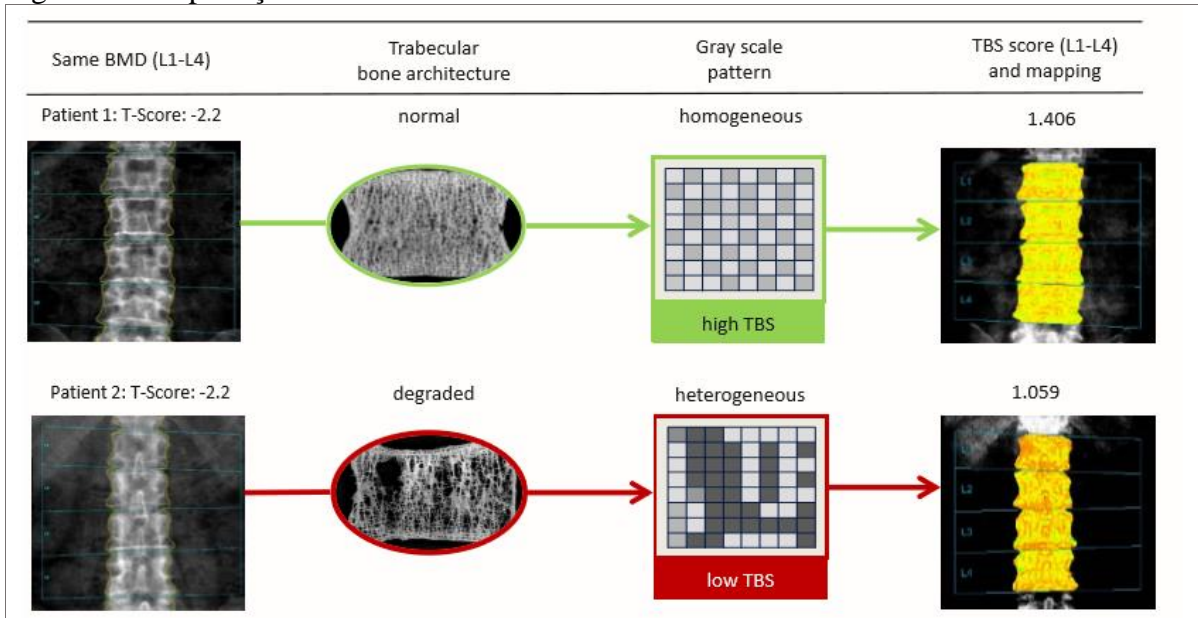


Imagem obtida por VFA, IDXA, Lunar -GE, 2011

O TBS é um *software* avançado de imagem desenvolvido para o DXA que utiliza os dados de coluna pósterio-anterior, obtidos durante os exames de rotina. A varredura da coluna pelo DXA tradicional não possui resolução suficiente para identificar trabéculas individuais. O *software*, portanto, gera um parâmetro complementar na avaliação do risco de fratura baseado na distribuição da textura óssea. Seus princípios são baseados na propriedade fractal da microarquitetura óssea projetada em 2D. O resultado é expresso como escore trabecular ósseo derivado de um algoritmo patenteado que avalia a distribuição espacial da escala de cinza dos pixels na imagem digitalizada do DXA (Figura 5), proporcionando um índice indireto, altamente correlacionado à microarquitetura óssea, independente da densidade mineral óssea (Winzenrieth et al., 2013). Um baixo valor de TBS está associado à degradação da estrutura óssea. Os seguintes valores de TBS têm sido utilizados como referência:  $\leq 1,230$  corresponde a

microarquitetura degradada (alto risco de fratura);  $>1,230$  e  $<1,310$  corresponde a microarquitetura parcialmente degradada (risco intermediário de fratura);  $\geq 1,310$  corresponde a normalidade (baixo risco de fratura) (MC CLOSKEY et al., 2016).

Figura 5 - Interpretação do TBS.



Os valores de TBS são determinados por um algoritmo e são demonstrados por intensidade de pixel que corresponde a diferenças na força de absorção de um osso com trabéculas normais versus osso osteoporótico. Neste exemplo, os dois pacientes têm uma DMO similar, no entanto possuem estrutura e risco de fratura diferentes.

Fonte: Adaptado de Silva, 2014

Indivíduos com doença falciforme podem apresentar alterações ósseas em diversas fases da vida, pela gravidade da doença. Por esta perspectiva, a presença de fraturas, deformidades vertebrais, osteonecrose (ALMEIDA, 2005; DELUNA, 2018) ou mesmo a sobrecarga de ferro podem influenciar na leitura das medidas por DXA (ALLARD, 2018). Neste sentido, a utilização de novas ferramentas inseridas no DXA pode contribuir para uma leitura mais efetiva dos resultados.

Até o momento, o VFA e o TBS foram pouco explorados na doença falciforme. O VFA foi capaz de mostrar alta prevalência de alterações morfológicas vertebrais em indivíduos com diferentes genótipos da DF (MUSKAT et al., 2015; SERARSLAN et al., 2010; RUDY et al., 2019; FRANCESCHI, et al., 2020). Por outro lado, o TBS até o momento só foi explorado em estudos com indivíduos com talassemia demonstrando que a combinação da baixa DMO com baixo TBS resultou em maior prevalência de fraturas. Não foram encontrados estudos avaliando a qualidade óssea de indivíduos com AF utilizando o TBS. É importante ressaltar que esses métodos podem ser considerados um avanço para o diagnóstico das implicações ósseas na anemia falciforme.

## 2 JUSTIFICATIVA

Ainda são escassos os estudos que avaliam a massa óssea de adultos com anemia falciforme. Sabe-se que a saúde óssea dos indivíduos com doença falciforme pode estar comprometida em decorrência das alterações fisiopatológicas próprias da doença. A manifestação das alterações ósseas, no entanto, está sujeita à influência de diversos fatores incluindo a intensidade da hemólise, o histórico clínico e de tratamento recebido ao longo da vida (incluindo as transfusões e a consequente sobrecarga de ferro), deficiências nutricionais, entre outros.

A densitometria óssea é o método mais utilizado para avaliação da massa óssea na população geral e nos indivíduos com anemia falciforme. Os estudos com pessoas com anemia falciforme, em sua maioria, revelam a presença de baixa massa óssea, embora massa óssea normal ou até mesmo elevada também já tenham sido reportadas. As áreas ósseas comprometidas por deformidades, osteonecrose ou fraturas, ou mesmo aquelas em que há sobreposição visceral, não são automaticamente excluídas no exame de densitometria de modo que podem contribuir para superestimar os resultados de densidade mineral óssea obtidos pela análise convencional por DXA.

O uso de ferramentas adicionais, disponíveis nos equipamentos DXA mais modernos, podem contribuir para avaliar a estrutura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme. A hipótese desse estudo é que, ao considerar outros parâmetros (VFA e TBS) na avaliação da massa óssea (DMO), será possível superar as limitações metodológicas que não conseguem detectar a presença de deformidades ósseas comumente observadas nesses indivíduos. Consequentemente, a influência de diversos fatores próprios da doença sobre a saúde óssea poderá ser mais bem compreendida.

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Descrever a saúde óssea em indivíduos adultos com anemia falciforme.

#### 3.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos constam dos dois artigos resultantes da tese:

**Artigo I:** “Sobrecarga de ferro, indicadores de hemólise e sua associação com a densidade e a microarquitetura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme”

- Descrever a adequação da massa óssea em função da presença da sobrecarga de ferro;
- Descrever o perfil de indicadores bioquímicos de hemólise e de estado de ferro;
- Investigar a associação entre os parâmetros bioquímicos e a massa óssea.

**Artigo II:** “Densidade, microarquitetura e morfometria óssea da coluna lombar em adultos com anemia falciforme”

- Avaliar a presença de deformidades e/ou fraturas ósseas;
- Avaliar a presença de degradação da microarquitetura óssea;
- Investigar a associação entre a presença de deformidades e/ou fraturas e a microarquitetura óssea e alterações da densidade mineral óssea.



## 4 MÉTODOS

Este estudo integra uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL).

### 4.1 Desenho e população de estudo

Trata-se de estudo transversal prospectivo, conduzido em indivíduos recrutados no período de março de 2012 a março de 2016, durante consulta de rotina dos ambulatórios de Hematologia do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (HEMORIO), ambos referência no tratamento de doenças hematológicas no estado do Rio de Janeiro.

A amostra foi não probabilística de conveniência composta por adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico confirmado de anemia falciforme. Foram adotados como critérios de inclusão ter idade entre 20 anos e 59 anos 11 meses e 29 dias, genótipo SS para doença falciforme e, além disso, estar em acompanhamento regular nos ambulatórios de Hematologia do HUPE e do Hemorio. Não foram incluídos os indivíduos com outros genótipos ou genótipos não definidos; com presença de sintoma álgico, hospitalização ou presença de crise vaso-oclusiva nos 14 dias anteriores à avaliação; com infecção ou doença pulmonar aguda nos últimos 30 dias; que apresentassem complicações psiquiátricas, dependência química por álcool ou entorpecentes; em terapia renal substitutiva; com diagnóstico de HIV, hepatite B ou C e/ou osteoporose já conhecidos; que utilizaram drogas imunossupressoras, corticosteroides e reposição de hormônio tireoidiano; ou que usassem marca-passo.

Aqueles que atenderam aos critérios de elegibilidade e que concordaram em participar da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), responderam ao questionário inicial e foram orientados quanto aos preparos necessários para a realização dos exames. Os resultados da Tese foram organizados em dois artigos. No artigo 1, Sobrecarga de ferro, indicadores de hemólise e suas associações com a densidade e a microarquitetura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme, foram incluídos 68 indivíduos (18 homens e 50 mulheres) que apresentavam informação das concentrações de ferritina sérica. No artigo 2, Densidade, microarquitetura e morfometria óssea da coluna lombar em adultos com anemia falciforme, foram incluídos 86 indivíduos (20 a 59 anos), sendo 34 homens e 56 mulheres e que

realizaram exames de densitometria óssea de corpo inteiro, fêmur proximal, coluna vertebral e antebraço.

#### 4.2 Aspectos éticos

O presente estudo foi delineado respeitando a resolução N° 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde e foi aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE, CEP:2819/2010 CAAE:0265.0.228.325-10) e do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti – (Hemorio, n° 244/10 em 15/08/2012) (Anexos 1 e 2). A inclusão de cada indivíduo no projeto foi feita mediante autorização formal, com assinatura em duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), após esclarecimentos sobre os objetivos e procedimentos do projeto por parte do pesquisador.

#### 4.3 Antropometria

As medidas antropométricas foram realizadas no (LIAN-INU/UERJ). A massa corporal total foi medida utilizando balança de plataforma digital Filizola (Brasil/SP), específica para adultos, com capacidade mínima de 2 kg, e máxima de 200 kg e variação de 100g. A estatura foi medida utilizando-se um estadiômetro acoplado à balança. As medidas foram realizadas pelo mesmo avaliador em todos os voluntários. O Índice de Massa Corporal foi calculado [IMC =  $\text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$ ] e os pontos de corte estabelecidos pela OMS (1995) utilizados para classificação do estado nutricional em: Baixo Peso: IMC <18,5 kg/m<sup>2</sup>; adequado ou Eutrófico: IMC entre  $\geq 18,5$  e < 25 kg/m<sup>2</sup>; Sobrepeso: IMC entre  $\geq 25$  e <30 kg/m<sup>2</sup>, Obesidade: IMC  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>.

#### 4.4 Exames laboratoriais

O sangue total foi coletado após 8 a 10 horas de jejum em tubos contendo o agente anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou gel ativador de coágulo. Todas as análises laboratoriais foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ)

*Índices hematimétricos.* Foram avaliados hemograma completo, contagem de reticulócitos, concentração de hemoglobina (Hb) e hemoglobina fetal (HbF), concentrações séricas de

bilirrubina direta (DB), bilirrubina total (TB) e lactato desidrogenase (LDH). O hemograma completo foi realizado com o analisador Horiba Pentra 60 C + (HORIBA ABX SAS, ABX Pentra 60, São Paulo, Brasil). Os reticulócitos foram analisados usando a técnica de coloração com azul de cresil brilhante. A DB e a TB sérica foram analisadas pelo método colorimétrico (Labtest, Labmax Plenno, Belo Horizonte, MG, Brasil). A concentração sérica de LDH foi analisada pelo método da cinética ultravioleta contínua (Labtest, LabmaxPlenno, Belo Horizonte, MG, Brasil). As variantes e quantificações da hemoglobina foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência e troca catiônica (HPLC) (VARIANT®, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA).

*Marcadores do estado corporal do ferro.* Foram analisadas as concentrações de ferro, ferritina e capacidade total de ligação do ferro (TIBC). Para ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro utilizou-se o método colorimétrico e a ferritina foi analisada por nefelometria. Para determinação da sobrecarga de ferro os participantes foram divididos em dois grupos: sem sobrecarga de ferro (SSF), composto por indivíduos AF com níveis de ferritina < 1000 ng /mL, e com sobrecarga de ferro (SF) composto por indivíduos AF com níveis de ferritina ≥1000 ng /mL. A concentração de ferritina sérica ≥1000 ng/mL para classificação de SF foi adotada com base no ponto de corte mencionado pelo estudo por Porter e Garbowski (2013).

*Marcadores inflamatórios.* A concentração sérica de proteína C reativa ultrasensível (PCR-us) foi analisada por nefelometria (Labtest, LabmaxPlenno, Belo Horizonte, MG, Brasil) e a contagem de leucócitos foi realizada usando o analisador Horiba Pentra 60 C + (HORIBA ABX SAS, ABX Pentra 60, São Paulo, Brasil).

## 4.5 **Análise por DXA**

### 4.5.1 Avaliação da densidade mineral óssea

O exame foi realizado no aparelho IDXA scanner, *software encore* 2011, versão 13.60 (GE Medical Systems Lunar, Madison, WI, EUA), por dois técnicos em radiologia, devidamente treinados, no LIAN (INU/UERJ). As análises foram realizadas por médico com formação em Densitometria Clínica pela Associação Brasileira de Avaliação Óssea e Osteometabolismo (ABRASSO) e pela International Society for Clinical Densitometry (ISCD). O equipamento encontrava-se devidamente calibrado e operando dentro das normas do

fabricante. Os operadores do equipamento estavam devidamente treinados e realizaram todos os escaneamentos seguindo o manual do operador para posicionamento do paciente e aquisição dos dados. Recomendações como utilização de roupas leves para a realização do exame, sem a presença de artefatos (botões e zíperes), foram feitas aos participantes.

Para determinação da DMO, os participantes realizaram escaneamento de corpo inteiro e em sítios ósseos da coluna lombar (L1 a L4), fêmur proximal direito (nos participantes com história de cirurgia no fêmur direito, foi escaneado o fêmur contralateral) e antebraço não dominante (nos participantes com história de cirurgia no antebraço não dominante, foi escaneado o antebraço contralateral). Os resultados foram interpretados de acordo com critérios estabelecidos conforme o consenso da ISCD “Adult Official Positions updated”, 2019(SHOUSBOE et al, 2013). para o escore-T e para o escore-Z, conforme segue:

Pontos de corte para o escore - T:

- Massa óssea normal: DMO até 1 desvio-padrão (DP) abaixo da média de uma população de referência de adultos jovens (Escore T -1.0 ou superior);
- Baixa massa óssea ("osteopenia"): DMO entre 1,0 e 2,5 DP abaixo da média de uma população de referência de adultos jovens (Escore T entre -1,0 e -2,5);
- Osteoporose: DMO 2,5 DP ou mais abaixo da média de uma população de referência de adultos jovens (Escore T -2,5 ou inferior);
- Osteoporose severa ou Osteoporose Estabelecida: DMO 2,5 DP mais abaixo da média de uma população de referência de adultos jovens com uma ou mais fraturas (Escore T -2,5 ou inferior + uma ou mais fraturas).

Pontos de corte para o escore Z:

- DMO igual ou inferior a -2,0 DP: “abaixo da faixa esperada para a idade”
- DMO acima de -2,0 DP: “dentro dos limites esperados para a idade”.
- DMO igual ou acima de 2,5 DP: acima do limite de DMO esperado para a idade (WHYTE, 2005; MORGAN et al., 2010).

#### 4.5.2 Avaliação da microarquitetura óssea

O TBS foi automaticamente obtido de cada exame da coluna lombar utilizando o *software* TBS iNsight® (versão2.1.0), Medimaps Group, Genebra, Suíça, distribuído pela TechnoLogic, Turim, Itália).

Os seguintes pontos de corte foram utilizados como referência segundo Mc Closkey (2016):

- Valor de TBS  $\leq 1,230$  que corresponde a microarquitetura degradada (alto risco para fraturas);
- Valor de TBS  $>1,230$  e  $<1,310$  que corresponde a microarquitetura parcialmente degradada (risco intermediário para fraturas);
- Valor de TBS  $\geq 1,310$  que corresponde a microarquitetura normal (baixo risco para fraturas).

#### 4.5.3 Avaliação das alterações morfológicas vertebrais

Em uma subamostra de indivíduos com idade acima de 40 anos (n= 44) foram realizados exames de densitometria da coluna lombar em dois posicionamentos: em decúbito dorsal para análise da densidade óssea, e em decúbito lateral para verificar presença de fraturas ou deformidades ósseas, conforme especificações do fabricante. Na análise por VFA foram consideradas as medidas da sétima vértebra torácica até a quarta vértebra lombar dos participantes do estudo. O *software* utilizado calcula as alturas anterior, média e posterior de cada vértebra para determinação do tipo e grau de deformidades vertebrais de acordo com o método GENANT et al, (1993), que classifica as alterações da vértebra de acordo com sua gravidade, conforme apresentado a seguir:

- Grau 0 – sem deformidade
- Grau I - representando redução de 20 a 25% na altura das porções anterior, medial ou posterior;
- Grau II- representando redução de 25 a 40% na altura das porções anterior, medial ou posterior
- Grau III - representando redução  $> 40\%$  na altura das porções anterior, medial ou posterior

Foram consideradas para estudo as alterações morfológicas vertebrais grau II (moderada) e grau III (grave) entre as vértebras de T7 a L4.

#### 4.6 **Análise dos dados**

Foi realizada estatística descritiva para caracterização dos participantes e os dados foram expressos como frequências (n) e percentuais (%). Foram utilizados testes não paramétricos pois a maioria das variáveis não apresentava distribuição gaussiana. As medidas de tendência central e dispersão foram expressas como medianas e intervalo interquartil (1° ao 3° quartil). Para variáveis contínuas, diferenças entre grupos foram avaliadas por teste de Mann-Whitney U (homens vs. mulheres; presença vs. ausência de sobrecarga de ferro) ou teste Kruskal-Wallis seguido de teste de comparações múltiplas de Dunn (grupos em função dos graus de degradação da microarquitetura óssea: normal vs. parcialmente degradada vs. degradada). Para variáveis categóricas, diferenças entre grupos foi avaliada por teste de qui quadrado. A associação entre os parâmetros da massa óssea e os indicadores bioquímicos de hemólise e de estado de ferro foi explorada por análise de correlação de Spearman. Todos os testes consideraram um valor de  $P < 0,05$  como estatisticamente significativo. A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software* Statistical Package for Social Science (IBM SPSS® Inc. versão 22.0, Chicago, IL, EUA).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Artigo 1: Sobrecarga de ferro, indicadores de hemólise e suas associações com a densidade e a microarquitetura óssea de indivíduos adultos com anemia falciforme

Autores: Marise Crivelli, Flávia F. Bezerra, Marta Citelli, Cláudia dos Santos Cople-Rodrigues  
Periódico pretendido: Biometals (fator de impacto 2.949)

#### Resumo

O aumento da sobrevivência de indivíduos com AF acompanha a necessidade de transfusões repetidas utilizadas para minimizar complicações próprias da doença. As transfusões frequentemente resultam em sobrecarga de ferro que, entre outras consequências, parece estar associada à perda óssea excessiva. O objetivo desse estudo foi avaliar a adequação da densidade e microarquitetura óssea em função da presença da sobrecarga de ferro. Adicionalmente, investigamos a associação entre parâmetros da massa óssea e indicadores bioquímicos de hemólise e do metabolismo do ferro. Foram avaliados 68 indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 20 e 59 anos e diagnóstico confirmado de anemia falciforme. Os participantes foram divididos em dois grupos: o grupo com AF, sem sobrecarga de ferro (SSF), e o grupo com AF com sobrecarga de ferro (SF). Foram avaliados parâmetros da massa óssea por absorciometria de dupla emissão de raios X (DXA), microarquitetura óssea pelo escore do osso trabecular (TBS), e a associação entre parâmetros ósseos e biomarcadores de hemólise e do metabolismo do ferro. Em todo o grupo, 56 % dos indivíduos apresentaram baixa massa óssea (escore Z < -2,0) em pelo menos um dos sítios ósseos avaliados, sendo a coluna lombar o sítio ósseo mais frequentemente afetado (47%). Os valores de TBS foram compatíveis com microarquitetura degradada em mais de 50% dos indivíduos estudados. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em função da sobrecarga de ferro para os parâmetros ósseos avaliados. As concentrações de total, direta e indireta apresentaram associação inversa com todos os parâmetros ósseos avaliados (P<0,05), exceto DMO e escore-Z de antebraço. Foi observada, também, associação inversa entre as concentrações de LDH e as medidas de DMO (fêmur total e colo do fêmur, P<0,05) e escore-Z (L1-L4 e fêmur total, P<0,05) em sítios específicos, assim como entre as concentrações de ferro e as medidas de DMO e escore-Z do colo femoral (P<0,05). Nossos resultados não sustentam a hipótese de maior prejuízo da massa óssea entre os indivíduos com sobrecarga de ferro. Por outro lado, as associações entre os parâmetros ósseos e as concentrações de LDH e bilirrubina indireta sugerem uma influência da intensidade da hemólise sobre a saúde óssea destes indivíduos.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Sobrecarga de ferro. Alterações ósseas. Densidade mineral Óssea. Escore do osso trabecular.

#### 5.1.1 Introdução

A anemia falciforme (AF) é uma doença genética caracterizada pela homozigose da hemoglobina S (HbSS), causada por uma mutação no gene que produz a hemoglobina A (REES,

et al., 2010). Esta doença acomete milhões de pessoas em todo o mundo, particularmente na África subsaariana e na Índia central, sendo reconhecida como um problema de saúde pública mundial (PIEL et al, 2017) . No Brasil, é a hemoglobinopatia mais prevalente (ANVISA, 2002; MANFREDINI et al., 2007). A AF está associada a importantes alterações morfológicas e funcionais das hemácias que provocam um extenso conjunto de manifestações clínicas ligadas à lesão vascular e anormalidades da coagulação, incluindo fenômenos de vaso-oclusão e hemólise (GUARDA et al, 2019).

Avanços no conhecimento da doença resultaram no aumento da sobrevivência dos indivíduos com AF. Ao longo da vida, em função da hemólise crônica, podem ser necessárias transfusões repetidas que buscam minimizar complicações da doença, tais como hiperesplenismo, crises vaso-oclusivas recorrentes e prevenção de acidente vascular cerebral (KOREN et al, 2010). As repetidas transfusões, no entanto, podem levar à sobrecarga de ferro (COATES, 2016).

Tem sido sugerido que o desequilíbrio da homeostase do ferro por sobrecarga deste mineral originada por diferentes situações, incluindo transfusões repetidas, estão associadas à diminuição da massa óssea e osteoporose (SADAT-ALI et al., 2008; BALOGH et al., 2018). De fato, há mecanismos propostos sugerindo tanto estímulo da atividade osteoclástica quanto inibição da atividade osteoblástica que por sua vez levam ao desequilíbrio do *turnover* ósseo resultando em perda de massa óssea (JENEY, 2017; BALOGH et al, 2018). Para além da hemólise e inflamação que parecem estimular a atividade osteoclástica (NOURAIE, 2011, GIORDANO, 2021), outros fatores independentes tais como baixo IMC, deficiência de vitamina D, déficit nutricional e hipogonadismo parecem contribuir para a baixa massa óssea nesses indivíduos (SARRAI et al, 2006; GADARAH et al, 2015; GIORDANO et al, 2021). A razão da baixa massa óssea na anemia falciforme ao que tudo indica é multifatorial, sendo difícil distinguir se é decorrente da sobrecarga de ferro devido a frequentes transfusões ou por complicações da própria doença.

A hipótese deste estudo é que indivíduos adultos com AF e sobrecarga de ferro apresentam maior prejuízo da densidade mineral e da microarquitetura óssea em relação aos que não apresentam sobrecarga de ferro. O objetivo do presente estudo, portanto, foi avaliar a adequação da densidade e microarquitetura óssea em função da presença da sobrecarga de ferro. Adicionalmente investigamos a associação entre parâmetros da massa óssea e indicadores bioquímicos de hemólise e do metabolismo do ferro.



### 5.1.2 Métodos

Este estudo integra uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL) do Ministério da Saúde do Brasil. Trata-se de estudo transversal prospectivo e a amostra foi não probabilística de conveniência composta por adultos de ambos os sexos. Os participantes estavam em acompanhamento regular nos ambulatórios do Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio) e do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE), ambos referência no tratamento de doenças hematológicas no estado do Rio de Janeiro. O estudo foi aprovado pelos comitês de ética das unidades de saúde envolvidas no estudo (parecer técnico 2819/2010 e parecer técnico 244/10, respectivamente) e a participação dos pacientes se deu após consentimento livre e esclarecido por escrito.

Foram incluídos no estudo participantes de ambos os sexos, com diagnóstico confirmado de anemia falciforme (HbSS) e que estavam clinicamente estáveis (sem doença aguda vaso-oclusiva ou episódios de síndrome torácica aguda) nos últimos 30 dias anteriores à avaliação. Não foram incluídos os indivíduos que faziam uso de corticoides, hormônio tireoidiano, imunossupressores, portadores de HIV, hepatite B e C e em tratamento por hemodiálise. Os voluntários foram submetidos à análise antropométrica, coleta de sangue para realização de exames bioquímicos e à exames de densitometria óssea. Foram excluídos os participantes que não realizaram coleta de sangue ou que não apresentavam a informação das concentrações de ferritina sérica. Dessa forma, 68 participantes (18 homens e 50 mulheres) foram incluídos nas análises.

#### 5.1.2.1 Coleta de dados gerais e antropométricos

As informações sobre idade, status da menopausa, uso de hidroxiuréia, frequência de transfusões sanguíneas e crises algicas foram obtidas a partir da aplicação de questionário estruturado. A massa corporal total e a estatura foram aferidas segundo protocolos pré-estabelecidos (CALLAWAY et al, 1988). A massa corporal total foi medida com aproximação de 0,1 kg, usando uma balança digital (Filizola, Brasil). A estatura foi medida com estadiômetro acoplado à balança, com precisão de 0,1 cm. O Índice de Massa Corporal foi calculado [IMC =  $\text{Peso (kg)} / \text{Altura}^2 \text{ (m)}$ ] e os pontos de corte estabelecidos pela OMS (1995) foram utilizados para classificação do estado nutricional.

### 5.1.2.2 Análises bioquímicas

Amostras de sangue foram obtidas após 8 a 10 horas de jejum em tubos contendo o agente anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) ou gel ativador de coágulo e encaminhadas sob refrigeração ao Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia (LACFAR) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) para processamento e realização das análises bioquímicas. O hemograma completo foi analisado utilizando-se o contador automatizado Horiba Pentra 60C+ (HORIBA ABX SAS, ABX Pentra 60, São Paulo, Brasil). A contagem de reticulócitos foi realizada por técnica de coloração com azul de cresil brilhante. As concentrações de hemoglobina total (Hb), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina total (BT) foram analisadas por método colorimétrico (Labtest, Labmax Pleno, Belo Horizonte, MG, Brasil). A bilirrubina indireta foi obtida subtraindo-se a bilirrubina direta da total. As concentrações de lactato desidrogenase (LDH) foram analisadas pelo método da cinética ultravioleta contínua (Labtest, LabmaxPleno, Belo Horizonte, MG, Brasil). As variantes e quantificações da hemoglobina foram avaliadas por cromatografia líquida de alta eficiência e troca catiônica (HPLC) (VARIANT®, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, EUA). As concentrações de ferro sérico e capacidade total de ligação do ferro (TIBC) foram determinadas pelo método colorimétrico e a ferritina, foi analisada por nefelometria.

Para avaliar a influência da sobrecarga de ferro os participantes foram divididos em dois grupos: sem sobrecarga de ferro (SSF), composto por indivíduos AF com níveis de ferritina < 1000 ng/mL, e com sobrecarga de ferro (SF) composto por indivíduos AF com níveis de ferritina  $\geq 1000$  ng/mL. A concentração de ferritina sérica  $\geq 1000$  ng/mL para classificação de SF foi adotada com base no ponto de corte mencionado pelo estudo por Porter e Garbowski (2013).

### 5.1.2.3 Avaliação da massa e microarquitetura óssea

Para a determinação da densidade mineral óssea (DMO) foi realizado o escaneamento da coluna lombar (L1 a L4), fêmur direito (nos participantes com história de cirurgia no fêmur direito, foi escaneado o fêmur contralateral) e antebraço não dominante (nos participantes com história de cirurgia no antebraço não dominante, foi escaneado o antebraço contralateral) por densitometria óssea no equipamento *iDXA scanner, software 2011 encore* versão 13.60 (*GE Medical Systems Lunar*, Madison, WI, EUA), devidamente calibrado para garantir acurácia e precisão. O exame foi realizado por dois técnicos em radiologia, devidamente treinados, no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição da UERJ (LIAN-

INU/UERJ). Os exames foram reanalisados por médico com título de especialista em densitometria fornecido pela *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD). Os resultados foram interpretados de acordo com as Posições Oficiais da ISCD (SHOUSBOE et al 2013). Para cada sítio ósseo avaliado, o Escore- Z foi utilizado para classificar os participantes em “abaixo da faixa esperada para a idade” (escore  $Z \leq -2,0$ ), “dentro do limite esperado para a idade” ( $-2,0 < \text{escore } Z < 2,5$ ) e “acima do limite esperado para a idade” (escore  $Z \geq 2,5$ ) (WHYTE, 2005; MORGAN et al., 2010).

O estudo da microarquitetura óssea da coluna lombar foi realizado por meio da avaliação do escore de osso trabecular (TBS, *Trabecular Bone Score*) utilizando-se o *software* TBS iNsight® (versão 2.1.0; Medimaps Group, Suíça) após reanálise dos exames de densitometria de coluna lombar previamente realizados, e utilizando as mesmas regiões de interesse utilizadas para as medições da DMO. Os resultados do TBS foram classificados da seguinte forma, segundo MCCLOSKEY et al. (2016): microarquitetura degradada ( $TBS \leq 1,230$ ), microarquitetura parcialmente degradada ( $1,230 < TBS < 1,310$ ) e microarquitetura normal ( $TBS \geq 1,310$ ).

#### 5.1.2.4 Análise estatística

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a homogeneidade dos dados. Os dados foram descritos como frequências (n) e percentuais (%) ou medianas e intervalo interquartil (IQR). Comparações entre os grupos em função da sobrecarga de ferro foram realizadas utilizando teste de Qui quadrado para variáveis categóricas e teste de Mann-Whitney U para variáveis contínuas. Associações entre os parâmetros ósseos avaliados (DMO, escore Z e TBS) e os indicadores bioquímicos de hemólise e de estado de ferro foram testadas por análise de correlação de Spearman. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* *Statistical Package for Social Science* (IBM SPSS® Inc., versão 22.0, Chicago, IL, EUA).

#### 5.1.3 Resultados

Participaram do estudo 68 adultos com AF, sendo a maioria do sexo feminino (68%) e a mediana de idade de 41,2 (26,0-49,0) anos, sem diferença significativa entre os grupos em função da sobrecarga de ferro. Do total de mulheres (n=41), cerca de 40%(n=16) encontravam-se na menopausa. A maioria dos participantes (60,3%) foi classificada como eutrófica. Casos de obesidade ( $IMC \geq 30$ ) foram observados apenas entre as mulheres (n=9). Como

esperado, a realização de mais de uma transfusão de sangue nos últimos 12 meses foi mais frequente entre o grupo SF (44,0%). Mais da metade dos participantes do estudo relatou fazer uso de hidroxiuréia (**Tabela 1**).

Como previsto, em função do reconhecido estado de hemólise crônica, a mediana da concentração da hemoglobina e da capacidade de ligação com o ferro apresentaram-se abaixo da faixa de normalidade em ambos os grupos (SSF e SF) e sem diferença estatisticamente significativa entre eles (**Tabela 2**). Também não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em função da sobrecarga de ferro para os seguintes parâmetros: reticulócitos, PCR, leucócitos, bilirrubina direta e total, LDH, ferro e CTRF. Conforme esperado o grupo SSF apresentou valores de mediana de RDW e de HbF significativamente mais elevados do que o grupo SF ( $P=0,01$  e  $P=0,02$ , respectivamente).

Em todo o grupo, 38 (56%) indivíduos apresentaram baixa massa óssea (escore- Z abaixo de -2DP) em pelo menos um dos sítios ósseos avaliados. Isso ocorreu com maior frequência na coluna lombar ( $n=18$ ) correspondendo a 47% dos indivíduos que apresentaram escore Z abaixo de -2DP em algum sítio avaliado.

Os parâmetros ósseos de densidade e o TBS foram analisados em função da sobrecarga de ferro separadamente em homens e mulheres (**Tabela 3**). Em ambos os sexos, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos SSF e SF para todos os parâmetros avaliados. Também não houve diferença significativa quando comparamos homens e mulheres com o mesmo estado de sobrecarga de ferro, exceto para a mediana de DMO de antebraço que se apresentou mais baixa nas mulheres quando comparadas aos homens sem sobrecarga ( $p<0,05$ ). Apenas entre as mulheres, o valor da mediana do TBS foi compatível com microarquitetura parcialmente degradada tanto no grupo SSF quanto SF (Tabela 3). Além disso, observamos que mais de 50% dos homens e mulheres de ambos os grupos apresentaram valores de TBS compatíveis com microarquitetura degradada (**Tabela 4**).

Foram exploradas associações entre os parâmetros ósseos estudados e os indicadores bioquímicos de hemólise (**Tabela 5**). As concentrações de bilirrubina direta e total apresentaram associação inversa com todos os parâmetros ósseos avaliados ( $P<0,05$ ), exceto DMO e escore-Z de antebraço. Foi observada, também, associação inversa entre as concentrações de LDH e as medidas de DMO (fêmur total e colo do fêmur,  $P<0,05$ ) e escore-Z (L1-L4 e fêmur total,  $P<0,05$ ) em sítios específicos, assim como entre as concentrações de ferro sérico e as medidas de DMO e escore-Z do colo femoral ( $P<0,05$ ). As concentrações de hemoglobina apresentaram associação direta com os valores de escore-Z de L1-L4 e de fêmur total ( $P<0,05$ ). Não foram observadas associações significativas entre os parâmetros ósseos e

os demais parâmetros bioquímicos avaliados (PCR, RDW, reticulócitos, leucócitos, ferritina e CTLF).

#### 5.1.4 Discussão

No presente estudo, foram investigados os parâmetros de densidade mineral e de microarquitetura óssea em função da presença ou ausência de sobrecarga de ferro em indivíduos com anemia falciforme. Apesar da variabilidade dos resultados dos parâmetros ósseos nos diferentes sítios avaliados, em ambos os grupos observamos que mais da metade (56%) dos indivíduos apresentava baixa massa óssea em pelo menos um sítio ósseo avaliado e que mais de 60% apresentavam microarquitetura óssea degradada. Diferente do esperado, não observamos maior prejuízo da densidade e microarquitetura óssea entre os indivíduos que apresentavam concentrações de ferritina acima de 1000 ng/mL. Por outro lado, as associações entre os parâmetros ósseos e as concentrações de LDH e bilirrubina indireta sugerem uma influência da intensidade da hemólise sobre a saúde óssea desses indivíduos.

As transfusões de sangue na AF são utilizadas para tratamento de sintomas relacionados à anemia ou para prevenir complicações ocasionadas pela vaso-oclusão relacionada à doença (COATES,2017; SADAT-ALI, 2011). Considerando o aumento da expectativa de vida dos indivíduos com AF nos últimos 40 anos (PIEL, et al,2017), as transfusões de sangue tornaram-se mais frequentes provocando sobrecarga de ferro (VOSKARIDOU, 2004; FUNG, 2008; OMENA et al, 2018) que é descrita como fator de risco para diversas enfermidades tais como infecção, neoplasia, cardiomiopatia, doenças endócrinas, neurodegenerativas, osteopenia e osteoporose (WEINBERG et al, 2006). Esses resultados foram observados a partir de estudos que incluem diferentes genótipos na avaliação dos efeitos da sobrecarga de ferro na massa óssea (FUNG, et al, 2008; NOURAIE et al, 2011), sendo poucos os estudos dedicados apenas aos adultos com AF (SHA, et al,2004; SADAT\_ALI et al,2011). Fung e colaboradores (2008) compararam o efeito da sobrecarga de ferro em pacientes com talassemia e em pacientes com doença falciforme (DF) e observaram que mesmo com sobrecarga de ferro semelhante, os transfundidos com talassemia apresentaram maior risco de fraturas do que os indivíduos com DF, relacionando os resultados com as alterações endócrinas presentes nos pacientes com talassemia (FUNG et al, 2008). Em outro estudo (SHAH et al. 2004), incluindo 17 adultos com anemia falciforme e histórico de transfusão de sangue, 47% apresentaram baixa massa óssea e níveis de ferro hepático e ferritina sérica

significativamente maiores comparados com indivíduos que não apresentavam baixa massa óssea.

Os mecanismos potencialmente envolvidos na relação entre o desequilíbrio da homeostase do ferro e a ocorrência de osteopenia e osteoporose foram explorados em revisões recentes (JENEY, 2017; BALOGH, 2018). Tem sido sugerido que elevadas concentrações sistêmicas de ferro tanto inibem a diferenciação de osteoblastos a partir de células tronco pluripotentes, assim como estimulam a diferenciação de precursores de osteoclastos (JENEY, 2017). O resultado é um desequilíbrio do *turnover* ósseo que, em última instância, resulta em baixa massa óssea (SHI-LEIYU, 2020; WEINBERG et al, 2006; BALOGH et al, 2018; JENEY, 2017). No entanto, outros mecanismos são sugeridos para explicar a baixa massa óssea nos indivíduos com DF, incluindo a liberação de citocinas inflamatórias tais como o fator de necrose tumoral e a interleucina-6, liberadas no osso durante condições isquêmicas. (RUDY et al, 2019; Giordano et al, 2021).

Diversos outros indicadores mostram que a baixa massa óssea presente nos indivíduos com AF é multifatorial. Dentre esses, estados de hipóxia que levam ao aumento da eritropoetina, estimulando os precursores dos osteoclastos (HIRAM-BAB, 2015, GIORDANO, 2021), e, também, hemólise, constatada por altas concentrações de LDH, e reticulócitos e baixas concentrações de hemoglobina (BALDANZI et al, 2011; SHI LEIYU et al, 2021), além de outros fatores como baixos níveis de vitamina D, pouca atividade física, deficiência hormonal e desnutrição. (GIORDANO et al, 2020).

No presente estudo, ao analisarmos os parâmetros ósseos, não encontramos diferença significativa entre os grupos SSF e SF. No entanto observamos que mais da metade dos participantes do estudo (56%) apresentava baixa massa óssea em pelo menos um dos sítios ósseos avaliados. Neste conjunto de indivíduos, a coluna lombar apresentou maior frequência de baixa massa óssea (47%), seguida pelo antebraço (26%), fêmur total (16%) e colo femoral (11%). Nossos resultados estão de acordo com outros autores que encontraram também maior frequência de baixa DMO na coluna lombar (SARRAY, et al, 2006; GADARAH et al, 2015). A menor frequência de baixa massa óssea encontrada nas regiões do colo femoral e do fêmur total pode, em parte, ser explicada pelo alto risco de osteonecrose e osteoesclerose no fêmur. Esta é a região mais comprometida por estas alterações produzidas por múltiplos infartos ósseos (FAGUNDES et al, 2020), podendo aumentar a densidade óssea nesta região e interferir nos resultados obtidos da DMO por DXA (Voskaridou, 2006; De Luna, 2018). Na coluna lombar, é mais frequente observar baixa massa óssea, ainda que ocorra interferência na interpretação do DXA por diversas causas, tais como

colapso vertebral e sobreposição do fígado em área de análise (SARRAY, 2006; GADARAH et al, 2015; FUNG, 2008; ALLARD, 2018).

Além de investigar a influência da sobrecarga de ferro na anemia falciforme, foram exploradas associações entre indicadores bioquímicos de hemólise com os parâmetros ósseos dos indivíduos estudados e observamos que os menores valores de DMO e escore-Z da coluna lombar, fêmur total e colo femoral estavam relacionados principalmente com altas concentrações de LDH e de bilirrubina indireta e baixas concentrações de hemoglobina, considerados marcadores de hemólise. Nossos resultados estão de acordo com o estudo de Baldanzi e colaboradores (2011) em que foram avaliados adultos brasileiros com doença falciforme, observando-se que a alta prevalência de baixa DMO estava associada à hemólise por aumento do LDH, contagem de reticulócitos e menores concentrações de hemoglobina em relação aos indivíduos com DMO normal (BALDANZI et al, 2011).

É importante ressaltar que a DMO medida por DXA quando utilizada isoladamente apresenta limitações pois não são considerados outros fatores relacionados com a resistência óssea tais como geometria, grau de remodelação e microarquitetura óssea (SILVA et al, 2017). Portanto, adicionalmente avaliamos a microarquitetura óssea por TBS dos indivíduos estudados. Observamos mais de 60% dos indivíduos nos dois grupos apresentaram microarquitetura degradada enquanto apenas 47% apresentavam baixa massa óssea. Esses resultados podem sugerir uma capacidade de o TBS revelar prejuízo da microarquitetura óssea anterior às alterações de densidade. Estes resultados estão de acordo com outros estudos com pacientes com talassemia em que o TBS foi capaz de demonstrar prejuízo da microarquitetura óssea mesmo com DMO normal (BALDINI et al, 2014; TEAWTRAKUL et al, 2020).

O presente estudo foi limitado pelo número reduzido de pacientes estudados e pela indisponibilidade de informações sobre os marcadores bioquímicos do metabolismo ósseo e sobre o uso de quelante de ferro pelo grupo estudado. Por outro lado, apesar do reduzido tamanho amostral, estudamos um grupo relativamente homogêneo de indivíduos ao restringir à faixa etária adulta e ao incluir apenas indivíduos com o genótipo HbSS. Além disso, a inclusão da medida do TBS, derivado da imagem da densitometria da coluna lombar, pode contribuir com informações sobre a qualidade óssea, raramente avaliada nesses indivíduos.

Os resultados do presente estudo revelam importante prejuízo da densidade e da microarquitetura óssea entre homens e mulheres com anemia falciforme, porém não sustentam a hipótese de pior massa óssea entre os indivíduos com sobrecarga de ferro. No entanto, a perda óssea relacionada à sobrecarga de ferro na AF ainda precisa ser melhor investigada com um

número maior de indivíduos. Por outro lado, as associações entre os parâmetros ósseos e as concentrações de LDH e bilirrubina indireta sugerem uma influência da intensidade da hemólise sobre a estrutura óssea desses indivíduos. Com base nos resultados, torna-se imprescindível o monitoramento rigoroso do processo hemolítico nesses pacientes a fim de implementar medidas de tratamento que minimizem suas possíveis complicações incluindo aquelas que envolvem a estrutura óssea.

### 5.1.5 Referências Bibliográficas

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes; 2002. p.142. Available from: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa/diagnostico.pdf> [cited 10.01.15] [Internet]

ALLARD M, CALVELLI L, WEYHMILLER G M, GILDENGORIN G, FUNG B E. Vertebral Bone Density Measurements by DXA are Influenced by Hepatic Iron Overload in Patients with Hemoglobinopathies. *J Clin Densitom*, Oakland, CA., 22(3):329-337,2019.

BALDANZI G, TRAINA F, MARQUES NETO J F, OLIVEIRA SANTOS A, RAMOS D C, SAAD OT S. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. *Clinics*. 66(5):801-805,2011.

BALDINI M, ULIVIERI M F, FORTI S, SERAFINO S, SEGHEZZI S, MARCON A. et al. Spine Bone Texture Assessed by Trabecular Bone Score (TBS) to Evaluate Bone Health in Thalassemia Major. *Calcif Tissue Int* .95(6):540–546, 2014.

BALOGH E, PARAGH G, JENEY V. Influence of Iron on Bone Homeostasis. *Pharmaceuticals*, n.11, v.107, 2018.

CALLAWAY, C W, et al. Circunferences. In: LOHMAN, T.G.; A.F.; MARTORELL, R. Antropometric Standartization Reference *Manual Human Kinetics*. Books, 1988.

COATES D.T. and WOOD C. J. How We Manage Iron Overload in Sickle Cell Patients *Br J Haematol*. v.177 n.5, p. 703–716,2017.

COMPSTON J, BOWRING C, COOPER A, COOPER C, DAVIES C, FRANCIS R, ET AL. Diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and older men in the UK: National Osteoporosis Guideline Group (NOGG) update 2013. *Maturitas*.75(4):392-396,2013.

DE LUNA, G. et al. High bone mineral density in sickle cell disease: Prevalence and characteristics. *Bone*. Paris, v. 110, p. 199-203, maio 2018.

FAGUNDES R.B.C., AMARO ADC, REIS LVD, SOUZA A C, JÚNIOR F A. Osteonecrose da Cabeça do fêmur secundária à anemia falciforme: *hematol transfus cell ther*. 42 (S 2): S1–S567,2020.

FUNG E B, HARMATZ P, MILET M, COATES T, THOMPSON A, RANALLI M. et al. Iron Overload Study Group. Fracture Prevalence and Relationship to Endocrinopathy in Iron overloaded patients with sickle cell disease and thalassemia. *Bone.*; 43(1): 162–168, 2008.



- GARADAH S T, HASSAN B A, JARADAT A , DIAB E D, KALAFALLA O H, KALIFA K A, SEQUEIRA P R, ALAWADI H A. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*, Manama, 7 (8): 35-40, 2015.
- GIORDANO, P.; URBANO, F.; LASSANDRO, G.; FAIENZA, M.F. Mechanisms of Bone Impairment in Sickle Bone Disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health*.18 (4): 1832, 2021.
- GUARDA C, SILVEIRA-MATTOS P, SÈTONDJI C. M., YAHOUÉDÉHOU A, SANTIAGO P R, ALELUIA M. et al. Hydroxyurea alters circulating monocyte subsets and dampens its inflammatory potential in sickle cell anemia patients. *Scientific Reports, Nature Research v 9*:14829, 2019.
- HIRAM-BAB S, LIRON T, DESHET-UNGER, MITTELMAN M, GASSMANN M, RAUNER M, FRANKE K., et al. Erythropoietin directly stimulates osteoclast precursors and induces bone loss. *The FASEB Journal*. 29(5), 2015.
- JENEY V. Clinical Impact and Cellular Mechanisms of Iron Overload-Associated Bone Loss. *Front. Pharmacol*. 8: 77, 2017.
- KOREN A, FINK D, ADMONI O, TENNENBAUM R, LEVIN C. Non-transferrin bound labile plasma iron and iron overload in Sickle Cell Disease: a comparative study between Sickle Cell Disease and b thalassemic patients. *European Journal of Haematology v. 84*, p. 72–78, 2010.
- MANFREDINI V, CASTRO S, WAGNER S, BENFATO S M Fisiopatologia da anemia falciforme. *Infarma*, Porto Alegre, 19 (1/2), 2007.
- MCCLOSKEY V E, ODEM A, HARVEY C N, LESLIE D W, HANS D, JOHANSSON H, BARKMANN R, BOUTROY S. et al. 2016. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *Journal of Bone and Mineral Research*. 31(5); 940–948,2016.
- MORGAN L S, PEACE F, LOPEZ-BEN R, FINEBERG N. Distribution of Z-scores in a University cohort with an emphasis on "high" bone mineral density. *J Clin Densitom*. 13(4):385-391, 2010.
- MUCKENTHALER, M U, Rivella, S, Hentze, M.W, Galy, B. A Red Carpet for Iron Metabolism. *Cell*, 168,344–361,2017.
- MYLONA M, LEOTSINIDES M, ALEXANDRIDES T, ZOUMBOS N, DIMO-POULOS PA Comparison of DXA, QCT and trabecular structure in beta-thalassaemia. *Eur J Haematol* 74:430–437,2005.
- NOURAIIE M, CHENG K, NIU X, MOORE-KING E, FADOJUTIMI-AKINSI MF, MINNITI CP. et al. Predictors of osteoclast activity in sickle cell disease patients. *Haematol*. 96(8):1092- 1098, 2011.
- OMENA O, COPLE-RODRIGUES C, AMARAL CARDOSO J D, RIBEIRO SOARES R A, FLEURY K M, BARBOSA BRITO F S. et al. Serum Hepcidin Concentration in Individuals with Sickle Cell Anemia: Basis for the Dietary Recommendation of Iron. *Nutrients*. 10(4) 498, 2018.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995. Disponível em: [http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4\\_sup pl\\_2\\_final.pdf](http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4_sup pl_2_final.pdf)

- PIEL F B, STEINBERG M H, REES D. C. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*, 376(16): 1561–1573, 2017.
- PORTER, J.; GARBOWSKI, M. Consequences and management of iron overload in sickle cell disease. *Hematology*, 447–456, 2013.
- REES D C, WILLIAMS T N, GLADWIN M K. Sickle-cell disease. *Lancet*, London376 (9757): 2018-2031, 2010.
- RUDY L H, YANG D, NAM D, CHO W. Review of Sickle Cell Disease and Spinal Pathology. *Global Spine J*. 9(7):761-766, 2019.
- SADAT-ALI M, AL-ELQ A, SULTAN O, AL-TURKI H. Secondary Osteoporosis Due to Sickle Cell Anemia: Do Sex Steroids Play a Role? *Indian J Med Sci*, Vol. 62, No. 5, May 2008.
- SADAT-ALI M, SULTAN O, AL-TURKI H, ALELQ A. Does high serum iron level induce low bone mass in sicklecell anemia? *Biometals* .24:19–22, 2011.
- SARRAI M, DUROSEAU H, D'AUGUSTINE J, MOKTAN S, BELLEVUE R.. (“Gender differences in the prevalence and severity of bone ...”) Bone mass density in adults with sickle cell disease. *BrJ Haematol*. 136(4): 666–672,2007.
- SCHOUSBOE JT, SHEPHERD JA, BILEZIKIAN JP, BAIM S. Executive Summary of the 2013. (“Dysmobility syndrome and mortality risk in US men and ...”) International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on Bone Densitometry. *J Clin Densitom* 16: 455–466, 2013.
- SHAH TF, CHATTERJEE R, OWUSU-ASANTE M, PORTER B J. Adults with Severe Sickle Cell Anaemia and Iron Overload Have a High Incidence of Osteopenia and Osteoporosis. *Blood* 104 (11): 1684, 2004.
- SHI L, LIN CL, SU C H, LIN K C, LEONG K WANG U T KUO C F, YI TSAI S T. The Risk of Developing Osteoporosis in Hemolytic Anemia. What Aggravates the Bone Loss? *J. Clin. Med.*, 10, 3364, 2021.
- SILVA C. B. LESLIE D W. Trabecular Bone Score. A New DXA–Derived Measurement for Fracture Risk Assessment. *Endocrinol Metab Clin N Am*, 46(1) :153–180, 2017.
- STEINBERG H M, KUMAR S, MURPHY G, VANUYTSEL K. *Expert Rev Precis Med Drug* 4(6):357-367,2020.
- TEAWTRAKUL N, CHUKANHOM S, CHAROENSRI S., SOMBOONPORN C, PONGCHAIYAKUL C. The Trabecular Bone Score as a Predictor for Thalassemia-Induced Vertebral Fractures in Northeastern Thailand. *Hindawe Anemia*. Article ID 4634709:1- 5, 2020.
- VOSKARIDOU E AND TERPOS E. New insights into the pathophysiology and management of osteoporosis in patients with beta thalassaemia. *British Journal of Haematology*. 127(2), 127–139, 2004.
- WEINBERG E D. Iron loading: a risk factor for osteoporosis. *BioMetals*. 19(6) :633–635, 2006.

Tabela 1 - Características gerais dos participantes segundo a ausência ou presença de sobrecarga de ferro (Ferritina  $\geq 1000$  ng/mL).

	Sem sobrecarga de Fe (SSF, n=50)	Com sobrecarga de Fe (SF, n=18)	P-valor
Idade, anos <sup>1</sup>	41,8 (25,8-48,7)	49,7 (35,1-55,0)	0,352
Sexo <sup>2</sup>			
masculino	21 (42)	6 (33,3)	0,519
feminino	29 (58)	12 (66,7)	
IMC( Kg/m <sup>2</sup> ) <sup>1</sup>	22,7 (19,3-25,6)	18,4 (16,0-21,7)	0,573
Baixo Peso <sup>2</sup>	6 (12,0)	4 (22,2)	0,564 <sup>4</sup>
Eutrófico <sup>2</sup>	30 (60,0)	2 (61,1)	
Sobrepeso <sup>2</sup>	6 (12,0)	2 (11,1)	
Obesidade <sup>2</sup>	8 (16,0)	1 (5,6)	
Transfusões nos últimos 12m*, <sup>2</sup>	6 (12,0)	8(44,0)	0,017
Uso de Hidroxiuréia <sup>2</sup>	25 (50,0)	13 (72,2)	0,121

Os valores são indicados como <sup>1</sup>mediana (intervalo interquartil, IQR P25-P75) ou <sup>2</sup>n (%). IMC, índice de massa corporal. Diferenças entre os grupos SSF vs. SF foram testadas utilizando o <sup>3</sup>teste de Qui-quadrado ou <sup>4</sup>Mann-Whitney. \*informação disponível para 50 pessoas.

Tabela 2 - Parâmetros laboratoriais de acordo com a ausência ou presença de sobrecarga de ferro (Ferritina  $\geq 1000$  ng/mL) em pacientes com anemia falciforme.

Parâmetros laboratoriais (valores de referência)	Indivíduos com Anemia Falciforme				P valor <sup>e</sup>
	Sem sobrecarga de Fe (SSF, n=50)		Com sobrecarga de Fe (SF, n=18)		
	mediana	IQR(P25-P75)	mediana	IQR(P25-P75)	
<b>Hb</b> , g/dL (H 13-18; M 12-16)	8,70	7,50-9,60	8,40	6,38-9,38	0,24
<sup>a</sup> <b>RET</b> , % (1-3)	5,50	3,85-8,25	4,00	3,05-6,55	0,12
<sup>b</sup> <b>PCR</b>	0,49	0,25-1,31	1,13	0,32-1,51	0,59
<b>RDW</b> , % (11,5 – 14,5)	15,7	13,8-17,9	13,7	12,6-14,2	0,01
<b>Leuco</b> , $\times 10^3/\text{mm}^3$ (5 – 10)	8,65	6,88-11,93	10,05	8,00-14,23	0,18
<sup>c</sup> <b>BT</b> , mg/dl (até 1,2)	2,10	1,26-2,97	1,30	1,05-2,55	0,13
<sup>c</sup> <b>BD</b> , mg/dl (até 0,4)	0,60	0,50-0,82	0,55	0,40-1,10	0,89
<sup>c</sup> <b>BI</b> , mg/dl (até 0,8)	1,40	0,86-2,02	0,80	0,60-1,74	0,11
<b>LDH</b> , U/L (230 – 480)	791	560-1165	731	684-995	0,99
<sup>d</sup> <b>HbF</b> , % (até 1,0)	9,70	4,10-16,60	2,90	1,65-8,00	0,02
<b>Ferro</b> , $\mu\text{g}/\text{dl}$ (H 65-170; M 50-170)	105,0	88,8-146,0	137,0	91,3-208,5	0,11
<b>Ferritina</b> , ng/mL (H 30-400; M 13-150)	246	60-523	1782	1165-2490	0,00
<b>CTLF</b> , $\mu\text{g}/\text{dl}$ (450-420)	280	239-343	241	197-324	0,48

Os resultados são expressos como medianas e intervalo interquartil (IQR, P25-P75). Hb, hemoglobina; RET, reticulócitos; PCR, Proteína C-reativa; Leuco, Leucócitos; BT, bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase; HbF, hemoglobina fetal; CTF, Capacidade total de ligação do ferro. <sup>a</sup> Os dados de RET estão disponíveis para 45 pessoas SSF; <sup>b</sup> Os dados de PCR estão disponíveis para uma subamostra de 19 pessoas SSF e 5 pessoas SF. <sup>c</sup> Os dados de BT, BD e BI estão disponíveis para 45 pessoas SSF, <sup>d</sup> Os dados de HbF estão disponíveis para 39 pessoas SSF. <sup>e</sup> P-valor na comparação entre os grupos SSF vs. SF utilizando teste de Mann-Whitney U.

Tabela 3 - Parâmetros ósseos em função da sobrecarga de ferro segundo o sexo.

	Homens					Mulheres				
	SSF (n=21)		SF (n=6)		P- Valor <sup>a</sup>	SSF (n=29)		SF (n=12)		P- Valor <sup>a</sup>
	media na	IQR (P25-P75)	media na	IQR (P25-P75)		media na	IQR (P25-P75)	media na	IQR (P25-P75)	
<b>L1-L4</b>										
DMO, g/cm <sup>2</sup>	1,110	0,905; 1,195	1,100	1,053; 1,200	0,771	1,026	0,908; 1,148	1,038	0,933; 1,228	0,977
<b>L1-L4 Z</b>										
score	-1,10	-2,95; -0,25	-0,85	-1,40; -0,23	0,579	-1,20	-1,95; -0,20	-1,15	-1,87; 0,13	0,954
<b>TBS</b>										
	1,339	1,260; 1,395	1,358	1,260; 1,369	1,00	1,257	1,211; 1,394	1,255	1,170; 1,384	0,488
<sup>b</sup> FT DMO, g/cm <sup>2</sup>	1,044	0,869; 1,147	1,007	0,903; 1,133	0,903	0,978	0,805; 1,085	0,957	0,756; 1,172	0,818
<sup>b</sup> FT Escore Z	-0,40	-1,48; 0,38	0,00	-1,28; 0,65	0,583	-0,35	-1,25; 0,85	0,25	-1,50; 1,55	0,697
<sup>c</sup> CF DMO, g/cm <sup>2</sup>	1,011	0,893; 1,099	0,933	0,913; 1,232	1,00	0,947	0,858; 1,027	0,933	0,767; 1,100	0,809
<sup>c</sup> CF Escore Z	-0,45	-1,08; 0,43	-0,15	-0,93; 2,03	0,626	-0,50	-1,00; 0,80	-0,40	-1,50; 0,80	0,384
<b>ATB DMO</b> , g/cm <sup>2</sup>	0,871	0,841; 0,980	0,922	0,819; 0,969	0,977	0,835 *	0,765; 0,886	0,848	0,689; 0,897	0,988
<b>ATB</b> Escore Z	-1,60	-2,10; 0,15	-1,40	-2,20; -0,35	0,948	-0,75	-1,48; -0,25	-0,60	-2,20; 0,50	0,719

Os resultados são expressos como mediana e intervalo interquartil (IQR, P25-P75). SSF, sem sobrecarga de ferro; SF, com sobrecarga de ferro; FT=fêmur total; CF=colo femoral; ATB=antebraço. <sup>a</sup>P-valor para comparação entre os grupos SSF vs. SF, em cada sexo, utilizando teste de Mann-Whitney U. <sup>b</sup>Dados de BMD e Escore Z de Fêmur total disponíveis para 36 mulheres (25 SSF e 11SF). <sup>c</sup>Dados de BMD e Escore Z de colo femoral disponíveis para 38 mulheres (27 SSF e 11 SF). \*indica diferença significativa na comparação entre os sexos para o mesmo estado de sobre carga de ferro, utilizando teste de Mann-Whitney (P <0,05).

Tabela 4 - Distribuição dos indivíduos sem e com sobrecarga de ferro segundo a condição da microarquitetura óssea.

Microarquitetura	TBS	SSF (49)	SF (18)	P-valor
<b>Classificação</b>				
Degradada	≤1,230	32 (64,0)	11 (61,1)	
Parcialmente degradada	1,230> e <1,310	7 (14,0)	4 (22,2)	0,728
Normal	≥ 1,310	10 (20,0)	3 (16,7)	

Os valores são indicados como n (%). Diferenças entre os grupos sem sobrecarga de ferro (SSF) e com sobrecarga de ferro (SF) foram testadas utilizando o teste de Qui-quadrado.

Tabela 5 - Coeficientes de correlação de Spearman entre os marcadores bioquímicos de hemólise e os parâmetros ósseos

	Hb	Ferro	BT <sup>+</sup>	BD <sup>+</sup>	BI <sup>+</sup>	LDH
L1L4 DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,18	-0,15	<b>-0,29*</b>	<b>-0,24*</b>	<b>-0,30*</b>	-0,20
L1-L4 Z score	<b>0,23*</b>	-0,16	<b>-0,36**</b>	<b>-0,34**</b>	<b>-0,35**</b>	<b>-0,26*</b>
TBS	-0,19	-0,18	<b>-0,30**</b>	<b>-0,29**</b>	<b>-0,31**</b>	-0,18
FT DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,17	-0,19	<b>-0,41***</b>	<b>-0,40**</b>	<b>-0,40**</b>	<b>-0,29*</b>
FT Escore Z	<b>0,24*</b>	-0,21	<b>-0,39**</b>	<b>-0,37**</b>	<b>-0,37**</b>	<b>-0,28*</b>
CF DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,21	<b>-0,27*</b>	<b>-0,37**</b>	<b>-0,41***</b>	<b>-0,36**</b>	<b>-0,25*</b>
CF Escore Z	0,15	<b>-0,26*</b>	<b>-0,40**</b>	<b>-0,43***</b>	<b>-0,37**</b>	-0,23
ATB DMO, g/cm <sup>2</sup>	0,17	-0,11	-0,16	-0,13	-0,14	-0,14
ATB Escore Z	0,20	-0,14	-0,22	-0,19	-0,19	-0,21

N=68. Coeficientes de correlação de Spearman (r). TBS, trabecular bone score; FT, fêmur total; CF, colo do fêmur; ATB, antebraço; Hb, hemoglobina; BT bilirrubina total; BD, bilirrubina direta; BI, bilirrubina indireta; LDH, lactato desidrogenase. \* P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001. \*Os dados de BT, BD e BI estão disponíveis para 62 pessoas.

## 5.2 Artigo 2: Densidade, microarquitetura e morfometria óssea da coluna lombar em adultos com anemia falciforme

Marise Crivelli, Claudia Cople Santos-Rodrigues, Ronir Raggio Luiz, Guilherme Cardenaz, Flávia F. Bezerra

Periódico pretendido: *Journal of Clinical Densitometry: Assessment and Management of Musculo-Skeletal Health* (Fator de impacto: 2.62)

### Resumo

A anemia falciforme (AF) é uma doença hematológica hereditária que ocasiona diversas complicações associadas a hemólise e vaso-oclusão, que pode ocasionar diversas manifestações clínicas incluindo baixa massa óssea e até mesmo osteoporose. Alterações na estrutura óssea dos indivíduos com anemia falciforme podem comprometer a avaliação da densidade mineral óssea (DMO) da coluna lombar. O objetivo do presente estudo foi avaliar a DMO, a presença de alterações morfológicas e a microarquitetura óssea da coluna lombar em indivíduos adultos com anemia falciforme. Foi realizado estudo transversal com 86 indivíduos adultos, homens (n=34) e mulheres (n=52) com genótipo confirmado de AF (HbSS). Foram avaliados por absorciometria por dupla emissão de RX (DXA) a DMO da coluna lombar, morfometria vertebral (VFA) e avaliação da microarquitetura óssea através do escore do osso trabecular (TBS). Mais de 60% dos indivíduos apresentaram baixa DMO e fraturas moderadas e/ou severas em pelo menos uma vértebra identificada por morfometria. Em 54% dos indivíduos foi possível identificar degradação (total ou parcial) da microarquitetura óssea por TBS, mesmo entre aqueles com adequação da massa óssea e ausência de alterações morfológicas. Estes resultados sugerem que, em virtude das frequentes alterações morfológicas e/ou de

microarquitetura, a coluna lombar dos indivíduos adultos com anemia falciforme pode não ser um bom sítio de análise para a avaliação da DMO. O TBS foi sensível para demonstrar alteração da microarquitetura óssea mesmo em indivíduos com escore- Z normal e sem alteração morfológica. O estudo morfológico por VFA da coluna vertebral é um exame elucidativo para análise da estrutura óssea dos indivíduos com anemia falciforme.

**Palavras-Chave:** Anemia falciforme; densidade mineral óssea; escore do osso trabecular; fratura vertebral.

### 5.2.1 Introdução

A anemia falciforme (AF) é uma das doenças genéticas mais comuns no mundo afetando milhões de pessoas, particularmente na África subsaariana e na Índia central (PIEL,2017). No Brasil, é a doença hematológica de origem genética mais prevalente (NAOUM, 2000; MANFREDINI et al. 2007), sendo considerada um problema de saúde pública. A AF caracteriza-se por ser uma anemia hemolítica que cursa com disfunção endotelial, inflamação, hipercoagulabilidade e aumento do estresse oxidativo que contribuem para os fenômenos vaso-occlusivos (PLATT, 2000; REES et al., 2010).

As crises vaso-occlusivas podem acarretar comprometimento ósseo ao ocasionar deformidades e colapsos vertebrais, consideradas manifestações clínicas frequentes nas pessoas com AF (MILLER et al., 2006; GADARAH et al., 2015; BALDANZI et al., 2011). As consequências da AF para a densidade mineral óssea (DMO) de indivíduos adultos são menos exploradas na literatura, possivelmente pelo fenômeno mais recente de aumento da expectativa de vida desses pacientes. A maioria dos estudos sobre o tema não restringe a faixa etária estudada e tampouco o genótipo HbSS da doença falciforme (MEEUWES et al, 2013; BRINKER et al, 1998; FUNG et al, 2005).

Tem sido demonstrado que pessoas com AF são mais propensas a apresentar baixa massa óssea e fraturas na coluna vertebral (SERARSLAN et al, 2010; FRANCESCHI et al., 2020) em decorrência de diversos fatores, tais como, baixo peso corporal, hipogonadismo e deficiência de vitamina D (MILLER, et al. 2006, SARRAI, et al., 2006; BALDANZI et al., 2011; MEEUWES et al., 2013; GADARAH et al.,2015), frequentemente observados nessa população. Por outro lado, há estudos que descrevem a presença de elevada densidade óssea em diferentes regiões anatômicas nestes indivíduos ( NELSON et al 2003; VOSCARIDOU, 2003; ALLARD et al.;DE LUNA et al., 2018). A falta de consenso na literatura quanto às consequências da AF para a massa óssea pode ser decorrência da não consideração de alterações morfológicas na interpretação dos dados de DMO. De fato, há estudos que sugerem que a eventual elevada DMO seja decorrente de infartos ósseos que, por sua vez, resultam no estímulo para a formação de osso novo, osteólise e esclerose óssea (NELSON et al., 2003; VOSCARIDOU,2003; ALLARD et al.; DE LUNA et al., 2018). A hipótese desse estudo é

que as alterações na estrutura óssea dos indivíduos com anemia falciforme podem comprometer a DMO da coluna lombar, medida por Absorciometria de Raios X de Dupla Energia (DXA), não revelando o verdadeiro impacto da doença sobre a massa óssea. O presente estudo tem por objetivo avaliar a massa óssea por meio da densidade óssea, a morfologia e a microarquitetura da coluna vertebral de adultos com anemia falciforme.

## 5.2.2 Métodos

### 5.2.2.1 Desenho e população de estudo

Este estudo integra uma das linhas de pesquisa desenvolvidas pelo Centro de Referência de Nutrição à Pessoa com Doença Falciforme (NUTRIFAL) do Ministério da Saúde do Brasil. Elegeram-se como campo de aplicação da pesquisa o Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE) e o Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti (Hemorio), ambos referência no tratamento de doenças hematológicas no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Trata-se de estudo transversal prospectivo com amostra não probabilística de conveniência composta por adultos com diagnóstico de anemia falciforme.

Foram incluídos no estudo indivíduos com idade entre 20 e 59 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico confirmado de anemia falciforme (HbSS), que estavam em acompanhamento regular nos ambulatórios do hemorio e do HUPE e clinicamente estáveis (sem doença vaso-oclusiva aguda ou episódios de síndrome torácica aguda) nos últimos 30 dias anteriores à avaliação. Não foram incluídos os indivíduos que faziam uso de corticoides, hormônio tireoidiano, imunossupressores, portadores de HIV, hepatite B e C e em tratamento por hemodiálise e todos os participantes forneceram consentimento livre e esclarecido e o protocolo de estudo foi devidamente aprovado pelos comitês de ética das instituições envolvidas (parecer técnico 2819/10 e 244/10, respectivamente).

### 5.2.2.2 Coleta de dados gerais e medidas antropométricas

Foi aplicado um questionário estruturado para coleta de informações sobre idade, raça/cor, status da menopausa e uso de hidroxiuréia. As medidas antropométricas foram realizadas no Laboratório Interdisciplinar de Avaliação Nutricional do Instituto de Nutrição da UERJ (LIAN-INU/UERJ). A massa corporal total foi medida utilizando balança de plataforma digital Filizola (Brasil/SP) com precisão 0,1Kg. A estatura foi medida utilizando-se um estadiômetro acoplado à balança. O Índice de Massa Corporal foi calculado [IMC = Peso (kg)

/ Altura<sup>2</sup> (m)] e os pontos de corte estabelecidos pela OMS (1995) utilizados para classificação do estado nutricional.

#### 5.2.2.3 Densidade mineral óssea (DMO)

Para a determinação da DMO foi realizado o escaneamento da coluna lombar (L1 a L4) por densitometria óssea no equipamento *iDXA scanner, software 2011 encore* versão 13.60 (*GE Medical Systems Lunar*, Madison, WI, EUA), devidamente calibrado para garantir acurácia e precisão, e com coeficiente de variação 0,87%. O exame foi realizado por dois técnicos em radiologia devidamente treinados, no (LIAN-INU/UERJ). Os exames foram reanalisados por médico com título de especialista em densitometria fornecido pela *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD).

A fim de minimizar a possibilidade de interferência nos resultados devido à discrepância dos valores de densidade nas diferentes vértebras por fatores intrínsecos (infartos ósseos e fraturas prévias), para cada indivíduo foi utilizado o menor valor de DMO, escore- T e escore- Z da coluna lombar de L1 a L4. Os resultados foram interpretados de acordo com as Recomendações da *International Society of Clinical Densitometry*- ISCD (SHOUSBOE et al 2013). Segundo o escore T, a massa óssea dos indivíduos foi classificada em “Normal” (escore-T  $\geq -1,0$ ), “Baixa massa óssea ou osteopenia” ( $-1,0 < \text{escore-T} < -2,5$ ), “Osteoporose” (escore-T  $\leq -2,5$ ) e “Osteoporose severa ou Osteoporose estabelecida” (escore T  $\leq -2,5$ ) e presença de 1 ou mais fraturas por fragilidade. Segundo o escore-Z, a massa óssea foi classificada em “Abaixo da faixa esperada para a idade (escore-Z  $\leq -2,0$ ), “Dentro do limite esperado para a idade” (escore-Z  $> -2,0$ ) e “Acima do limite esperado para a idade” (escore-Z  $\geq 2,5$ ), conforme proposto por WHYTE, (2005) e MORGAN e colaboradores (2010).

Adicionalmente, em uma subamostra de indivíduos acima de 40 anos que realizaram análise de fratura vertebral (descrita a seguir), a DMO foi descrita após exclusão das vértebras com alteração baseada em três diferentes critérios: 1) exclusão de indivíduos com escore- Z acima de 2,5 em 3 ou mais vértebras (WHYTE, 2005; MORGAN et al., 2010); 2) exclusão de 3 ou mais vértebras com alteração morfológica (GENANT et al, 1993); 3) exclusão de vértebra exibindo densidade discrepante e/ou anatomicamente anormal de acordo com as posições oficiais da ISCD, (2019).

#### 5.2.2.4 Microarquitetura óssea

O estudo da microarquitetura óssea da coluna lombar foi realizado pelo *software* Trabecular Bone Score- TBS *iNsight®* (versão 2.1.0; Medimaps Group, Suíça) após reanálise



de cada exame de densitometria previamente realizado. O TBS foi calculado nas mesmas regiões onde foram realizadas as medições da DMO. Seus resultados foram classificados segundo MCCLOSKEY e colaboradores (2016) em: “Microarquitetura degradada” ( $TBS \leq 1,230$ ), “Microarquitetura parcialmente degradada” ( $1,230 > TBS < 1,310$ ) e “Microarquitetura normal” ( $TBS \geq 1,310$ ).

#### 5.2.2.5 Avaliação de fratura vertebral

Em uma subamostra composta por 33 indivíduos com anemia falciforme e idade acima de 40 anos foi avaliada a prevalência de fratura vertebral utilizando o *software* de avaliação de fratura vertebral (*Vertebral Fracture Assessment -VFA*, EnCore, versão 13.60).

Os participantes foram posicionados em decúbito lateral de acordo com as orientações do fabricante e realizado o escaneamento da coluna vertebral em perfil que foi iniciado a partir da localização do osso sacro, visando o segmento T7 a L4 da coluna vertebral. As imagens foram analisadas através da marcação por pontos dispostos em cada corpo vertebral para medir a altura vertebral em três planos: anterior, médio e posterior, permitindo ao *software* estimar a extensão de redução das alturas das vértebras. As alterações morfológicas foram também identificadas a partir de sua aparência e comparação com vértebras vizinhas. Os exames foram reavaliados em dois diferentes momentos por médico reumatologista com treinamento específico e experiência em identificação de alterações morfológicas vertebrais.

A verificação incluiu a observação do posicionamento correto de marcadores nos corpos vertebrais e diferenciação entre fratura vertebral e deformidades (ex. informação sobre vértebra em H) devido a outras patologias. As alterações morfológicas vertebrais foram classificadas usando o método semiquantitativo de Genant, *et al*, 1993, de acordo com sua gravidade: grau 0, ausência de morfológica; grau 1 (leve), corresponde a uma redução de 20% a 25% em qualquer altura vertebral; grau 2 (moderado), corresponde a redução de 25% a 40% na altura vertebral; e grau 3 (severa), representando redução na altura vertebral  $> 40\%$ . Apenas alterações morfológicas moderadas e severas foram descritas neste estudo.

#### 5.2.2.6 Análises estatísticas

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para testar a homogeneidade dos dados. Os dados foram descritos como frequências (n) e percentuais (%), como médias e desvio-padrão ou medianas e intervalo interquartil (IQR). Características gerais dos participantes foram comparadas entre os sexos utilizando teste t de Student para variáveis contínuas ou teste Qui-quadrado para variáveis categóricas. A comparação entre os dados de DMO e score-Z nos

homens e mulheres divididos em 3 grupos segundo a classificação da microarquitetura óssea (normal, parcialmente degradada e degradada) foram comparados utilizando teste de Kruskal Wallis seguido de comparação de pares. As medianas de DMO, escores Z e T e TBS obtidas a partir dos 3 diferentes critérios de exclusão de vértebras (ou indivíduos) foram comparadas aos valores obtidos sem nenhuma exclusão utilizando teste de Mann Whitney. O nível de significância estatística foi estabelecido em 95%. Os dados foram analisados estatisticamente utilizando o programa "SPSS®" (versão 22, SPSS Inc., Chicago, Illinois, EUA).

### 5.2.3 Resultados

Ao todo foram avaliados 86 adultos, com média de idade de  $39,3 \pm 12,8$  anos, sendo a maioria da amostra composta por mulheres (62%). Mais da metade dos participantes apresentava eutrofia (57%) e fazia uso de hidroxiuréia (52%). Com exceção de um indivíduo, todos os participantes se auto referiram como pardos ou negros. Não foram observadas diferenças significativas nos valores médios de idade e IMC entre os sexos. A distribuição entre as categorias de IMC foi significativamente diferente entre os sexos ( $p=0.023$ ), sendo a obesidade observada apenas entre as mulheres (**Tabela 1**).

A **tabela 2** apresenta os valores de DMO e escore-Z de L1-L4 de mulheres e homens subdivididos em função do grau de degradação da microarquitetura óssea da coluna lombar, segundo os pontos de corte do TBS. Os valores apresentados correspondem à mediana e intervalo interquartil da menor DMO de L1-L4. Entre as mulheres, os valores de DMO e escore-Z foram significativamente menores entre aquelas com microarquitetura óssea degradada ou parcialmente degradada quando comparadas àquelas com microarquitetura classificada como normal ( $p<0,05$ , Kruskal-Wallis). Entre os homens, os valores de DMO e escore-Z não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os três grupos.

Para os indivíduos acima de 40 anos ( $n=33$ ) também foi realizada a análise morfológica das vértebras T5 a L4. Entre esses indivíduos, observamos que 63,2% das mulheres e 64% dos homens apresentavam uma ou mais alterações morfológicas de grau 2 e/ou grau 3 (**Figura 1A e 1B**). O número de vértebras com alterações morfológicas foi especialmente elevado entre as mulheres, totalizando 51 vértebras com alteração e maior prejuízo das vértebras lombares. Além disso, vértebras com alteração morfológica em H, típicas da anemia falciforme, foram observadas em um homem e três mulheres estudadas (**Quadro suplementar 1**).

Nos indivíduos acima de 40 anos foram avaliados os parâmetros ósseos quantitativos (DMO, escore-T, escore-Z e TBS) da coluna lombar (L1 a L4) aplicando os diferentes métodos de exclusão de vértebras/indivíduos (**Tabela 3**). Tanto em mulheres quanto em homens, independente do critério adotado para exclusão de vértebras/indivíduos, as medianas de DMO,

escore-T, escore-Z e TBS não apresentaram diferença significativa em relação aos valores observados quando nenhum critério de exclusão foi adotado (Tabela 3).

Dos 5 indivíduos (4 mulheres e 1 homem) que foram excluídos das análises (*outliers*) pelos diferentes parâmetros, 4 apresentavam alteração morfológica em mais de 3 vértebras, incluindo vertebra em H, e escore-Z acima de 2,5 (Quadro Suplementar 1). Cabe ressaltar que um homem foi excluído de todas as análises, pois apresentava simultaneamente densidade mineral óssea elevada e múltiplas fraturas.

Entre os onze indivíduos que não apresentavam alteração morfológica avaliada por VFA, nove apresentaram escore Z compatível com normalidade. Dentre esses últimos, sete apresentaram valores de TBS compatível com microarquitetura degradada (**Figura 2**). Do total de indivíduos com alteração morfológica (n=21), 17 apresentaram valores de TBS compatíveis com microarquitetura degradada ou parcialmente degradada e apenas 10 apresentaram escore Z compatível com baixa massa óssea (n=6) ou massa óssea acima do esperado (n=4).

#### 5.2.4 Discussão

No presente estudo foram abordadas diferentes estratégias de avaliação óssea da coluna lombar em mulheres e homens adultos com anemia falciforme. De modo geral, observamos que mais de 60% dos indivíduos apresentaram baixa DMO e fraturas moderadas e/ou severas em pelo menos uma vértebra identificada por morfometria. Em mais da metade (55%) dos indivíduos foi possível identificar degradação (total ou parcial) da microarquitetura óssea por TBS, sendo este percentual elevado mesmo entre os indivíduos com adequação da massa óssea segundo escore-Z e ausência de alterações morfológicas.

São poucos os estudos que avaliam a massa óssea de adultos com anemia falciforme e ainda mais escassos aqueles que discutem as implicações da anemia falciforme na massa óssea de adultos particularmente envolvendo a coluna vertebral (RUDY et al.,2019). A maioria dos estudos (BRINKER et al., 1998, LAL et al, 2005 MEUWES et al 2013) foi realizado em crianças e jovens e mencionam haver baixa DMO neste grupo. Em um estudo que avaliou adolescentes, adultos e idosos com idade entre 15 e 80 anos, de ambos os sexos, com doença falciforme foi observada elevada prevalência (79.6%) de baixa DMO (SARRAY et al,2006). O estudo de SARRAY et al, (2006) descreveu a tendência de menor DMO na coluna lombar quando comparada aos demais sítios ósseos estudados (fêmur e antebraço).

Neste estudo observou-se baixa massa óssea e/ou osteoporose na coluna lombar em 70% das mulheres e 63% dos homens. No entanto, houve DMO acima do esperado para a idade em 4 indivíduos avaliados (um homem e 3 mulheres) que apresentavam alteração morfológica em 'H' ao menos em 3 vértebras (Tabela Suplementar 1). Outros autores avaliando a DMO de

adultos com AF também observaram valores elevados de massa óssea que poderiam estar associados com osteoesclerose (VOSKARIDOU et al, 2006; DE LUNA et al, 2018) ou com a sobrecarga de ferro no fígado ao nível da primeira e segunda vértebras lombares (ALLARD et al, 2018). Esses resultados indicam que alterações estruturais das vértebras por patologias ósseas, tais como infartos ósseos, osteoporose, fraturas por compressão, entre outras, assim como artefatos de imagem podem interferir nos resultados do DXA e gerar resultados discrepantes (altos ou baixos) de DMO (VOSKARIDOU et al, 2006; ALLARD et al, 2018; DE LUNA et al, 2018).

As alterações da estrutura óssea podem ocorrer mesmo em indivíduos mais jovens com anemia falciforme tal como foi descrito por SERASRSLAN e colaboradores (2010), que avaliou 100 indivíduos com AF de diversas faixas etárias (6-46 anos). Neste estudo, os indivíduos de maior faixa etária (16-20 anos e 20 anos ou mais) apresentaram menor densidade óssea de T10 a L5 ao RX, exceto dois participantes com 27 e 34 anos de idade que apresentaram DMO considerada alta (escore-Z > 2,0), relacionada com achatamento e esclerose das vértebras, resultando em hiperdensidade das mesmas. De modo semelhante, no presente estudo observamos valores de densidade mineral óssea com grande variabilidade (DMO e escore-Z elevados e baixos) mesmo com exclusão dos *outliers* e das vértebras com alteração morfológica.

Na população em geral, o TBS tem apresentado boa correlação com a DMO e contribuído para maior previsibilidade ao risco de fratura, quando associado a outra ferramenta comumente utilizada, o FRAX (LESLIE et al, 2013 MCCLOSKEY, 2016). Até o momento, não foram encontrados estudos avaliando a microarquitetura óssea utilizando o TBS em indivíduos com anemia falciforme. Em estudo que avaliou 124 indivíduos adultos (19-56 anos) com talassemia, a utilização do TBS permitiu observar que indivíduos com escore-Z normal já apresentavam microestrutura óssea comprometida (BALDINI et al, 2014). Outro estudo, também em indivíduos com talassemia, demonstrou que a combinação da baixa DMO com baixo TBS resultou em maior prevalência (67%) de fraturas (TEAWTRAKUL et al., 2020).

No presente estudo, avaliamos os parâmetros de DMO de coluna lombar em função dos graus de degradação da microarquitetura segundo o TBS e observamos que a DMO e o escore-Z da coluna lombar foram significativamente menores entre as mulheres com microarquitetura óssea parcialmente degradada ou degradada. Cabe ressaltar que, entre os indivíduos com microarquitetura parcialmente degradada observou-se que a faixa de variação dos valores de escore-Z abrange tanto indivíduos com DMO normal quanto indivíduos com baixa massa óssea. Observação semelhante pode ser feita a partir da análise do subgrupo de indivíduos acima de 40 anos, em que o TBS foi também sensível para demonstrar alteração da microarquitetura óssea mesmo em indivíduos com escore-Z normal e sem alteração morfológica.

O escore-T foi calculado para as mulheres na menopausa (n=18) e revelou grande variabilidade nas quinze mulheres que apresentaram TBS compatível com microarquitetura parcialmente degradada e microarquitetura degradada. Apenas três mulheres apresentaram TBS compatível com microarquitetura normal.

É importante ressaltar que em indivíduos com anemia falciforme a predisposição a fraturas não depende só da DMO. Os infartos ósseos vertebrais e a hiperplasia da medula enfraquecem o centro do corpo da vértebra que, combinada com osteoporose pré-existente, pode levar ao colapso vertebral que origina uma imagem típica da doença que é a deformidade em forma de H visualizada ao RX (BENETT et al.,1990) e, mais recentemente, por meio da morfometria vertebral por DXA (MUSKAT et al.,2015; SERARSLAN et al.,2010; RUDY et al.,2019; FRANCESCHI, et al., 2020). A alta prevalência de alterações morfológicas vertebrais nestes indivíduos já foi documentada (SERARSLAN, et al,2010; FRANCESCHI et al, 2020), ainda que a prevalência de osteoporose fosse baixa (FRANCESCHI et al, 2020).

No presente estudo, a análise da morfologia das vértebras permitiu identificar e caracterizar as alterações vertebrais dos indivíduos estudados. Constatou-se elevada frequência de alterações morfológicas (acima de 60%) tanto em homens quanto em mulheres. No entanto, diferente do que esperávamos, a utilização simultânea de parâmetros distintos para a interpretação dos resultados da DMO não contribuiu para maior capacidade discriminatória do impacto da doença sobre as vértebras, uma vez que os resultados de DMO poderiam estar comprometidos na presença de alterações morfológicas e/ou da microarquitetura óssea. Além disso, ao que tudo indica, as alterações morfológicas em H foram responsáveis pelo escore-Z elevado de quatro indivíduos que foram considerados como *outliers* no nosso estudo e o uso do TBS permitiu discriminar alteração da microarquitetura óssea nesses indivíduos. Não encontramos dados disponíveis na literatura para o ponto de corte do TBS acima do qual seria considerado anormal.

Dentre as limitações do estudo destaca-se o pequeno número de indivíduos avaliados e a impossibilidade de investigar potenciais fatores preditivos de fraturas, tais como parâmetros do metabolismo ósseo, deficiência de vitamina D e história pregressa de fraturas posto que estas informações não foram objeto deste estudo. Por outro lado, a utilização de diferentes ferramentas e abordagens possibilitou explorar os efeitos da anemia falciforme na estrutura óssea da coluna lombar. Destacamos, que foi analisada uma população restrita à anemia falciforme (não incluídos outros genótipos da doença falciforme) e em uma faixa etária menos comumente estudada no âmbito desta doença. A avaliação da coluna vertebral por VFA apresenta vantagens em relação às radiografias convencionais por permitir detectar fraturas vertebrais simultaneamente à avaliação da densidade óssea e da microarquitetura óssea. Os resultados do presente estudo sugerem que, em virtude das frequentes alterações morfológicas

e/ou de microarquitetura, a coluna lombar dos indivíduos adultos com anemia falciforme pode não ser um bom sítio de análise para a avaliação da densidade mineral óssea. O TBS foi sensível para demonstrar alteração da microarquitetura óssea mesmo em indivíduos com escore-Z normal e sem alteração morfológica. O estudo morfológico por VFA da coluna vertebral é um exame elucidativo para análise da estrutura óssea dos indivíduos com anemia falciforme. Sugerimos fortemente a inclusão desta análise na avaliação destes pacientes. Pesquisas futuras nesta população devem se concentrar na confirmação desses achados em uma amostra maior de pacientes.

### 5.2.7 Referências Bibliográficas

ALLARD M, CALVELLI L, WEYHMILLER G M, GILDENGORIN G, FUNG B E. Vertebral Bone Density Measurements by DXA are Influenced by Hepatic Iron Overload in Patients with Hemoglobinopathies. *J Clin Densitom*, Oakland, CA., 22(3):329-337,2019.

BALDANZI G, TRAINA F, MARQUES NETO J F, OLIVEIRA SANTOS A, RAMOS D C, SAAD OT S. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. *Clinics*. 66(5):801-805, 2011.

BALDINI M, ULIVIERI M F, FORTI S, SERAFINO S, SEGHEZZI S, MARCON A, GIARDA F, MESSINA C, CASSINERIO E, AUBRY-ROZIER B, HANS D, CAPPELLINI M D. Spine Bone Texture Assessed by Trabecular Bone Score (TBS) to Evaluate Bone Health in Thalassemia Major. *Calcif Tissue Int* .95(6):540–546, 2014.

BENNETT M O, NAMNYAK S. Bone and Joint Manifestations of Sickle Cell Anaemia. *J Bone Joint Surg*.72(8): 494-499,1990.

BRINKER M R, THOMAS K A , MEYERS S J, TEXADA T, HUMBERT J R, COOK S D , GITTER R. Bone mineral density of the lumbar spine and proximal femur is decreased in children with sickle cell anemia. *Am J Orthop* (Belle Mead NJ), Houston, 27(1): 43-49,1998.

DE FRANCESCHI L. GABBIANI D, GIUSTI A, FORNI G, STEFANONI F, PINTO MV, SARTORI G, BALOCCO M, DAL ZOTTO C, VALENTI T M, CARBONARE D L. Development of Algorithm for Clinical Management of Sickle Cell Bone Disease: Evidence for a Role of Vertebral Fractures in Patient Follow-up. *J.Clin.Med*. n.9(1601),2020.

DE LUNA G, RANQUE B, COURBEBAISSSE M, RIBEIL J A , KHIMOUD D, DUPEU S, SILVERA J et al. High bone mineral density in sickle cell disease: Prevalence and characteristics. *Bone*. Paris. 110: 199-203,2018.

GARADAH S T, HASSAN B A, JARADAT A , DIAB E D, KALAFALLA O H, KALIFA K A, SEQUEIRA P R, ALAWADI H A. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. *Clin Med Insights Endocrinol Diabetes*, Manama, 7 (8): 35-40,2015.

GENANT H K, WU C Y, KUIJK C V, NEVITT CM. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bon Miner Res.*, San Francisco. 8(9):1137–1148, 1993.

FUNG BE, PAKBAZ Z., HACKNEY-STEPHENS E, VICHINSKY P E. Bone mineral density in children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 47(7): 901-906, 2005.

LESLIE W D, KRIEG M A, HANS D. Clinical Factors Associated with Trabecular Bone Score. *J Clin Densitom.*16(3):374-379,2013.

MANFREDINI V, CASTRO S, WAGNER S, BENFATO S M . Fisiopatologia da anemia falciforme. *Infarma*, Porto Alegre, 19 (1/2),2007.

MCCLOSKEY V E, ODEM A, HARVEY C N, LESLIE D W, HANS D, JOHANSSON H, BARKMANN R, BOUTROY S. et al. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *Journal of Bone and Mineral Research.*31(5); 940–948 ,2016.

MEEUWES M, SOUZA DE CARVALHO T F, CIPOLOTTI R, GURGEL R Q, FERRÃO O T, PETERS M, AGYEMANG C. Bone mineral density, growth, pubertal development and other parameters in Brazilian children and young adults with sickle cell anaemia. *Trop Med Int Health.* 18 (12) :1539–1546 ,2013.

MILLER R G, SEGAL B J, ASHAR H B, LEUNG S, AHMED S, SIDDIQUE S, RICE T, LANZKRON S. High Prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. *Am J of Hematol*, Baltimore. 81(4): 236-241,2006.

MORGAN L S, PEACE F, LOPEZ-BEN R, FINEBERG N. Distribution of Z-scores in a University cohort with an emphasis on "high" bone mineral density. *J Clin Densitom.* 13(4):385-391,2010.

MUSZKAT P., BRASILIO R.C. M., SANTAROSA B., PETERS E., SIZUE KUNII I., LAZARETTI-CASTRO M. Digital vertebral morphometry performed by DXA: a valuable opportunity for identifying fractures during bone mass assessment. *Arch Endocrinol Metab* 59(2): 98-104,2015.

NAOUM P. C. Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme. *Rev. Bras. Hematol Hemoter*, São José do Rio Preto 22 (1): 5-22, 2000.

ODIÈVRE M H, VERGER E, SIVA-PINTO AC, ELION J . Pathophysiological insights in sickle cell disease. *Indian J Med Res.*Paris.134(4): 532-537,2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995. Disponível em: [http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4\\_sup pl\\_2\\_final.pdf](http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4_sup pl_2_final.pdf)

PIEL F B, STEINBERG M H, REES D. C. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*, 376(16): 1561–1573, 2017.

PLATT S O. Sickle cell anemia as an inflammatory disease. *J Clin Invest* 106(3):337-338, 2000.

REES D C, WILLIAMS T N, GLADWIN M K. Sickle-cell disease. *Lancet*, London376 (9757): 2018-2031,2010.

RUDY L H, YANG D, NAM D, CHO W. Review of Sickle Cell Disease and Spinal Pathology.

*Global Spine J.* 9(7):761-766, 2019.

SARRAI M, DUROSEAU H, D'AUGUSTINE J, MOKTAN S, BELLEVUE R. Bone mass density in adults with sickle cell disease. *BrJ Haematol.* 136(4): 666–672,2007.

SCHOUSBOE JT, SHEPHERD JA, BILEZIKIAN JP, BAIM S. Executive Summary of the 2013. International Society for Clinical Densitometry Position Development Conference on Bone Densitometry. *J Clin Densitom* 16: 455–466,2013.

SERARSLAN Y, KALACI A, ÖZKAN C, DOĞRAMACI Y, ÇOKLUK C, YANAT N.A. Morphometry of the thoracolumbar vertebrae in sickle cell disease. *J. Clin. Neurosci.* 17: 182-186, 2010.

TEAWTRAKUL N, CHUKANHOM S, CHAROENSRI S., SOMBOONPORN C, PONGCHAIYAKUL C. The Trabecular Bone Score as a Predictor for Thalassemia-Induced Vertebral Fractures in Northeastern Thailand. *Hindawe Anemia.* Article ID 4634709:1- 5, 2020.

THEIN M S, IGBINEWEKA N E, THEIN S L. Sickle cell disease in the older adult Pathology, Bethesda, 49(1):1-9,2017..

VALDERRÁBANO, R. J.; WU, Y. J. Bone and blood interactions in human health and disease. *Bone Miami.* 119, p. 65-70, 2019.

VOSKARIDOU E, STOUPA E, ANTONIADOU L, PREMETSIS E, KONSTANTOPOULOS K, PAPANASSOTIRIOU I, TERPOS E. Osteoporosis and osteosclerosis in sickle cell/  $\beta\beta$ -thalassemia: the role of the RANKL/osteoprotegerin axis. *Haematologica,* Athens, 91(6):813-816,2006.

WHYTE P.M. Misinterpretation of Osteodensitometry with High Bone Density BMD  $Z \geq +2.5$  Is Not “Normal”. *J Clin Densitom.* 8(1)1–6 ,2005.

ZAGO MA, PINTO ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev Bras Hematol Hemoter* 29(3):207-214,2007.

Tabela 1 - Características gerais dos indivíduos com anemia falciforme

Variável	Todos n= 86	Homens n= 34	Mulheres n=52	P-valor
Idade, anos	39,3 ± 12,8	40,1 ± 11,6	38,7 ± 13,7	0,324
Idade				0,102
IMC, Kg/m <sup>2</sup>	22,9 ± 5,0	21,5 ± 3,8	23,8 ± 5,5	0,107
IMC, categorias*				
Baixo Peso	15 (17,4)	08 (23,5)	07 (13,5)	
Eutrófico	49 (57,0)	19 (55,9)	30 (57,7)	0,023
Sobrepeso	12 (14,0)	07 (20,6)	05 (9,6)	
Obesidade	10 (11,6)	0 (0,0)	10 (19,2)	
Uso de hidroxiuréia**	45 (52,3)	21 (61,8)	24 (46,279)	0,199

Os dados são apresentados como média ± DP ou n (%). P-valor obtido na comparação entre os sexos por teste t de Student para variáveis contínuas ou teste Qui-quadrado para variáveis categóricas.

\*Categorias de IMC definidas segundo OMS,1995\*\*Informação disponível para 79 indivíduos.



Tabela 2 - Parâmetros ósseos da coluna lombar em função da avaliação da microarquitetura por TBS de adultos com anemia falciforme

	Graus de degradação da microarquitetura óssea*			
	Todos	Normal	Parcialmente degradada	Degradada
<b>Mulheres, n</b>	51	21	11	19
L1-L4 BMD, g/cm <sup>2</sup>	0,957 (0,829;1,058)	1,083 <sup>a</sup> (1,005;1,278)	0,875 <sup>b</sup> (0,833;0,957)	0,758 <sup>b</sup> (0,645;0,861)
Escore Z	-1,70 (-2,95;-0,95)	-0,70 <sup>a</sup> (-1,45;1,05)	-2,40 <sup>b</sup> (-2,80;-1,70)	-3,10 <sup>b</sup> (-4,00;-2,30)
<b>Homens, n</b>	33	17	08	08
L1-L4 BMD, g/cm <sup>2</sup>	0,980 (0,894;1,111)	1,074 (0,979;1,256)	0,937 (0,785;1,047)	0,875 (0,723;0,956)
Escore Z	-1,80 (-2,90;-0,88)	-1,10 (-2,05;0,45)	-2,45 (-3,83;-1,25)	-2,75 (-3,80;-2,13)

Os dados são apresentados como mediana (intervalo interquartil).

\* Graus de degradação estabelecidos de acordo com os pontos de corte de referência para o TBS:  $\leq 1,230$  = degradada;  $>1,230$  e  $< 1,310$  = parcialmente degradada;  $\geq 1,310$  = normal.

<sup>a,b</sup>Letras diferentes sobrescritas em uma mesma linha significa diferença significativa ( $P < 0,05$ ) entre os grupos por teste de Kruskal Wallis seguido de comparação de pares.

Tabela 3 - Parâmetros ósseos da coluna lombar com e sem exclusão segundo diferentes critérios nos adultos acima de 40 anos de idade com anemia falciforme

	Parâmetros ósseos em coluna lombar (L1-L4) <sup>1</sup>			
	Sem exclusão de vertebras com alteração	Excluídas vértebras com alteração segundo Genant <sup>2</sup>	Excluídos indivíduos com alteração em 3 ou mais vértebras <sup>3</sup>	Excluídas vértebras não viáveis segundo ISCD <sup>4</sup>
<b>Mulheres (n)</b>	19	15	16	18
BMD, g/cm <sup>2</sup>	0,980 (0,772;1,044)	0,978 (0,772;1,007)	0,939 (0,763;1,005)	0,979 (0,769;1,020)
Escore T	-2,30 (-3,60;-1,70)	-2,30 (-3,60;-1,70)	-2,35 (-3,60;-1,70)	-2,30 (-3,60;-1,70)
Escore Z	-1,50 (-3,00;-0,80)	-1,50 (-3,00;-1,40)	-1,85 (-3,60;-1,40)	-1,50 (-3,20;-1,25)
TBS	1,272 (1,151;1,392)	1,251 (1,095;1,322)	1,227 (1,109;1,315)	1,262 (1,137;1,359)
<b>Homens (n)</b>	14	13	13	13
BMD, g/cm <sup>2</sup>	1,000 (0,883;1,305)	0,962 (0,858;1,277)	0,962 (0,858;1,277)	0,962 (0,858;1,277)
Escore T	-1,95 (-2,75;0,45)	-2,0 (-3,00;-0,20)	-2,0 (-3,00;-0,20)	-2,0 (-3,00;-0,20)
Escore Z	-2,10 (-3,02;0,00)	-2,60 (-3,15;-0,35)	-2,60 (-3,15;-0,35)	-2,60 (-3,15;-0,35)
TBS <sup>5</sup>	1,273 (1,207;1,410)	1,270 (1,197;1,371)	1,270 (1,197;1,371)	1,270 (1,197;1,371)

<sup>1</sup>Os dados são apresentados como mediana (intervalo interquartil). As medianas obtidas a partir dos 3 diferentes critérios de exclusão foram comparadas aos valores obtidos sem nenhuma exclusão utilizando teste de Mann Whitney.

<sup>2</sup>Exclusão por alterações morfológicas de acordo com critério de Genant (grave/ moderada/ acentuada).

<sup>3</sup>Exclusão por Escore-Z elevado ( $\text{EscoreZ} \geq 2,5$ ) segundo WHYTE (2005) e MORGAN e colaboradores (2010).

<sup>4</sup>Exclusão de vertebras não viáveis (classificação diagnóstica baseada na DMO) segundo ISCD; <sup>5</sup>Para TBS, n=13, n=12 e n=12, respectivamente.

Figura 1 - Número de alterações morfológicas identificadas nas mulheres (A, n=19) e nos homens (B, n=14) com anemia falciforme

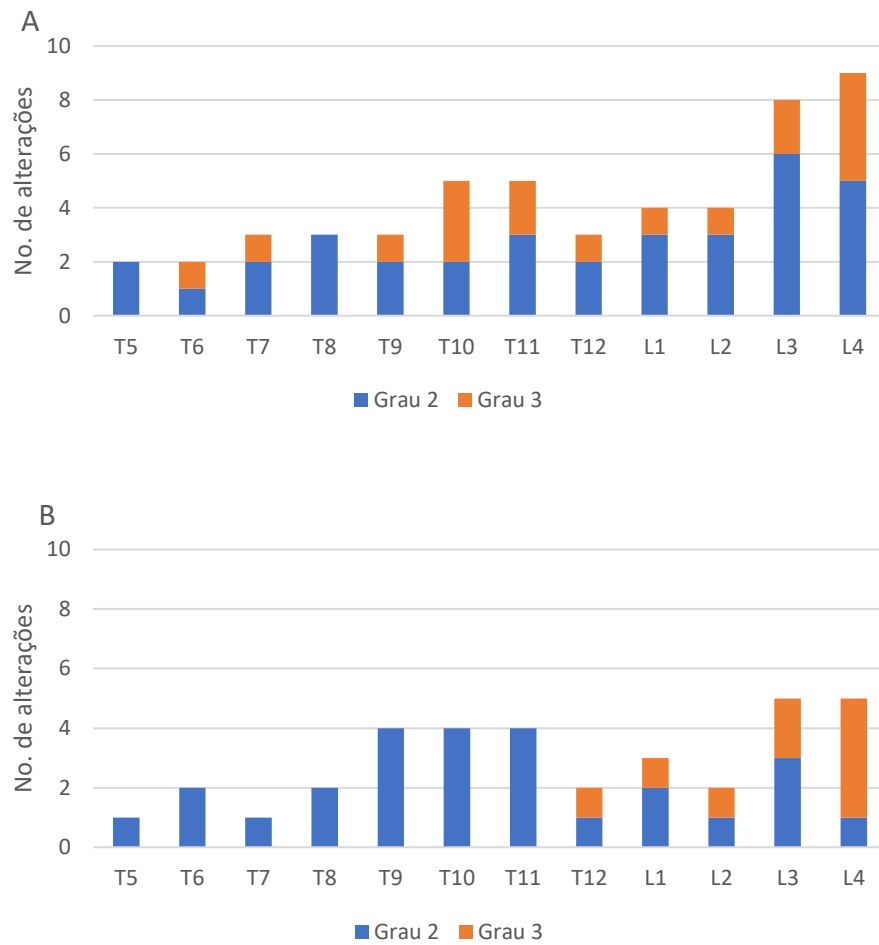
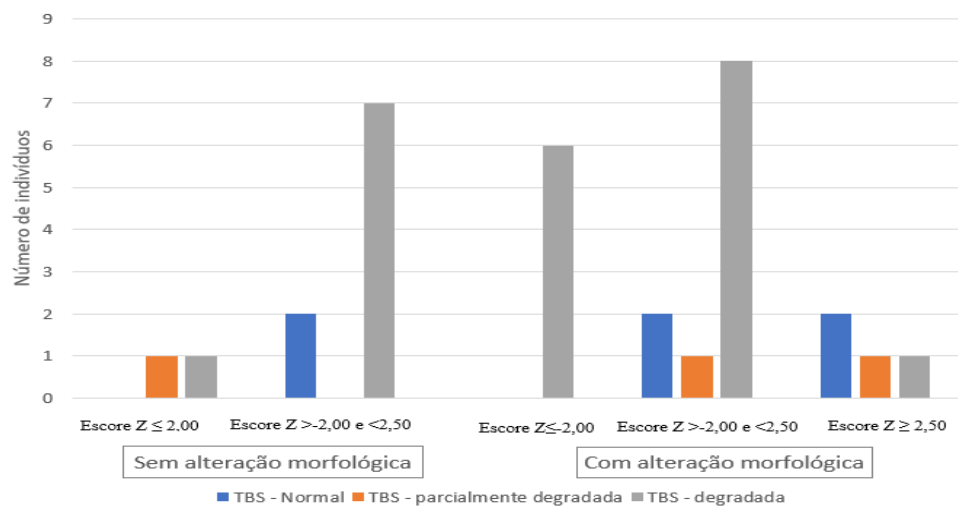


Figura 2 - Análise da microarquitetura óssea em função da presença ou ausência de alterações morfológicas e do Escore- Z nas vértebras de L1 a L4.



## Material Suplementar 1

Quadro 1 - Características ósseas dos participantes outliers

	sexo	Idade	IMC (kg/ cm <sup>2</sup> )	*HU	DMO L1-L4 (g/cm <sup>2</sup> )	Escore-T L1-L4	Escore-Z L1-L4	TBS L1-L4	**AM	***VH
ID_1	M	45	24,01	N	1,926	5,60	5,70	1624	10	10
ID_2	F	55	23,07	N	1,470	2,20	3,00	1416	5	3
ID_3	F	42	35,61	N	1,581	3,10	3,10	1786	6	5
ID_4	F	48	24,12	N	1,493	2,40	2,60	1605	5	3
ID_5	F	48	24,24	S	0,860	-2,70	-2,50	1251	7	0

\*Uso de hidroxiuréia; \*\* Alteração morfológica; \*\*\*Vértebra em H; ID= identificação do indivíduo

ID\_1; ID\_2; ID\_3; ID\_4; ID\_5 excluídos de acordo com o primeiro critério (Genant)

ID\_1; ID\_2; ID\_3; ID\_4 excluídos de acordo com o segundo critério (White)

ID\_1; ID\_3- excluídos de acordo com o terceiro critério (ISCD)

Quadro 2 - Vértebras com alteração morfológica e deformidade em H dos participantes outliers

	Vértebras com alteração morfológica *	Vértebras com deformidade em H*
ID_1	T5, T6 T7, T8, T9, T10, T11, T12, L1, L2, L3, L4	T5, T6, T7, T8, T9, T10T11, T12, L1, L2, L3, L4
ID_2	T10, T11, L1, L3, L4	L1, L3, L4
ID_3	T9, T10, T11, L1, L3, L4	T9, T10, T11, L1, L3
ID_4	T8, T9, L2, L3, L4	L2, L3, L4
ID_5	T7, T9, T10, L2, L3, L4	-

ID=identificação dos indivíduos. \* Identificação de alterações vertebrais a partir da quinta vértebra torácica (T5) até a quarta vértebra lombar (L4).

## CONCLUSÕES

A partir do desenvolvimento do presente trabalho foi possível avaliar parâmetros da saúde óssea em uma população pouco estudada composta de mulheres e homens adultos portadores de homozigose da mutante S do gene da hemoglobina, que caracteriza a anemia falciforme. Os resultados do presente estudo revelam prejuízo da densidade e da microarquitetura óssea entre homens e mulheres com anemia falciforme. No entanto, não sustentam a hipótese de que, em indivíduos com sobrecarga de ferro – frequentemente observada em virtude de transfusões sanguíneas – a massa óssea esteja ainda mais prejudicada. Por outro lado, sugerimos que a concentração elevada de biomarcadores de hemólise associa-se com ossos menos densos e de menor qualidade em termos de microarquitetura.

Os resultados sugerem ainda que a coluna lombar dos indivíduos adultos com anemia falciforme pode não ser um bom sítio de análise para a avaliação da densidade mineral óssea, em virtude das frequentes alterações morfológicas e/ou de microarquitetura nesse sítio ósseo. Sugerem ainda, de forma inédita nos pacientes com anemia falciforme, que a utilização do TBS como ferramenta adicional da avaliação óssea pode contribuir para detectar pequenas alterações que possivelmente precedem a perda de massa óssea ou mesmo alterações morfológicas. O estudo morfológico por VFA da coluna vertebral é um exame elucidativo para análise da estrutura óssea e pode contribuir para uma avaliação mais adequada desses pacientes.

Pesquisas futuras nesta população devem se concentrar na confirmação desses achados em uma amostra maior de pacientes. Estes resultados contribuem para a literatura a respeito do tema e para futuros estudos que busquem avaliar a estrutura óssea desta população.

## REFERÊNCIAS

- ALLARD, H. M. et al. Vertebral Bone Density Measurements by DXA are Influenced by Hepatic Iron Overload in Patients with Hemoglobinopathies. *Journal of Clinical Densitometry*, Oakland, CA., v. 22, n. 3, p. 329-337 Jul.-Set. 2019.
- ALMEIDA, A.; ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, London, v. 129, p. 482-490, 2005. Doi:10.1111/j.1365-2141.005.05476. x
- BALDANZI G, Traina F, Marques Neto JF, Oliveira Santos A, Dario C, Ramos, Olalla Saad S. Low bone mass density is associated with hemolysis in brazilian patients with sickle cell disease. *Clinics*. v.66, n.5, p. 801-805. 2011.
- BARON, R. Anatomy and Ultrastructure of Bone. In: Raven Press (ed.) *Primer on the Metabolic Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 2nd ed, Section 1; 3-9. 1993.
- BATISTA A., ANDRADE C. T. Anemia falciforme: um problema de saúde pública no brasil. In *Universitas Ciências da Saúde*. v. 3, n1, p. 83-99, 2005. doi:10.5102/UCS.V3I1.547
- BEZERRA S J, DE FRANCESCO D E, CASTRO DA ROCHA A F. Osteoarticular involvement in sickle cell disease. *Rev Bras Hematol Hemoter*. V.34 n.2 :156-64, 2012 doi: 10.5581/1516-8484.20120036
- BONNICK, S. L.; Novas aplicações para dxa.: In *Densitometria Óssea na Prática Clínica, Aplicação e Interpretação*. p, 184-221, 2012.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes*. Brasília: ANVISA, p. 142, 2002. Disponível em: <https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/anvisa/diagnostico.pdf>
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Manual de normas técnicas e rotinas operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal*. Brasília (DF), 2004. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem\\_neonatal.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/triagem_neonatal.pdf)
- 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. Disponível em: <https://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Doença Facilforme: orientações básicas no espaço do trabalho*. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRINKER et al. Bone mineral density of the lumbar spine and proximal femur is decreased in children with sickle cell anemia. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*, Houston, v. 27, n. 1, p. 43-9, jan.1998.
- BORDBAR, M.R., HAGHPANAH, S., ZAREI, T. et al. Evaluation of bone mineral density in children with sickle-cell anemia and its associated factors in the south of Iran: a case-control study. *Arch Osteoporos*, v.12, n. 70, 2017. <https://doi.org/10.1007/s11657-017-0364>

- CANSADO R, JESUS J. A doença falciforme no Brasil Sickle cell disease in Brazil. *Rev. bras. hematol. hemoter.* São Paulo, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.
- DE FRANCESCHI L. GABBIANI D, GIUSTI A, FORNI G, STEFANONI F, PINTO MV, SARTORI G., et al. Development of Algorithm for Clinical Management of Sickle Cell Bone Disease: Evidence for a Role of Vertebral Fractures in Patient Follow-up. *J.Clin.Med.* v. 9 n.1601, 2020. doi:10.3390/jcm9051601.
- DE LUNA, G. et al. High bone mineral density in sickle cell disease: Prevalence and characteristics. *Bone.* Paris, v. 110, p. 199-203, maio 2018. doi: 10.1016/j.bone.2018.02.003.
- FRANCO R S, et al. The effect of fetal hemoglobin on the survival characteristics of sickle cells. *Blood*, v.108, n.3, p. 1073-1076,2006.
- FERRAZ M H C, MURAO O M, Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. *Rev Bras Hematol Hemoter.* v. 29, n.3, p.218-222,2007.
- FLORENCIO-SILVA R., et al., Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *Biomed Res Int*, 2015.doi.org/10.1155/2015/421746
- FUNG EB, et al. Markers of bone turnover are associated with growth and development in young subjects with sickle cell anemia. *Pediatric Blood & Cancer.* v.50 n.3 p. 620-623, 2008.
- FUNG, E. B. et al. Fracture Prevalence and Relationship to Endocrinopathy in Iron Overloaded Patients with Sickle Cell Disease and Thalassemia. *Bone*, Oakland, v. 43. n. 1, p. 162–168, jul. 2008. doi: 10.1016/j.Bone.2008.03.003. Epub 2008 Mar 15
- GARADAH, T. S. et al. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. *ClinMed Insights Endocrinol Diabetes*, Manama, v. 7, n. 8, p. 35-40, maio 2015.doi: 10.4137/CMED.S24501.
- GALIZA NETO, C. G.; PITOMBEIRA, S. Aspectos Moleculares da Anemia Falciforme. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Fortaleza, v. 39, n. 1,51-56,2003.
- GENANT, H. K WU C Y, KUIJK C V, NEVITT CM. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bon Miner Res.*, San Francisco, v. 8, n. 9, p. 1137–1148sep.1993.doi:10.1002/jbmr.5650080915
- GIORDANO, P.; URBANO, F.; LASSANDRO, G.; FAIENZA, M.F. Mechanisms of Bone Impairment in Sickle Bone Disease. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, v.18:1832, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041832>
- GUARDA C., et al. Hydroxyurea alters circulating monocyte subsets and dampens its inflammatory potential in sickle cell anemia patients. *Scientific Reports, Nature Research* v 9:14829, 2019. doi.org/10.1038/s41598-019-51339-x
- HEANEY, R. P. Biologia óssea na saúde e na doença. Guia prático. In: Shils, M.; Ross, A. C. *Tratado de Nutrição Moderna na saúde e na doença.* São Paulo. Editora Manole. v.2 p.1417-1429, 2003.
- JENEY V. Clinical Impact and Cellular Mechanisms of Iron Overload-Associated Bone Loss. *Front. Pharmacol.* v. 8, n. 77, 2017.

- KANIS, J.A., Melton L.J., Christiansen C. et al., The diagnosis of osteoporosis. *J. Bone Miner Res* 9:1137-1141, 1994.
- KANIS, J. A. et al. A new approach to the development of assessment guidelines for osteoporosis. *Osteoporos Int.* Sheffield, v. 13, n. 7, p. 527-536, 2002.
- KANIS, J.A., et al., Assessment of fracture risk *Osteoporos Int.*, v.16, n.6, p.581-589, dec 2005.
- KATO, G.J.; TAYLOR, J.G. Pleiotropic effects of intravascular haemolysis on vascular homeostasis. *British journal of haematology*, v. 148, n. 5, p. 690-701, 2010.
- KATO, G. J. et al. Sick cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*, Pittsburgh, v. 4, n. 18010, p. 1–22, 2018. doi: 10.1038/nrdp.2018.10.
- HANS D., et al. Bone Microarchitecture Assessed by TBS Predicts Osteoporotic Fractures Independent of Bone Density: The Manitoba Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, Lausanne, v. 26, n. 11, p. 2762–2769, nov. 2011. doi: 10.1002/jbmr.499.
- KOSARAJU, V. et al. Imaging of musculoskeletal manifestations in sickle cell disease patients. *Br J Radiol.* Cleveland, v. 90, n. 1073, p. 1-9, May 2017. doi: 10.1259/bjr.20160130.
- LAZARETTI, M; SARAIVA G. Marcadores Bioquímicos da Remodelação óssea na prática clínica. *Arq Bras. Endocrinol Metab.*, 46(1):72-78, 2002.
- LOHMAN, T. G. Advances in body composition assessment. Champaign: *Human Kinetics Publishers*, 1992.
- LOURES, M A, Diretrizes da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da osteoporose em homens. *Rev Bras Reumatol.* v. 57, n. 2, p.497-514.
- MCCLOSKEY V E, ODEM A, HARVEY C N, LESLIE D W, HANS D, JOHANSSON H, BARKMANN R., et al. A Meta-Analysis of Trabecular Bone Score in Fracture Risk Prediction and Its Relationship to FRAX. *Journal of Bone and Mineral Research.* v.31, p 940–948, 2016. doi:10.1002/jbmr.2734
- MC CLUNG , M.;BARON, R.;BOUXSEIN, M. An update on osteoporosis pathogenesis, diagnosis and treatment. *Bone*, Portland, v. 98, p. 37, May 2017. doi: 10.1016/j.bone.2017.02.013.
- MACHARIA W.A., et al., The clinical epidemiology of sickle cell anemia in Africa. *Journal Wiley AJ H. Am J Hematol.* V.93 , n.3, p. 363–370, 2018. doi:10.1002/ajh24986
- MANFREDINI, V. et al. Fisiopatologia da anemia falciforme. *Infarma, Ciências Farmacêuticas*, Porto Alegre, v. 19, n. 1/2, 2007.
- MILLER, R. G. et al. High Prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. *American Journal of Hematology*, Baltimore, v. 81, n. 4, p 236-241, 2006. DOI:10.1002/ajh.20541
- MORGAN, et al., Distribution of Z-scores in a university cohort with an emphasis on "high" bone mineral density. *J Clin Densitom.* Oct-Dec., v. 13, n .4, p.385-391, 2010. doi: 10.1016/j.jocd.2010.07.003.

- NAOUM P. C. Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme. *Rev. Bras. Hematol Hemoter*, São José do Rio Preto v. 22, n. 1, p. 5-22, 2000.
- NATIONAL OSTEOPOROSIS FOUNDATION (NOF). Healthy Bones for life, *Clinicians Guide*, 2014.
- NELSON, D. A. et al., Trabecular and Integral Bone Density in Adults with Sickle Cell Disease. *J of Clin Densitom*. Detroit, v. 6, n. 2, p. 125–129, 2003.
- NOURAIIE M, CHENG K, NI U, MOORE-KING E, FADOJUTIMI-AKINSI M F, MINNITI C P. Predictors of osteoclast activity in sickle cell disease patients. *Haematol*. V.96, n. 8, p.1092- 1098, 2011.
- ODIÈVRE, M. et al. Pathophysiological insights in sickle cell disease. *Indian J Med Rev*, Paris, v.134, p. 532-537, Oct.2011.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE – OMS. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Geneva: WHO, 1995. Disponível em: [http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4\\_sup pl\\_2\\_final.pdf](http://www.unu.edu/unupress/food/FNBv27n4_sup pl_2_final.pdf)
- OSUNKWO, I. An update on the recent literature on sickle cell bone disease. *Current Opinion in Endocrinology & Diabetes and Obesity*, Atlanta, v. 20, n. 6, p. 539-546, Dec.2013. doi:10.1097/01.med.0000436192.25846.0b
- PARFITT M, et al. Abnormal bone remodeling in patients with spontaneous painful vertebral fracture. *J Bone Miner Res*, n.26, v. 3, p. 475-485, 2011.
- PIEL, et al. Global Burden of Sickle Cell Anaemia in Children under Five, 2010–2050: Modelling Based on Demographics, Excess Mortality, and Interventions. *PLOS Medicine*, Oxford, v. 10, n.7, Jul.2013.
- PIEL B. F, Martin, H. Steinberg M.D., Rees, C. D., F.R.C.P.C.H.: Sickle Cell Disease, Review Article. *N Engl. J Med*. n. 376, p.1561-73, 2017.
- PLATT, O. Sickle cell anemia as an inflammatory disease. *The Journal of Clinical Investigation*, Boston, v.106, n.3, Oct. 2000.
- PORTER J, GARBOWSKI M. Consequences and management of iron overload in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013.
- POWARS et al., Outcome of Sickle Cell Anemia A 4-Decade Observational Study of 1056 Patients, *Medicine*, Los Angeles, v.84, n.6, p363-376, Nov. 2005.
- RADOMINSKI C S, WANDERLEY B, DE PAULA P A, ALBERGARIA B-H, O MOREIRA C, FERNANDES C. et al. Diretrizes brasileiras para o diagnóstico e tratamento da osteoporose em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Reumatol*.v. 57 (S2): S452–S466. ki), 2017.
- REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. K. Sickle-cell disease. *Lancet*, London, v. 376, n. 9757, p.2018-2031, Dec. 2010.
- RUDY L H, YANG D, NAM D, CHO W. Review of Sickle Cell Disease and Spinal Pathology. *Global Spine J*. 9(7):761-766, 2019.



- SADAT-ALI. M. et al. Low bone mass due to sickle cell anemia: is it becoming a real issue? *West Afr J Med.*, Saudi Arabia, v. 27, n. 4, p. 218-223, 2008.
- SARRAI M, DUROSEAU H, D'AUGUSTINE J, MOKTAN S, BELLEVUE R. Bone mass density in adults with sickle cell disease. *Br J Haematol.*, v. 136, n. 4, p. 666–672, 2007.
- SEIBEL MJ. Biochemical Markers of Bone Turnover Part I: Biochemistry and Variability. *Clin Biochem Rev.* v.26, n. 4, p. 97-122, 2005.
- SILVA, B. C.; BILEZIKIAN, J. P. Trabecular bone score: perspectives of an imaging technology coming of age. *Arq Bras Endocrinol Metab.* New York, v. 58, n. 5, p 493-503, Jul. 2014.
- SOLIMAN, A.T. et al. Decreased bone mineral density in pubertal children with SCD: correlation with growth parameters, degree of siderosis and secretion of growth factors. *J Trop Pediatr.* Alexandria, v.44, n. 4, p. 194–198, Aug. 1998.
- STEINBERG H M, KUMAR S, MURPHY G, VANUYTSEL K. *Expert Rev Precis Med Drug* 4(6):357-367, 2020.
- TERMINE, J. D. Bone Matrix Proteins and the Mineralization Process, In: Raven Press, *Primer on the metabolic diseases and disorders of mineral metabolism*, 2nd ed, Chapter 4: 21-25, 1993.
- THEIN, M. S.; IGBINWEKA, N. E.; THEIN, S. L. e in older adult. *Pathology*, Bethesda, v. 49, n. 1, p. 1-9, jan. 2017.
- SUDA T, TAKAHASHI N., MARTIN J. Modulation of Osteoclast Differentiation. *Endocrine Reviews*, v. 13, n.1, p.66-80, Febr 1992
- VALDERRÁBANO, R. J.; WU, Y. J. Bone and blood interactions in human health and disease. *Bone*, Miami. 119, p. 65-70, feb. 2019.
- WINZENRIETH, R.; MICHELET, F.; HANS, D. Three-dimensional (3d) microarchitecture correlations with 2d projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. *J. Clin. Densitom.* Lausanne, v. 16, n. 3, p.287-296, sep. 2013.
- UNITED NATIONS. NEW YORK, 2014. Demographic Yearbook Annuaire démographique, p. 634 (Annex I). Disponível em: <<https://unstats.un.org/unsd/demographic-social/products/dyb/dybsets/2013.pdf>>.
- VAISHYA, R. et al. Musculoskeletal Manifestations of Sickle Cell disease A Review. *Cureus*, Indraprastha, v. 20, n. 7, v10, p. e 358, Oct. 2015. doi:10.7759/cureus.358.
- VALDERRÁBANO, R. J.; WU, Y. J. Bone and blood interactions in human health and disease. *Bone*, Miami, v.119, p.65-70, feb. 2019.
- VOSKARIDOU, E. et al. Osteoporosis and osteosclerosis in sickle cell/  $\beta\beta$ -thalassemia: the role of the RANKL/osteoprotegerin axis. *Haematologica*, Athens, v. 91, n. 6, p. 813-816, Jun. 2006.

WHYTE P.M. Misinterpretation of Osteodensitometry with High Bone Density BMD  $Z \geq +2.5$  Is Not “Normal.” *J Clin Densitom.*, v. 8, n. 1, p. 1–6, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION(WHO). Sickle cell disease: A Strategy for the WHO African Region. Regional Office for Africa. Sept. 2010.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) AFRICA, Regional Committee for Africa. Sickle Cell Disease: A Strategy for the WHO African. Malabo, Equatorial Guinea, v.60, 2011. Disponível em: <http://www.who.int/iris/handle/10665/1682>.


YAWN, B. et al., Management of Sickle Cell Disease: Recommendations from the 2014 Expert Panel. Minnesota American Family Physician, Minnesota, v.92, n.12, dec.,2015. [www.aafp.org/afp](http://www.aafp.org/afp)

ZAGO MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev Bras Hematol Hemoter* v.29, n.3, p.207-214, 2007.


## **PRINCIPAIS ACHADOS**

Os resultados do presente estudo revelam importantes alterações da densidade e da microarquitetura óssea entre homens e mulheres adultos com anemia falciforme. Mais de 60% dos indivíduos apresentaram baixa densidade mineral óssea e fraturas moderadas e/ou graves em pelo menos uma vértebra. Em 54% dos indivíduos foi possível identificar degradação total ou parcial da microarquitetura óssea. A partir da comparação de subgrupos em função das concentrações de ferritina sérica, os resultados não sustentam a hipótese de pior massa óssea entre os indivíduos com sobrecarga de ferro. Por outro lado, as associações entre os parâmetros ósseos e as concentrações de lactato desidrogenase e bilirrubinas sugerem uma influência da intensidade da hemólise sobre a estrutura óssea desses indivíduos. Os resultados também indicam que o escore de osso trabecular foi sensível para demonstrar alteração da microarquitetura óssea mesmo em indivíduos com densidade mineral óssea normal e sem alteração morfológica vertebral. Por fim, os resultados sugerem que, em virtude das frequentes alterações morfológicas e/ou de microarquitetura, a coluna lombar dos indivíduos adultos com anemia falciforme pode não ser um bom sítio de análise para a avaliação da densidade mineral óssea.

ANEXO A - Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto /Universidade Estadual do Rio de Janeiro(UERJ).

	<p align="center"><b>UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO PEDRO ERNESTO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b></p>	
<p align="right">Rio de Janeiro, 16 de março de 2011</p>		
<p>Do: Comitê de Ética em Pesquisa Prof.: Wille Oigman Para: Coord. Nutricionista Cláudia dos Santos Coppe</p>		
<p>Registro CEP/HUPE: 2819/2010 (este número deverá ser usado nas correspondências referentes ao projeto) CAAE: 0265.0.228.325-10</p>		
<p>O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Pedro Ernesto, após avaliação, considerou o projeto, "ESTUDO DA RELAÇÃO ENTRE ESTADO NUTRICIONAL, TAXA METABÓLICA BASAL E NÍVEIS SÉRICOS DE ANTIOXIDANTES EM ADULTOS COM ANEMIA FALCIFORME ACOMPANHADOS EM DOIS CENTROS DE REFERÊNCIA EM HEMATOLOGIA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO" APROVADO, encontrando-se este dentro dos padrões éticos da pesquisa em seres humanos, conforme Resolução n.º196 sobre pesquisa envolvendo seres humanos de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde, bem como o termo de consentimento livre e esclarecido.</p>		
<p>O pesquisador deverá informar ao Comitê de Ética qualquer acontecimento ocorrido no decorrer da pesquisa.</p>		
<p>O Comitê de Ética solicita a V. Sª., que ao término da pesquisa encaminhe a esta comissão um sumário dos resultados do projeto.</p>		
<p align="right">           Prof. Wille Oigman          Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa   </p>		
<p align="center">         CEP - COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA          AV. VINTE E OITO DE SETEMBRO, 174 TERCEIRO ANDAR - JARDIM SABEL CEP 20551-010          RIO DE JANEIRO - RJ       </p>		

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

 <p><b>GOVERNO DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO</b> <b>SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE</b></p>	<p><b>HEMORIO</b> INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI</p>
<p><b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP HEMORIO</b></p>	
<p>Rio de Janeiro, 16 de fevereiro de 2012.</p>	
<p><b>ASSUNTO:</b> Parecer consubstanciado de projeto de pesquisa avaliado pelo CEP HEMORIO</p>	
<p>Prezada Pesquisadora,</p>	
<p>O projeto, <i>“Estudo da Relação entre Estado Nutricional, Taxa Metabólica Basal e Níveis Séricos de Antioxidantes em Adultos com Anemia Falciforme Acompanhados em Dois Centros de Referência em Hematologia do Estado do Rio de Janeiro”</i>, cadastrado no CEP HEMORIO sob o nº 244/10, foi <b>APROVADO</b> pelo Comitê desta Instituição, conforme a Resolução CNS 196, de 10/outubro de 1996, após análise das respostas às pendências.</p>	
<p>Ressaltamos abaixo, algumas orientações fundamentais, as quais o pesquisador deve estar muito atento:</p>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, <u>sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado</u> e deve receber uma <u>cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado</u>;</li> <li>• 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;</li> <li>• O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. <u>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</u>;</li> <li>• 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.</li> <li>• Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente até <b>15/08/2012</b> e ao término do estudo.</li> </ul>	
<p>Sendo assim, por favor, contate a Coordenação do CEP HEMORIO (Daniele Galindo, Márcia Villa Nova ou Thaís Oliveira) pelo telefone 2332-8611, ramal 2212, a fim de estabelecermos o fluxo de sua pesquisa e tomarmos outras providências pertinentes.</p>	
<p>Atenciosamente,</p>	
<p>Márcia Villa Nova Coordenadora do CEP HEMORIO</p>	
<p><b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA</b> Rua Frei Caneca, 8 – Centro – Rio de Janeiro – CEP 20211-030 Tel.: (21) 2332-8611 R. 2212 – Fax: 2252-2969 – <a href="http://www.hemorio.rj.gov.br">www.hemorio.rj.gov.br</a> – <a href="mailto:cep@hemorio.rj.gov.br">cep@hemorio.rj.gov.br</a></p>	