

**Célia Maria Silva**

**Rastreamento de crianças com Doença Falciforme pelo  
Doppler transcraniano em uma coorte de pacientes triados pelo  
Programa Estadual de Triagem Neonatal do Estado de Minas  
Gerais (PETN - MG) e acompanhadas no Hemocentro  
de Belo Horizonte/MG – Brasil**

**Belo Horizonte  
Faculdade de Medicina da UFMG  
2009**

**Célia Maria Silva**

**Rastreamento de crianças com Doença Falciforme pelo  
Doppler transcraniano em uma coorte de pacientes triados pelo  
Programa Estadual de Triagem Neonatal do Estado de Minas  
Gerais (PETN - MG) e acompanhadas no Hemocentro  
de Belo Horizonte/MG – Brasil**

**Tese apresentada ao Curso de Pós-  
graduação em Ciências da Saúde da  
Faculdade de Medicina da Universidade  
Federal de Minas Gerais, como requisito  
parcial para a obtenção do grau de Doutor.  
Área de concentração: Saúde da Criança e  
do Adolescente**

**Orientador: Dr. Marcos Borato Viana,  
Professor Titular do Departamento de  
Pediatria da Faculdade de Medicina da  
Universidade Federal de Minas Gerais**

**Belo Horizonte**

**Faculdade de Medicina da UFMG**

**2009**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

# FACULDADE DE MEDICINA

## **Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente**

Reitor: Prof. Ronaldo Tadêu Pena

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Heloisa Maria Murgel Starling

Pró-Reitora de Pós-Graduação: Prof<sup>a</sup>. Elizabeth Ribeiro da Silva

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Carlos Alberto Pereira Tavares

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Carlos Faria Santos Amaral

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: João Lúcio dos Santos Jr.

Chefe do Departamento de Pediatria: Prof<sup>a</sup>. Maria Aparecida Martins

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente: Prof. Joel Alves Lamounier

Subcoordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina - Área de Concentração em Pediatria: Prof<sup>a</sup>. Ana Cristina Simões e Silva

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Área de Concentração em Saúde da Criança e do Adolescente:

Prof<sup>a</sup>. Ivani Novato Silva

Prof. Jorge Andrade Pinto

Prof<sup>a</sup>. Lúcia Maria Horta Figueiredo Goulart

Prof<sup>a</sup>. Maria Cândida Ferrarez Bouzada Viana

Prof. Marco Antônio Duarte

Prof<sup>a</sup>. Regina Lunardi Rocha

Gustavo Sena Sousa (Repr. Discente)

**Belo Horizonte**

**DEZEMBRO/2009**

**Sabedoria, árvore da vida**

*Feliz quem achou a sabedoria  
e alcançou o entendimento!*

*Pois adquiri-la vale mais que ter prata  
e seu rendimento supera o ouro fino.*

*É mais preciosa que o coral  
e nada do que se pode desejar a iguala.*

*Longos dias há a sua direita;  
a sua esquerda, riqueza e glória.*

*Seus caminhos são caminhos de deleite  
e todas as suas sendas, prosperidade.*

*Árvore da vida ela é para os que a abraçam  
e são felizes os que a retêm.*

*O Senhor fundou a terra com a sabedoria,  
consolidando os céus com a razão.*

*Por sua ciência é que se abriram os abismos  
e as nuvens destilaram chuva mansa.*

**Provérbios 3:13-20.**

## Homenagens

Toda minha formação profissional teve a Pediatria como eixo norteador. Foi na Pediatria do Hospital das Clínicas que encontrei grandes mestres e gostaria de lhes deixar minha homenagem, em nome de dois deles.

**Professor Francisco José Penna** que me ajudou a aguçar o olhar para identificar o problema e me lançar na pesquisa incansável da solução.

**Professor Roberto de Assis Ferreira** que me reforçou o olhar amplo que contextualiza o problema dentro de um universo. As grandes demandas e suas soluções exigem os dois olhares: aproximar para identificar e distanciar para ampliar as soluções.

Muito obrigada!

## Agradecimentos

Ao Professor Marcos Borato Viana pela condução irreparável em todas as etapas da pesquisa, de forma brilhante e generosa. Seu exemplo e sabedoria são os aliados de todos da área da Hematologia e da Pediatria que exercitam a reflexão e a construção da pesquisa aplicada.

À Direção da Fundação Hemominas – Presidência, Dra. Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti; Diretoria Técnica, Dra. Júnia Guimarães Mourão Cioffi e Assessoria Técnica, Dra. Mitiko Murao: a possibilidade de aliar à missão de prestar assistência o oferecimento de capacitação adequada ao trabalho e o estímulo ao desenvolvimento de um olhar mais amplo na missão assistencial, no Ambulatório do Hemocentro de Belo Horizonte.

Ao Diretor do Nupad/UFMG: professor José Nélio Januário que na parceria com a Secretaria Estadual de Saúde e Fundação Hemominas possibilitou a inscrição de uma nova história ao atendimento integral, mais humanizado e equânime aos indivíduos com Doença Falciforme.

Às pessoas com Doença Falciforme e seus familiares a oportunidade de resgatar com meu trabalho e dedicação parte da dívida que historicamente a sociedade tem com os afro-descendentes, nome para todos os negros, mulatos e beges, maioria dos brasileiros.

Aos estagiários e acadêmicos que participaram da construção do Banco de Dados, pelo empenho e dedicação às atividades delegadas.

Aos colegas da equipe multiprofissional da Fundação Hemominas pelo apoio e trabalho coletivo desenvolvido no Ambulatório do HBH e que torna possível a realização deste estudo.

Aos amigos que além da colaboração na pesquisa também ouviram, opinaram e ampararam nas dificuldades do caminho: Borato, Olinda, Mariângela, Mitiko, Valéria, Felipe, Poliana, Ana Paula, Janaína, Silvana, Lélia e mais uma grande corrente.

Aos meus familiares pela compreensão da ausência, o incentivo ao prosseguir e o apoio incondicional. Obrigada Deborah e Rosane!

## Resumo

As complicações neurológicas na anemia falciforme (AF) são frequentes. Aproximadamente 11% dos pacientes até 20 anos podem ter acidente vascular cerebral (AVC). A realização de Doppler transcraniano (DTC) é importante meio para detecção de risco para AVC isquêmico. O objetivo deste estudo é verificar a incidência de AVC e de DTC alterado em crianças e determinar possíveis fatores de risco. **Materiais e Métodos:** Foi analisada uma coorte de crianças triadas pelo Programa de Triagem Neonatal de MG, com perfil FS, nascidas de 03/1998 a 12/2005 e acompanhadas no Hemominas de BH até maio de 2009. Para realização do DTC foi feito um corte transversal randomizado de 300 crianças. Os exames foram realizados segundo o protocolo STOP, utilizando-se o DTC pulsado, com sonda de 2 MHz. As crianças com velocidade média máxima (VMM) do fluxo sanguíneo cerebral <170 cm/s nas artérias cerebral média, carótida interna distal e cerebral anterior foram classificadas como de risco baixo; se VMM entre 170-184 cm/s, risco intermediário baixo; se VMM de 185-199 cm/s, risco intermediário alto e se  $\geq 200$  cm/s, risco alto. **Resultados:** a média de idade foi 6,5 anos (2-11a); 150 meninas. Foram classificadas como de baixo risco 194 crianças (75,6%); 19 risco intermediário baixo (7,4%); 7 risco intermediário alto (2,7%) e 8 risco alto (3,1%); 11,2% dos exames foram inadequados. Sete crianças com risco elevado, após exames confirmatórios, iniciaram regime de transfusão “crônica” e uma, hidroxúria. Uma, com baixo risco, desenvolveu AVC hemorrágico (angiografia cerebral normal). Treze crianças (4,8%) haviam sofrido AVC isquêmico antes da realização do DTC. A ocorrência de DTC alterado ou AVC clínico foi observada em crianças com menor média de idade ( $p=0,002$ ). A probabilidade acumulada de ter AVC até 10 anos de idade foi de 9,5%; a de AVC+DTC alterado (riscos intermediários + alto) de 38,4%. Não houve diferença entre as crianças com DTC normal e as com DTC alterado+AVC, quando se analisaram a antropometria (comparação de médias de escores Z aos 3 anos de idade), ocorrência de sequestro esplênico agudo ( $p=0,13$ ) e síndrome torácica aguda ( $p=0,16$ ). As médias de hemoglobina foram inferiores nas crianças com DTC alterado+AVC ( $p<0,001$ ); as contagens de leucócitos e de reticulócitos foram superiores nas crianças com DTC alterado+AVC ( $p=0,006$  e  $p<0,001$ , respectivamente). Em análise multivariada a média de reticulócitos foi a única variável significativa ( $p=0,0002$ ). Observou-se aumento progressivo da VMM da artéria basilar nas crianças com VMM aumentada nas ACMS (definir a sigla) ( $R= 0,59$ ;  $p<0,001$ ): 8 das 25 crianças com DTC alterado possuíam VMM basilar >130 cm/s; entre as 186 com baixo risco, apenas 1

possuía VMM basilar  $>130$  cm/s ( $p<0,001$ ). **Conclusões:** a frequência de AVC clínico foi semelhante à da literatura e a de DTC alto risco, inferior. As probabilidades acumuladas de DTC alterado são altas e requerem atenção especial no seguimento de crianças com AF. A contagem elevada de reticulócitos foi o fator mais importante para predizer doença cerebrovascular (DCV). A VMM na artéria basilar  $>130$  cm/s é mais um fator preditivo de DCV.



## Abstract

Neurologic complications in children with sickle cell anemia (SCA) are frequent. Approximately 11% of children and youths up to 20 years of age are at risk of stroke. Transcranial Doppler ultrasonography (TCD) is an important way of detecting risk of ischemic stroke. The aim of this study is to verify the incidence of stroke and altered TCD in children and determine possible risk factors. **Methods:** We analyzed a cohort of children selected by the Newborn Screening Program of MG, with SCA, born between March 1998 and December 2005 and followed at the Hemominas Foundation until May 2009. TCD was carried out in a randomized cross-section of 300 children. The examination followed STOP protocol, and used pulsed TCD with a 2 MHz probe. Children with mean blood flow velocity <170 cm/s for the middle cerebral artery, distal internal carotid and anterior cerebral artery were classified as low risk; if velocity was of 170-184 cm/s, lower intermediate risk; if velocity was of 185-199 cm/s, higher intermediate risk; and if of  $\geq 200$  cm/s, high risk. **Results:** mean age of 6.5 years (2-10y); 150 female. 194 children (75.6%) were classified as low risk; 19 (7.4%) as lower intermediate risk; 7 (2.6%) as higher intermediate risk; and 8 (3.1%) as high risk; 11.2% of the examinations were considered inadequate. Those 7 children of high risk, after being submitted to confirmatory examinations, started a regimen of chronic transfusion and one of them of hydroxyurea. Another, considered low risk, had a hemorrhagic stroke (normal brain angiography). 13 children (4.8%) had suffered from ischemic stroke prior to having the TCD. Alterations in TCD or clinical stroke were observed in children with a lower mean age ( $p=0.002$ ). The accumulated probability of having a stroke before age 10 was of 9.5%; of having stroke+altered TCD (intermediate and high risk) was of 38.4%. There was no difference between children with normal TCD and those with altered TCD+stroke in the anthropometric analysis (comparison between mean Z score at age 3), occurrence of acute splenic sequestration ( $p=0.13$ ) and acute chest syndrome ( $p=0.16$ ). Mean hemoglobin concentration was lower in children with altered TCD+stroke ( $p<0.001$ ); mean white blood cell and reticulocyte counts were higher in children with altered TCD+stroke ( $p=0.006$  and  $p>0.001$ , respectively). Upon multivariate analysis, mean reticulocyte count was the only significant variable ( $p=0.0002$ ). We also observed a progressive increase of velocity in the basilar artery of children with higher velocity in the middle cerebral arteries ( $R=0.59$ );  $p<0.001$ ): 8 out of 25 children with altered TCD had basilar velocity  $>130$

cm/s; out of the 186 low risk children, only one had basilar velocity >130 cm/s ( $p < 0.001$ ). **Conclusions:** frequency of clinical stroke was similar to that seen in the literature and that of high risk TCD, lower. The accumulated probabilities of altered TCD are high and require special attention in the following of children with SCD. High reticulocyte count was the most important factor in predicting cerebrovascular disease. Basilar artery velocity >130 cm/s is another predictive factor for cerebrovascular disease.

## Lista de abreviaturas, siglas e acrônimos

ACA	Artéria cerebral anterior
ACI	Artéria carótida interna
ACM	Artéria cerebral média
ACM/ACA	Artéria cerebral média e artéria cerebral anterior (bifurcação)
ACoA	Artéria comunicante anterior
ACoP	Artéria comunicante posterior
ACP	Artéria cerebral posterior
AIT	Ataque isquêmico transitório
ARM	Angioressonância magnética cerebral
AST	Alanina aminotransferase
AVC	Acidente vascular cerebral
BIF	Bifurcação
CO <sub>2</sub>	Gás carbônico
CSSCD	<i>Cooperative Study of Sickle Cell Disease</i>
dACI	Porção distal da artéria carótida interna
DCV	Doença cerebrovascular
DF	Doença falciforme
DHL	Desidrogenase láctica
DMT	Dose máxima tolerada
DTC	Doppler transcraniano
DTCI	Doppler transcraniano com imagem
EUA	Estados Unidos da América
FS	Perfil eletroforético de HbSS e HbSβ <sup>0</sup> no PETN
FSC	Fluxo sanguíneo cerebral
G6PD	Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase
haz	Escore z de estatura/idade
Hb	Hemoglobina
HbF	Hemoglobina fetal
HBH	Hemocentro de Belo Horizonte
HbSC	Hemoglobinopatia SC
HbSS	Hemoglobinopatia SS (anemia falciforme)
HbSβ <sup>0</sup>	S-Beta talassemia zero

HCM	Hemoglobina corpuscular média
HP	Hipertensão pulmonar
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HU	Hidroxiureia
LDH	<i>Lactic dehydrogenase</i> (desidrogenase láctica)
M1	Segmento distal da artéria cerebral média
MHz	Megahertz
MS	Ministério da Saúde
MSH	<i>Multicenter Study of Hydroxyurea</i>
n	Número de pacientes
NCHS	<i>National Center of Health Statistics</i>
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NO	Óxido nítrico
Nupad	Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da UFMG
O2	Oxigênio
PETN-MG	Programa Estadual de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais
PI	Índice de pulsatilidade
RNM	Ressonância magnética cerebral
SEA	Sequestro esplênico agudo
SNC	Sistema nervoso central
SNP	<i>Single nucleotid polymorphism</i>
STA	Síndrome torácica aguda
STOP	<i>Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Disease</i>
SWITCH	<i>Stroke with transfusion changing to hydroxyurea</i>
TAMMX	<i>Time-average mean of maximum velocity</i>
TC	Tomografia cerebral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMO	Transplante de medula óssea
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VCM	Volume corpuscular médio
VMM	Velocidade média máxima
waz	Escore z de peso/idade
whz	Escore z de peso/estatura

## Índice de figuras e tabela

Figura 1	Subfenótipos da anemia falciforme	07
Figura 2	Pontos de referência para insonação dos segmentos arteriais no Polígono de Willis	18
Figura 3	Características gerais da amostra randomizada para o estudo	51
Tabela 1	Periodicidade para realização do DTC em crianças com AF (HbSS e HbS $\beta$ 0) atendidas no St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA	29

# Índice Geral

HOMENAGENS	v
AGRADECIMENTOS	vi
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
LISTA DE ABREVIATURAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS E TABELA	xiii
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. Programa de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais - pesquisa de Doença Falciforme	3
2.2. Variabilidade clínica da Doença Falciforme – os subfenótipos hemolítico com disfunção endotelial e vasclusão	3
2.2.1. Doença cerebrovascular	7
2.2.2. Infartos silenciosos	11
2.3. Doppler transcraniano	13
2.3.1. Rastreamento das crianças com Doença Falciforme pelo Doppler transcraniano	18
2.3.2. Impacto inicial da prática de rastreamento para identificação de crianças com alto risco para acidente vascular cerebral pelo DTC	24
2.3.3. Obstáculos ao rastreamento universal das crianças com anemia falciforme pelo DTC: como vencê-las?	28
2.4. Cuidados na interpretação dos resultados, limitações e falhas	

nos exames de Doppler transcraniano	31
2.5. Evidências científicas para tomada de decisão no tratamento de intensificação, em casos indicativos de evolução desfavorável	38
2.5.1. Qual o melhor tratamento para as crianças com alto risco para AVC? Que evidências científicas o suportam?	41
2.5.2. Tomada de decisão clínica: evidências científicas e coparticipação de pacientes e responsáveis	47
3. OJETIVOS E METODOLOGIA	48
3.1. Objetivo geral	48
3.2. Objetivos específicos	48
4. METODOLOGIA	49
4.1. Delineamento do estudo	49
4.2. Casuística	49
4.3. Métodos	51
4.3.1. Variáveis clínicas	51
4.3.2. Variáveis laboratoriais	52
4.3.3. Metodologia Doppler transcraniano	54
4.3.4. Métodos estatísticos	56
5. ARTIGO PARA SUBMISSÃO A PERIÓDICO	58
6. PERSPECTIVAS FUTURAS	87
7. REFERÊNCIAS GERAIS	90
8. ANEXOS	103





## 1. Introdução e Justificativa

A Anemia Falciforme é uma doença genética com alta prevalência na população brasileira. A introdução do gene beta S se deu principalmente com a entrada de escravos, durante o regime escravocrata. Até a metade do século XIX, o Brasil recebeu entre 2 e 4,5 milhões de negros oriundos da África (Zago e Costa, 1993). No estado de Minas Gerais, segundo dados do Programa Estadual de Triagem Neonatal, a incidência de Anemia Falciforme (HbSS) é de 1:2.528 entre os recém-nascidos triados desde março de 1998 (Januário, 2001).

A hemoglobina S é a alteração estrutural da hemoglobina mais frequente no mundo todo e resulta de uma mutação pontual na cadeia beta da globina, codificada no cromossoma 11. Anemia falciforme (gene S em homozigose grafada como HbSS) é a hemoglobinopatia mais frequente e com cortejo sintomatológico mais exuberante e grave. A desoxigenação da hemoglobina S leva a sua polimerização com formação de cristais e filamentos que distorcem a membrana eritrocitária. Este fenômeno provoca alterações físico-químicas na membrana. Com isso a hemácia toma a forma de foice e outras formas bizarras. Quando reoxigenada pode reassumir a forma normal. Entretanto, essa mudança de forma pode tornar-se irreversível com a repetição do processo, levando à redução da sobrevivência das hemácias e, conseqüentemente, anemia. Por outro lado, a hemácia com forma e propriedades alteradas pode levar a vaso-oclusão em qualquer ponto do organismo. A anemia e vaso-oclusão são os principais mecanismos responsáveis pelas manifestações clínicas da doença falciforme: crises algícas,

atrofia progressiva do baço e diminuição da resposta imunológica às bactérias encapsuladas, déficit no crescimento, alterações cardiovasculares, entre outras (Serjeant, 1992).

O acidente vascular cerebral (AVC) é uma das mais sérias complicações e ocorre em aproximadamente 11% dos pacientes com doença falciforme até os 20 anos de idade (Ohene-Frempong et al., 1998).

O controle das infecções por meio das imunizações e uso profilático de antibióticos nos primeiros anos de vida e a maior vigilância aos eventos agudos, como o sequestro esplênico, levaram à redução da morbimortalidade provocada pela doença falciforme (Quinn et al., 2004). Entretanto, grande contingente dessas crianças sofre restrições ao pleno desenvolvimento cognitivo e habilidades funcionais pela ocorrência dos infartos silenciosos e AVC (Quinn et al., 2008). Estudos têm sido conduzidos para detecção dos fatores de risco para a doença cerebrovascular (DCV). Entretanto, a detecção de velocidade elevada do fluxo sanguíneo cerebral em segmentos arteriais da circulação anterior do polígono de Willis pelo Doppler transcraniano (DTC) tem se confirmado como o maior fator de risco para o desenvolvimento de AVC isquêmico (Ohene-Frempong et al., 1998; Adams et al., 1992; Wang, 2007).

Este trabalho estudou a importância do rastreamento das crianças com doença falciforme (HbSS e HbS $\beta^0$ ) pelo doppler transcraniano (DTC), fazendo a identificação das crianças com risco elevado para o evento. Foram estudadas as crianças triadas pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais (PETN-MG) e acompanhadas no Hemocentro de Belo Horizonte (HBH), no período de março de 1998 a maio de 2009. Foram estimadas as

taxas de AVC clinicamente expresso e levantadas variáveis clínicas e hematológicas, possíveis fatores para o desenvolvimento da doença cerebrovascular.

## **2. Revisão da literatura**

### **2. 1. Programa Estadual de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais – pesquisa de doença falciforme**

Em março de 1998, foi incluído no PETN-MG o rastreamento para doença falciforme, iniciativa da Secretaria de Estado da Saúde de MG, tendo o NUPAD-FM-UFMG, como centro de referência. A triagem dessa doença foi associada à detecção do hipotireoidismo congênito e a fenilcetonúria, já executadas anteriormente, desde 1993.

O PETN-MG realiza a triagem neonatal em todos os 853 municípios que compõem o Estado de Minas Gerais e é oferecida gratuitamente, com recursos do SUS, a todo recém-nascido. O diagnóstico da doença falciforme é realizado em amostra de sangue colhido em papel filtro, pela técnica de HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) e, nos casos positivos, pela eletroforese com focalização isoelétrica (Fernandes, 2007 e Paixão et al., 2001).

### **2. 2. Variabilidade clínica da doença falciforme - os subfenótipos hemolítico com disfunção endotelial e vaso-oclusão**

A doença falciforme apresenta ampla variabilidade de manifestações clínicas. Estão implicados fatores genéticos, como co-herança do gene  $\alpha$ -

talassemia, haplótipos do gene de beta-globina e níveis de hemoglobina fetal, bem como fatores individuais, condições sócio-econômicas e localização geográfica (Serjeant, 1992).

Polimorfismos genéticos, variações na sequência genômica do DNA humano, podem modificar os fenótipos de uma doença. Esses polimorfismos (geralmente SNPs: *single-nucleotide polymorphisms*) podem ser detectados por técnicas de genotipagem. Com essa tecnologia poderão ser identificados vários modificadores genéticos em coerância com a doença falciforme capazes de explicar os diversos desfechos da doença. Vários estudos estão em andamento para verificar o papel dos mais diversos polimorfismos presentes em fenótipos com doença cerebrovascular e outras complicações (Sarnak, 2005, Adams GT, 2003).

Estudos recentes têm dado conta de que a disfunção endotelial é tão ou mais importante na fisiopatologia da anemia falciforme, ou em pelo menos em alguns subfenótipos, do que a polimerização da hemoglobina eritrocitária. Essa disfunção endotelial produzida pela hemólise acentuada, déficit de arginina e reduzida biodisponibilidade do ácido nítrico responderiam pela vasculopatia presente nos subfenótipos em que predominam as manifestações de hipertensão pulmonar, priapismo, úlceras de perna e, possivelmente, o acidente vascular encefálico isquêmico. O óxido nítrico (NO) apresenta várias propriedades na regulação homeostática: reduz a adesividade plaquetária e expressão dos receptores de adesão do endotélio vascular, o que diminui a proliferação do músculo liso e da parede endotelial e limita as lesões de

isquemia-perfusão, modulando a proliferação endotelial e regulando a inflamação (Morris, 2008).

O índice de hemólise varia amplamente entre os vários genótipos da doença falciforme, sendo maior na forma homozigótica (HbSS). Ainda assim, há grande variação da hemólise nos indivíduos com anemia falciforme: a sobrevivência das hemácias pode variar entre 2 e 21 dias. A presença da deleção de gene para  $\alpha$ -talassemia, presente em 30% dos indivíduos com HbSS, reduz o índice hemolítico e aumenta a concentração de hemoglobina.

A hemólise acentuada libera hemoglobina no plasma, o que leva ao consumo aumentado de óxido nítrico. A hemoglobina, o complexo heme e o ferro catalizam a produção de radicais de oxigênio limitando a biodisponibilidade do NO, ativando o endotélio. Além disso, a hemólise libera a enzima arginase, o que resulta em diminuição da arginina, substrato essencial para a formação do óxido nítrico.

O balanço normal homeostático é desviado para a vasoconstrição, com ativação e proliferação endotelial. Tanto o índice hemolítico quanto a asplenia (funcional ou cirúrgica) estão associados à lesão da membrana eritrocitária e ativação do fator tissular e trombose.

Outro grupo de subfenótipo representado pelas crises algúlicas vasclusivas, síndrome torácica aguda e osteonecrose, teria preponderância da vasclusão e aumento da viscosidade determinados pela hemácia falciforme. A hemólise desencadeia propriedades adesivas entre as células circulantes e a parede vascular. Os reticulócitos falciformes expõem receptores

e ligandinas responsáveis pela aderência ao endotélio e leucócitos. Essa maior adesividade de populações de reticulócitos faria a ligação entre a hemólise e a vasocclusão. Esta maior adesividade de populações de hemácias jovens também varia entre os genótipos da doença falciforme, sendo maior na forma homozigótica (HbSS) e com variação entre indivíduos com a HbSS.

A presença de hemoglobina fetal elevada reduz as manifestações clínicas de crises de dor, osteonecrose e de síndrome torácica aguda (STA), porém não no subfenótipo constituído pela hipertensão pulmonar (HP), priapismo, úlcera de perna e AVC. Por outro lado a presença da  $\alpha$ -talassemia, protege os subfenótipos hemolíticos como HP, AVC e priapismo e aumenta a viscosidade com aumento de crises algícas e osteonecrose (Kato et al., 2008).

As crianças com anemia falciforme apresentam déficit no crescimento que pode ser detectado após o primeiro semestre de vida. Torna-se mais acentuado por volta dos sete a oito anos e persiste até os 18 anos de idade. Déficits mais acentuados estão relacionados à doença mais grave com níveis de hemoglobina mais baixo e contagem reticulocitária mais elevada. (Platt et al., 1984, Silva e Viana, 2002). Em 2000, Thomas et al. publicaram os resultados do seguimento de 315 crianças acompanhadas longitudinalmente na Jamaica (desde o nascimento até os 22 anos) e mostraram curvas de crescimento com índices antropométricos nas crianças com anemia falciforme inferiores aos padrões de referência.

A Figura 1 resume o espectro de complicações na Doença Falciforme, ilustrando os subfenótipos clínicos, segundo Morris (2008).

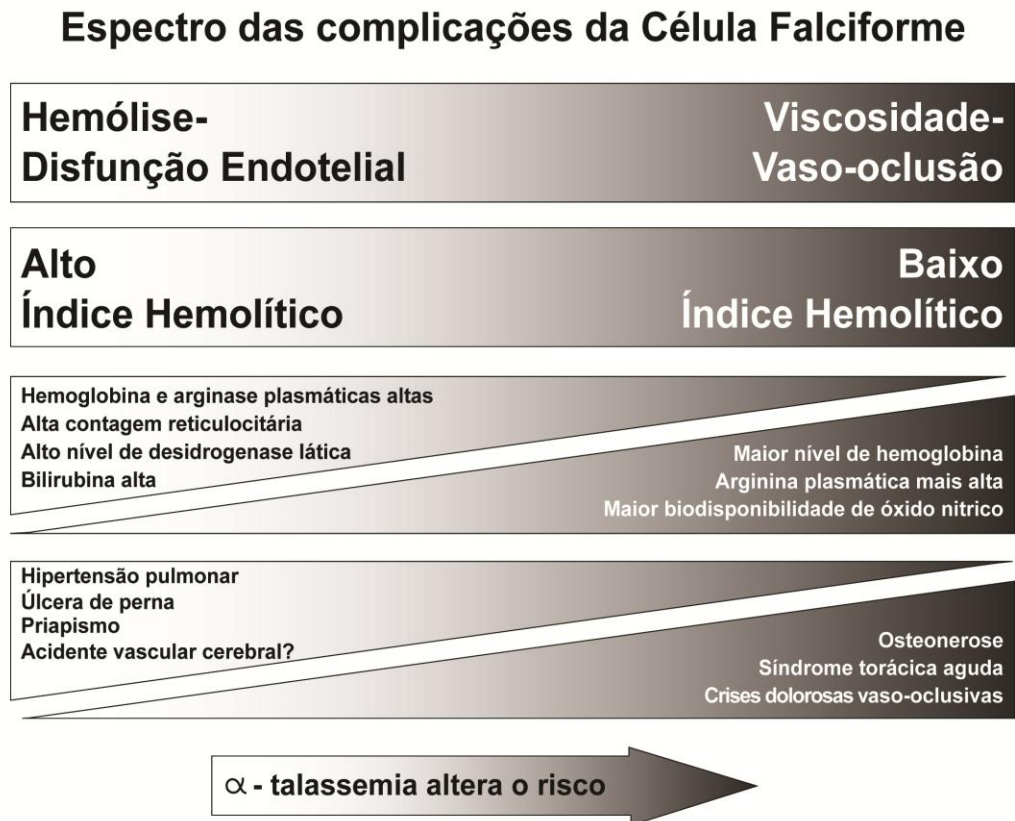


Figura 1. Subfenótipos da anemia falciforme, segundo Morris, 2008.

### 2.2.1. Doença cerebrovascular

O acidente vascular cerebral isquêmico ocorre em aproximadamente 11% dos indivíduos com anemia falciforme até os 20 anos de idade. O risco é mais elevado na primeira década de vida, com incidência de 1% a 2%/ano entre os dois e cinco anos de idade. Há queda da incidência na segunda década com novo aumento após os 29 anos de idade. A incidência do AVC

hemorrágico é menor nas crianças com anemia falciforme, embora seja responsável por aproximadamente 3% dos casos nesta faixa etária. Os eventos hemorrágicos ocorrem principalmente na terceira década de vida. O índice de mortalidade por AVC hemorrágico nos primeiros dias após o evento é cerca de 25%, mas o óbito é raro após AVC isquêmico. Sem tratamento, o AVC isquêmico apresenta recorrência em 2/3 dos casos, dentro dos primeiros dois ou três anos após o evento inicial (Switzer et al., 2006).

Powars et al. (1978) descreveram a história natural do AVC em crianças com anemia falciforme e relataram 67% de recorrência do evento, sendo que em 80% ocorreu nos três primeiros anos após o evento primário.

Em 2003, Nanci et al publicaram os resultados de uma série de 306 autopsias de pacientes com anemia falciforme para determinação da causa de morte; sinais de acidente vascular encefálico foram encontrados em 9,8% das necropsias.

Ohene-Frempong et al., 1998, analisaram uma coorte de 4.082 pacientes com diagnóstico de doença falciforme (2.675 HbSS), do Estudo Cooperativo para Doença Falciforme (CSSCD) nos Estados Unidos. Os fatores de risco associados ao AVC isquêmico (em análise multivariada) foram: ataque isquêmico transitório (AIT) prévio, concentração de hemoglobina baixa, síndrome torácica aguda nas duas semanas anteriores ao AVC, número de STAs na história do paciente e aumento da pressão arterial sistólica. O AIT foi o fator que mostrou associação estatística mais significativa. Para o AVC hemorrágico, os fatores de risco encontrados em análise multivariada foram: concentração de hemoglobina baixa e elevada contagem de leucócitos. Em



análise univariada para o AVC isquêmico, ainda foram relatados como fatores de risco: história de meningite prévia de qualquer origem e hipoxemia noturna com saturação de oxigênio menor do que 96%. Os genótipos HbSC e HbS $\beta$ -talassemia apresentaram número de eventos neurológicos significativamente inferior ao apresentado pelo genótipo SS.

A base fisiopatológica para o acidente vascular cerebral isquêmico ainda não está totalmente elucidada, provavelmente estando implicados fatores múltiplos. A vasculopatia com estenose dos grandes vasos cerebrais, do Polígono de Willis, mormente da parte distal da artéria carótida interna (ACI) e das regiões proximais das artérias cerebrais médias (ACM) e anteriores (ACA), é responsável pela maioria dos eventos agudos. A distribuição das lesões observadas em exames de imagens e em estudos anatomopatológicos confirma o papel da vasculopatia dos grandes vasos; em poucos casos os eventos são devidos ao acometimento de pequenos ramos corticais. A predominância das lesões funcionais corresponde aos territórios irrigados pela artéria cerebral média e cerebral anterior e o território limítrofe entre elas, sendo poupado o território da circulação posterior (Switzer et al., 2006).

A associação da vasculopatia envolvida no AVC com fatores “de risco” não está bem estabelecida. Baixo nível de concentração de hemoglobina é fator de risco para desenvolvimento do evento e a presença da co-herança da  $\alpha$ -talassemia tem efeito protetor, pois aumenta a concentração da hemoglobina.

O seguimento de pacientes submetidos à transfusão regular crônica para prevenção primária do AVC no estudo STOP (Adams et al., 1998) mostrou

redução significativa dos níveis de hemoglobina livre em comparação com controles não-submetidos à transfusão ou que receberam transfusão esporadicamente. Além disso, outros marcadores de hemólise como níveis de desidrogenase láctica (LDH) e alanina aminotransferase (AST) tiveram seus níveis reduzidos. A diminuição dos níveis plasmáticos da hemoglobina livre reduziria os efeitos tóxicos dos produtos da degradação da hemoglobina e a disfunção endotelial com aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico. Isso ajudaria a explicar o papel das transfusões na prevenção do AVC (Lezcano et al., 2006).

Em estudo realizado por Kirkham et al., (2001) levantou-se a hipótese de que a hipoxemia noturna poderia predizer o risco de evento no SNC melhor do que eventos clínicos, parâmetros laboratoriais ou medidas das velocidades nas ACM e ACI pelo teste DTC. Acompanharam 95 pacientes com doença falciforme (recrutados em hospitais), sem AVC prévio, e realizaram oximetria de pulso noturna e DTC. Baixa saturimetria de O<sub>2</sub> foi significativamente associada aos eventos. Nível mais elevado de hemoglobina associado à baixa saturimetria e ao aumento da velocidade do FSC, também foi associado a maior risco de eventos. Sinais de apneia noturna não predisseram AVC e adenoidectomia pareceu não exercer nenhum efeito protetor.

Hsu et al. (2003) analisaram os pacientes do estudo STOP (Adams et al, 1998) e verificaram que a presença de deleção de um ou dois genes  $\alpha$ -talassemia (microdeleção de 3.7 kb  $-\alpha/\alpha$  e  $\alpha/-\alpha$ ) estava associada com teste DTC normal ( $<170$  cm/s), quando comparados aos pacientes que exibiram valores anormais ( $\geq 200$  cm/s ao teste DTC). A chance quatro vezes maior da

ocorrência de teste DTC normal nesses pacientes mostrou o papel protetor da deleção do gene  $\alpha$ -talassemia na vasculopatia e AVC. Exemplo de um gene como fator epistático na doença cerebrovascular da doença falciforme.

Bernaudin et al. (2007) mostraram que presença de deficiência de G6PD, ausência de traço  $\alpha$ -talassemia, níveis baixos de hemoglobina e elevados de desidrogenase láctica foram fatores de risco independentes para velocidades do FSC anormalmente altos nos testes DTC.

### **2.2.2. Infartos cerebrais silenciosos**

Lesões cerebrais de infarto ou isquemia, sem história de AVC clínico, são comuns em crianças com anemia falciforme. Ocorreram em 17% dos pacientes com anemia falciforme e em 3% de crianças com HbSC, em estudo com 312 pacientes do CSSCD. Neste estudo, foram analisadas imagens de ressonância magnética cerebral. As taxas de prevalência dessas lesões silenciosas não aumentaram significativamente após os seis anos de idade, mas o aumento do número delas com a idade indicariam lesão cerebral progressiva (Moser et al., 1996).

Esses infartos silenciosos estão associados com baixo desempenho em testes psicométricos, com redução de habilidades nas áreas de linguagem, matemática, visual e motora. Outra análise, em estudo conduzido por Kinney et al., com grupo pacientes do CSSCD, procurou estabelecer associação entre variáveis clínicas e laboratoriais e os infartos silenciosos. Quanto às variáveis clínicas, somente o índice de crises dolorosas e história de convulsão tiveram associação significativa com os infartos silenciosos. O número de crises álgicas

foi inversamente relacionado com o número de infartos e não houve associação com a síndrome mão-pé, evento doloroso comum no lactente. As convulsões foram associadas com os infartos, porém sem implicar em relação causa-efeito. Não houve associação com peso, altura ou velocidade de crescimento e nem com níveis de pressão arterial sistólica ou diastólica. Houve associação significativa entre infartos silenciosos e o nível de hemoglobina, com maior taxa de infartos para os níveis mais baixos. Foram observadas menores taxas de infartos para leucometria mais baixa. Não houve associação com o nível de hemoglobina fetal (HbF), nem com porcentagem de reticulócitos, nem com níveis de bilirrubina, aspartato aminotransferase séricos ou com o número de plaquetas. Não houve diferença nas taxas de infartos na presença ou ausência de deleção de genes  $\alpha$ -talassemia, mas a presença do haplótipo Senegal foi associada com maior ocorrência de infartos silenciosos. Na análise multivariada todas as variáveis que foram significativas na análise univariada se mantiveram como tal, exceto o nível de hemoglobina.

Miller et al. (2001) analisaram uma coorte de 248 crianças provenientes do CSSCD e observaram maior ocorrência de AVC clínico naquelas que exibiam infartos silenciosos em estudos de ressonância magnética cerebral. Ocorreram cinco AVC isquêmicos no grupo de 62 crianças com infartos silenciosos e um (0,5%) nas 186 crianças com ressonância magnética normal, risco 14 vezes maior, portanto, de ocorrência do evento nas crianças com infartos silenciosos.

### 2.3. Doppler transcraniano

O princípio Doppler foi primeiramente descrito por Christian Johann Doppler, em 1843. Seu uso na Neurologia foi introduzido em 1982 e desde então a técnica vem sendo aprimorada e ampliando-se como instrumento de avaliação da circulação intracraniana em várias doenças cerebrovasculares. Dá-se o nome de insonação ao exame dos vasos intracranianos pelo DTC (Kassab et al., 2007).

O método Doppler transcraniano mede a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral nos segmentos arteriais insonados, determinando a velocidade média máxima ou VMM (do inglês TAMMV “*time-average mean of maximum velocity*”) no vaso, dentro do ciclo cardíaco abrangendo sístole e diástole.

Por muito tempo pensou-se que o crânio era impenetrável ao ultrassom, tornando impossível o estudo da circulação intracraniana por esse método. Entretanto, em 1982, Aaslid et al. descreveram o método não-invasivo para se obter a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral, usando ultrassom Doppler pulsado com sonda de 2 MHz, através das janelas cranianas naturais. Esta técnica tornou-se conhecida como Sonografia Doppler Transcraniano ou Doppler transcraniano (DTC).

O DTC utiliza áreas específicas da calota craniana que apresentam menor espessura ou forames naturais para ter acesso à circulação arterial intracraniana. São três as regiões convencionais do crânio através das quais penetra a onda ultrassonográfica. Essas regiões são denominadas **janelas acústicas**.

As três janelas acústicas são: janela acústica temporal, descrita por Aaslid em 1982, janela acústica transorbital, descrita por Spencer e Whisler em 1983, e a janela transforaminal, descrita em 1986, por Arnolds e von Reutern.

A janela transtemporal está localizada no osso temporal, logo acima do arco zigomático. Corresponde à camada escamosa, mais fina do osso temporal. Pode resultar em atenuação da imagem se a espessura óssea for maior. A intensidade acústica do ultrassom conduzido no tecido cerebral é 35% menor do que a intensidade acústica original. Apesar das várias modificações realizadas na instrumentação, cerca de 10%-15% de todos os pacientes apresentam janela temporal inacessível. A janela transtemporal está subdividida em três janelas: posterior, média e anterior.

No processo de procura pelo melhor local para penetração do ultrassom, a exploração dessas três regiões deve ser realizada. Na maioria dos pacientes, a janela posterior é a mais acessível. Está localizada acima do arco zigomático em frente ao meato auditivo externo, com consideráveis variações na localização precisa em que o transdutor deve ser posicionado. Identificada a melhor janela acústica, a relocação da posição sobre o osso temporal pode ser necessária durante o exame, especialmente durante as fases iniciais do processo de aprendizagem.

Os vasos acessados através da janela transtemporal são a porção distal da artéria carótida interna, artéria cerebral anterior, artéria cerebral média, artéria cerebral posterior (ACP), artéria comunicante anterior (ACoA) e artéria comunicante posterior (ACoP).

A porção distal da artéria carótida interna é o segmento supraclinóideo da ACI, próxima da bifurcação (BIF) em ACM e ACA. Angiograficamente, em projeção frontal, a dACI situa-se superior e lateralmente, podendo variar consideravelmente sua posição em cada indivíduo. O diâmetro médio da dACI é de 3,6 mm a 4,6 mm. Todas as ramificações maiores da ACI nascem da sua porção supraclinóidea. A artéria comunicante posterior (AcoP) emerge da porção dorsal supraclinóidea do ACI e segue posterior e medialmente. Tem aproximadamente 1,5 cm de comprimento e comunica-se com a artéria cerebral posterior. É dificilmente acessada pela sonda do DTC, a menos que esteja funcionando como fonte de fluxo colateral.

A ACM é continuação e principal ramo da artéria carótida interna. Cursa em um plano horizontal, lateral e ligeiramente anterior. Da porção inicial da ACM emergem numerosos ramos perfurantes lentículo-estriados. Estes importantes pequenos ramos não podem ser acessados pelo DTC.

A ACA origina-se da terminação da artéria carótida interna e segue medialmente e ligeiramente anterior em direção à linha média do cérebro. Tem um segmento horizontal, referido como segmento A-1, ou segmento pré-comunicante, e um segmento vertical, referido como segmento A-2, ou pós-comunicante. Os segmentos A-1 em cada hemisfério são conectados pela artéria comunicante anterior (AcoA).

As artérias cerebrais posteriores são ramos terminais da artéria basilar. A porção da ACP que emerge da basilar até o ponto de comunicação com a AcoP é referido como segmento P-1, ou segmento pré-comunicante. O segmento P-1 cursa anterior e lateralmente e tem extensão de

aproximadamente 6,3 mm. O segmento P-2, ou segmento pós-comunicante, tem curso posterior e superior, com diâmetro médio de 1,96 mm.

Vários autores têm mostrado, em estudos anatômicos, que o Polígono de Willis apresenta ampla variação anatômica, e que a configuração “normal” do polígono de Willis ocorre em apenas 18%-54% dos indivíduos. O conhecimento das variações anatômicas mais frequentes facilita a identificação dos vasos pelo DTC.

A ACA apresenta frequentes variações sendo a maioria representada pela hipoplasia ou atresia do segmento A-1 (25% dos casos); o segmento contralateral pode, nesses casos, suprir os segmentos A-2 e pós-comunicantes.

A ACP geralmente se origina da artéria basilar. Em 18%-27% dos casos depende do fluxo da ACI ou está em combinação com o fluxo da AB (origem fetal da ACP). Neste caso é difícil de ser identificada pelo DTC.

A artéria temporal anterior, um ramo do segmento M-1 da ACM, pode ser relativamente ampla e quando cursa medialmente pode ser confundida com a bifurcação (ACM/ACA) pelo DTC. Esta “falsa” bifurcação pode ser evitada, insonando-se a verdadeira BIF que é mais profunda, aproximadamente aos 50 mm de profundidade.

A janela transorbital permite a transmissão da onda de ultrassom através da fina superfície orbital do osso frontal, canal ótico, e/ou fissura orbital superior, para acessar a artéria carótida interna e artéria oftálmica. A porção intracraniana da artéria carótida é frequentemente referida como sifão



carotídico, que apresenta três regiões: paracelar, joelho e segmento supraclinóideo. A artéria oftálmica origina-se do segmento supraclinóideo, caminha em direção ao canal ótico e entra na órbita.

A janela transforaminal permite o acesso às porções intracranianas das artérias vertebrais e artérias basilares através do forame natural, aberto entre o crânio e o atlas. A artéria vertebral passa sobre o processo transversal do atlas, corre posteriormente e medialmente em torno da junção atlanto-occipital, penetra a dura-mater e entra na cavidade intracraniana pelo forame magno. A artéria vertebral continua em direção anterior e medial, eventualmente convergindo com a artéria vertebral contralateral para formar a artéria basilar. A artéria basilar nasce da confluência das artérias vertebrais e prossegue anterior e superiormente para a bifurcação em artérias cerebrais posteriores (Fujioka e Doluville, 1992).

A velocidade do FSC varia de acordo com a idade e com os níveis de hemoglobina. A criança, ao nascer, exibe VMM de 24 cm/segundo na ACM e sobe para 42 cm/segundo durante os três primeiros meses de vida. Aumenta progressivamente de  $72 \pm 14$  cm/s dos 3-12 meses para  $85 \pm 10$  cm/s entre 1-3 anos. A VMM é mais alta entre 4-6 anos de idade, com pico de aproximadamente 100 cm/segundo. Depois disso cai para 80 cm/s aos 10-18 anos (Bode e Eden, 1989).

A figura 2 mostra os pontos de referência para insonação dos segmentos arteriais no Polígono de Willis, segundo estudo STOP.

## Pontos de referência para o teste DTC segundo estudo STOP

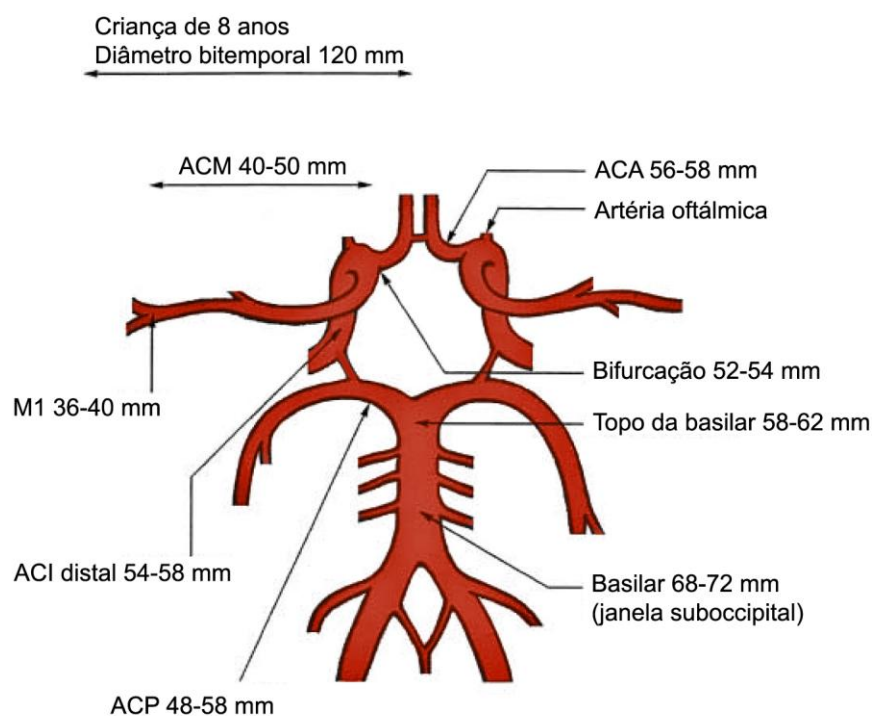


Figura 2: Pontos de referência para insonação dos segmentos arteriais no Polígono de Willis

### 2.3.1. Rastreamento das crianças com Anemia Falciforme pelo Doppler transcraniano

Em 1990, Adams e colaboradores estabeleceram os primeiros critérios para detecção de estenose nas grandes artérias cerebrais de crianças com anemia falciforme, através do Doppler transcraniano. Compararam os resultados do Doppler transcraniano com a angiografia, ressonância magnética e tomografia computadorizada. Os segmentos arteriais com estenose comprovada exibiram velocidade média que variou de 190 cm/segundo a 250 cm/segundo.

O método Doppler transcraniano apresenta boa segurança e é bem tolerado pelas crianças. Tem custo reduzido e devido a sua portabilidade pode ser realizado em ambulatório, clínicas ou em trabalho de campo. Apresenta sensibilidade e especificidade próximas da angiografia cerebral que, embora considerada o teste padrão-ouro, apresenta riscos de complicações e exige preparo hematológico do paciente. Quando comparados os resultados obtidos pelo Doppler com angiografia cerebral em crianças com doença falciforme, encontrou-se concordância em 26 de 29 pacientes com estenose detectada pela angiografia, num total de 33 pacientes. Obteve-se, assim, sensibilidade de 90% e especificidade de 100% (Adams et al., 1992).

Em 1992, esse grupo de pesquisadores estudou 190 crianças com anemia falciforme com idade entre três anos e 18 anos. Depois de 29 meses de seguimento, 23 pacientes apresentavam Doppler transcraniano com alta velocidade média nos grandes vasos cerebrais (170 até 280 cm/segundo), enquanto 167 apresentavam resultados normais. No período, foram diagnosticados sete episódios de AVC, sendo que apenas um ocorreu nos pacientes com Doppler normal (Adams et al., 1992).

Mesmo antes da publicação dos resultados finais do clássico estudo STOP de Adams e colaboradores, em junho de 1997, o NIH (*National Institute of Health*) divulgou um alerta clínico recomendando o uso do Doppler transcraniano como teste de rastreamento para as crianças com anemia falciforme (HbSS) e que o tratamento preventivo primário com transfusões regulares deveria ser oferecido às crianças de risco.

O estudo STOP (*Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Disease*), estudo clínico controlado, randomizado e multicêntrico, foi parcialmente financiado pelo NHLBI (*National Heart, Lung, and Blood Institute*). Tinha como objetivo principal verificar a eficácia da prevenção primária do AVC em crianças com doença falciforme, por meio de transfusão crônica. Foi realizado no período de 1995 a 1998, com a participação de 14 instituições dos Estados Unidos e Canadá. Foram rastreados pelo DTC 1.934 crianças com Doença Falciforme (HbSS e HbSβ<sup>0</sup>) de dois anos a 16 anos de idade, sem história de AVC prévio. As 130 crianças que apresentaram fluxo sanguíneo com velocidade média máxima (VMM) igual ou maior do que 200 cm/segundo (em dois exames) nas artérias cerebrais foram aleatorizadas para um de dois braços. Um deles recebeu tratamento transfusional e outro ficou em observação (“tratamento” conservador). Em 1998, Adams e colaboradores publicaram os resultados do estudo STOP com a conclusão de que a detecção de velocidade média igual ou superior a 200 cm/segundo, nas artérias carótida interna ou cerebral média, por meio do Doppler transcraniano, associava-se a elevado risco para desenvolvimento de infarto cerebral isquêmico sintomático. No grupo que recebeu transfusão, apenas um paciente evoluiu com AVC, enquanto que no grupo com tratamento padrão (conservador) 11 evoluíram para AVC, diferença estatisticamente significativa. O estudo foi interrompido diante dessa evidência, sendo então oferecido o tratamento com regime crônico de transfusão sanguínea para todas as crianças de risco elevado. A taxa de AVC foi de 10%/ano, para as crianças com VMM ≥200 cm/s na ACM ou ACI distal. O tratamento com transfusão crônica levou a uma redução de 90% nas taxas de

AVC, confirmando a possibilidade e validação do DTC no rastreamento das crianças com risco elevado para desenvolvimento de AVC.

Os exames de DTC no estudo STOP apresentaram os seguintes resultados: aproximadamente 9% na faixa de alto risco ( $\geq 200$  cm/s), 15% na faixa de risco intermediário ou condicional (170 cm/s a 199 cm/s) e 70% na faixa de risco baixo ( $<170$  cm/s). Aproximadamente 5% dos exames foram considerados inadequados (Adams et al., 2007).

Após o término do estudo STOP, foi realizado o acompanhamento de 127 pacientes participantes, de janeiro de 1998 até junho de 2000. No período pós-STOP, seis pacientes tiveram AVC, sendo que dois estavam em regime transfusional, um com HbS em torno de 45% e outro com HbS menor que 30%, mas o DTC havia sido anormal em ambos mesmo em uso de transfusões regulares. Um paciente que durante o estudo STOP pertencera ao grupo de tratamento transfusional desenvolveu AVC no seguimento pós-STOP. A família havia optado por suspender as transfusões e as velocidades de FSC ao DTC que eram normais no período de tratamento transfusional, haviam se elevado, caracterizando a criança como de alto risco após a suspensão. A curva de sobrevida livre de evento (AVC) após 65 meses de seguimento mostrou diferença significativa entre os grupos transfundidos e não-transfundidos, com o risco de AVC 93% maior nos não-transfundidos ( $p < 0,001$ ). A curva de sobrevida livre de evento no grupo não-transfundido alcançou um platô por volta de 30 meses (25 pacientes), sugerindo que um subgrupo de pacientes com risco elevado poderia reduzi-lo com o passar do tempo, mesmo sem transfusão. O único indicador de risco para desenvolvimento do evento AVC foi

a reversão do resultado do DTC para anormal, com dados similares aos do encontrados durante o estudo STOP. As transfusões profiláticas mantiveram a HbS abaixo ou próxima de 30% ( $27,5 \pm 12,4\%$ ) e os índices de aloimunização foram similares aos do período do estudo STOP, enquanto que a sobrecarga de ferro, como esperado, se acentuou (Lee et al., 2006).

Bernaudin et al., na França, acompanharam 237 crianças com diagnóstico de doença falciforme entre 1992 e 2004 (por 4,4 anos, em média). Encontraram velocidade anormal ( $\geq 200$  cm/s) pelo teste do DTC em 35 pacientes com HbSS (11 com AVC prévio). Vinte e quatro pacientes sem evento primário foram identificados, com incidência de 11%. Todos que tiveram AVC apresentaram ressonância e/ou angiorressonância magnéticas cerebrais alteradas. Pacientes com nível de Hb basal menor do que 7 g/dL apresentaram maior incidência de DTC anormal. Treze pacientes com DTC com risco elevado ( $\geq 200$  cm/s) normalizaram as velocidades com transfusões profiláticas. Dez destes tinham ARM normais e tiveram suas transfusões suspensas, iniciando-se tratamento com hidroxiuréia, mas quatro reverteram para risco elevado, retornando às transfusões sanguíneas. Seis crianças das 24 com risco elevado tinham doadores compatíveis e receberam transplante de células-tronco e seguiram seu curso clínico sem necessidade de transfusões e sem AVC.

Em 2000 foi iniciado pelos investigadores do STOP um novo estudo (STOP II). Teve como objetivo determinar se os pacientes nos quais a velocidade do FSC houvesse normalizado poderiam descontinuar o uso das transfusões profiláticas. Planejou-se a inclusão de 100 crianças com velocidades de alto risco ao DTC que reverteram para menos de 170 cm/s,

depois de pelo menos 30 meses de transfusões. Não deveriam, ainda, apresentar estenose moderada ou grave, nem oclusão arterial à ressonância magnética. Os participantes foram divididos em dois braços: um para continuar com as transfusões profiláticas e o outro para suspendê-las. Os dois subgrupos receberam seguimento e foram submetidos ao DTC a cada 12 semanas, pelo menos. O ensaio clínico foi suspenso após recrutamento de 79 pacientes, pois entre os 41 que tiveram as transfusões descontinuadas houve reversão das velocidades do fluxo cerebral para níveis de alto risco em 14 deles e a ocorrência de AVC em outros dois. Nos demais 38 participantes pertencentes ao grupo que continuou com as transfusões, esses eventos não foram registrados. Ficou, então, demonstrado que as transfusões profiláticas deveriam ser mantidas para prevenção do AVC, por período ainda indeterminado (Adams e Brambilla, 2005).

Em 2004, Kwiatkowski et. al descreveram dois casos de crianças com anemia falciforme que desenvolveram AVC após ser detectado aumento da velocidade do fluxo na ACA. Uma das crianças apresentou infarto na região da artéria cerebral anterior e a outra em território da ACM.

Ficou bem estabelecido, portanto, que o aumento da velocidade de fluxo cerebral nas artérias cerebrais carótida interna (ACI) e artéria cerebral média (ACM), detectada em exame de Doppler transcraniano, prediz risco aumentado de AVC em crianças com doença falciforme. Embora possam ocorrer, também, infartos nas áreas da artéria cerebral anterior (ACA), o real significado de velocidade aumentada detectada nesta artéria não havia sido analisado. Os investigadores do estudo STOP analisaram seus dados e observaram que a

elevação do FSC na ACA ( $\geq 170$  cm/s) estava associada com maior risco de desenvolvimento de AVC. Quando velocidades altas eram detectadas tanto na ACA como nas ACI/ACM, este risco era duplicado. Poucos AVC foram registrados no território da ACA quando se observou aumento da velocidade nesse vaso, sugerindo a associação com doença arterial difusa ou indicação de fluxo colateral de ACM comprometida (Kwiatkowski, 2006).

### **2.3.2. Impacto inicial da prática de rastreamento para identificação de crianças com alto risco para AVC pelo DTC**

Tornaram-se evidentes, com o estudo STOP, o benefício do DTC na detecção de risco para o AVC isquêmico e a redução de 90% dos eventos de AVC por meio de transfusões profiláticas. Com a divulgação dos resultados e a recomendação para o rastreamento de todas as crianças, houve crescente aumento na sua utilização em várias regiões nos Estados Unidos e do mundo. Em 2004, Fullerton et al. relataram a ocorrência de menor número de internações por AVC em crianças com doença falciforme em um hospital da Califórnia. As taxas que eram de 0,88/100 pessoas-ano no período de 1991 a 1998, foram reduzidas para 0,50/100 pessoas-ano em 1999 e 0,17/100 pessoas-ano em 2000, mostrando declínio significativo da incidência do AVC nas crianças com doença falciforme.

Provavelmente essa significativa queda da incidência de eventos na Califórnia tenha ocorrido em decorrência das mudanças das práticas clínicas como rastreamento pelo DTC, avaliações por meio de neuro-imagens como



ressonância e angiorressonância magnéticas, associadas aos programas de transfusão e quelação do ferro (Powars, 2004).

Recentemente (2009), Armstrong-Wells et al. relataram aumento significativo do rastreamento pelo DTC em pacientes de um plano de saúde nos EUA. A média anual de rastreamento de 157 crianças com doença falciforme era de 1,8/100 pessoas-ano antes de 1998. De janeiro a dezembro de 1998 foi de 5/100 pessoas-ano e de 11,4 depois de 1999, observando-se um aumento de seis vezes, na realização do teste. No período, houve também redução nas taxas de acidente vascular cerebral de 0,44/100 pessoas-ano, para 0,18/100 pessoas-ano, com a introdução do rastreamento pelo DTC.

McCarville et al. (2008) publicaram os resultados do programa de rastreamento de crianças com doença falciforme (303 crianças com HbSS e HbS $\beta^0$ , com idade entre dois anos a 16 anos, sem AVC prévio) pelo DTC, em Memphis/EUA. Analisaram a estratificação de risco pelo DTC e compararam o número de eventos neurológicos (AVC) no período antes do teste (1985-1994), no período em que o teste era feito esporadicamente (1995-2003) e no período após rastreamento universal (2003-2007). No período entre 2003 e 2007 os pacientes com risco intermediário foram subdivididos em risco intermediário baixo (170 cm/s a 184 cm/s) e intermediário alto (185 cm/s a 199 cm/s). Nesse período foram encontrados 11 exames anormais ( $\geq 200$  cm/s) e 21 exames condicionais ou intermediários.

Antes da introdução do teste, haviam ocorrido 18 AVC primários (primeiro evento), no período de oferta esporádica, 22 eventos e, no período com rastreamento universal, três eventos. Houve, portanto, uma redução importante

da incidência de AVC: 0,46/100 pessoas-ano antes do teste, 0,53/100 pessoas-ano no período de oferta esporádica e 0,18/100 pessoas-ano, no período com rastreamento universal.

Hankins et al., em 2008, analisaram os resultados dos DTC que foram estratificados como risco intermediário (intermediário baixo e intermediário alto). Embora a frequência de AVC nos pacientes com risco intermediário não tenha sido tão alta quanto naqueles com risco elevado, numa parcela houve reversão para velocidade normal, noutra progressão para velocidade anormal e numa terceira não houve alteração de extrato. A terapêutica para os pacientes em risco alto está bem estabelecida, porém não para aqueles estratificados em risco intermediário. Os autores relataram uma taxa acumulada de 23% de progressão para velocidades anormais pelo DTC na coorte analisada.

Verlhac (2008) publicou a experiência do centro de Cretél/França, com o seguimento de crianças oriundas do programa de triagem neonatal (242 crianças), desde 1992. DTC anormal foi identificado em 28 crianças (todas HbSS), com idade média de 3,2 anos (variação de 1,5 anos a 8,3 anos) e em nenhuma criança com HbSC ou HbS $\beta^+$ . A estimativa de risco de desenvolvimento de AVC, verificada pelo método de Kaplan-Meier, foi de 16,5% até os 3,2 anos e 28,3% até os 10 anos de idade, na população HbSS/HbS $\beta^0$ . Ocorreram dois AVC: numa criança de 18 meses, após um mês de observado o teste do DCT anormal e justamente antes ser iniciado o regime de transfusão; noutra criança, de quatro anos, que não possuía janela transtemporal direita, acessível ao exame do DTC, mas com velocidades normais à esquerda (o AVC foi à direita). O protocolo de rastreamento mostrou-

se significativamente eficaz, pois houve uma redução de 11,5% da taxa de AVC habitualmente observada até os 18 anos, para 1,5% aos 5 anos e 18 anos. A autora concluiu que a vasculopatia cerebral definida pelo DTC anormal ou a presença de infarto silencioso expõe as crianças com doença falciforme (HbSS e HbS $\beta^0$ ) a elevado risco de AVC, com porcentagem de 44,6% até os 18 anos, segundo análise da curva de sobrevivência das crianças acompanhadas. A estratégia de triagem precoce e o rastreamento sistemático pelo DTC de doença cerebrovascular com a adoção de programa transfusional modificaram radicalmente o prognóstico neurológico dos pacientes com doença falciforme.

Em 2004, Minniti et al. estudaram a correlação dos achados da angiorressonância magnética com as velocidades ao DTC em crianças com AVC ou risco elevado pelo teste ( $\geq 200$  cm/s) em regime de transfusão crônica. Verificaram que crianças que mantinham velocidades elevadas, mesmo em regime transfusional, apresentavam lesões à ARM, enquanto aquelas que normalizaram ou reduziram as velocidades apresentavam-se sem alterações à ARM. As crianças com velocidades baixa ( $< 70$  cm/s) apresentavam alterações e uma parte considerável delas exibia lesões tipo Moyamoya. Houve boa correlação das velocidades do FSC com os achados da ARM e os autores sugeriram que o DTC poderia ser útil nas decisões de descontinuação de transfusões quando as velocidades são revertidas com uso das mesmas. Além disso, velocidades anormalmente baixas ao DTC podem ser um fator de risco para AVC hemorrágico, devendo ser estudados pela ARM para avaliar vasculopatias dos vasos intracranianos e/ou detecção de alterações do tipo Moyamoya.

Makani et al., 2009, relataram os resultados de estudo transversal com 105 crianças quenianas com anemia falciforme. Encontraram velocidade do FSC de  $120 \pm 34,9$  cm/s, em média. Três crianças tiveram teste DTC com valores condicionais (170-199 cm/s) e nenhum exibiu valor anormal ( $\geq 200$  cm/s). Na faixa etária de 5 a 9 anos foram encontradas as maiores velocidades. Quando ajustada para idade e hematócrito, a saturimetria periférica reduzida ( $PO_2$ ) e história de febre predisseram velocidade do FSC de 150 cm/s ou mais. Entretanto, após 4 anos, nenhuma criança teve evento do SNC, 11 morreram e 10 perderam o *follow-up*. Entre os falecidos, eventos de febre progressiva foram preditivos de óbito, mas não a redução na saturimetria.

### **2.3.3. Obstáculos ao rastreamento universal das crianças com AF pelo DTC: como vencê-los?**

Embora estejam bem determinados o benefício e a viabilidade do DTC para o rastreamento universal das crianças com anemia falciforme com risco elevado para AVC, ainda são encontrados obstáculos para a sua execução. Essas barreiras são diferentemente percebidas pelos pacientes e cuidadores, bem como pelos profissionais de saúde que atendem à população de risco. Em um inquérito realizado com hematologistas e laboratórios acreditados para realização do DTC nos EUA, a maioria dos hematologistas respondeu que solicitam o teste para as crianças de risco. Relataram que a dificuldade na realização do exame está ligada ao não-comparecimento aos exames agendados. Relataram, ainda, pouca disponibilidade de técnicos treinados na realização dos exames e que estes seriam de baixa qualidade. Além disso, haveria poucos clínicos que soubessem interpretar adequadamente os

resultados. Por outro lado, os laboratórios vasculares consultados nas mais diversas regiões não tinham o exame do DTC disponível (Fullerton et al., 2006).

Raphael et al. (Dallas-Texas/EUA) verificaram que 45% das crianças com doença falciforme foram submetidas ao rastreamento anual para o DTC. A taxa de cancelamento dos exames pelos pacientes foi de 20%; 65%-80% dos profissionais de saúde solicitaram os exames de acordo com o protocolo adotado pela instituição.

O programa de rastreamento de crianças com anemia falciforme, no centro de tratamento do *St. Jude Children's Research Hospital*, em Memphis no Tennessee/EUA, mostrou um índice de rastreamento de 99% de todas as crianças de risco. Esse programa tão bem sucedido deveu-se ao planejamento adequado, com repetição dos exames em intervalos de acordo com os resultados do primeiro exame de Doppler conforme a tabela abaixo:

**Tabela 1: Periodicidade para realização do DTC em crianças com DF atendidas no St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA**

Resultado do DTC	Frequência do exame		
	Idade 2-5 anos	Idade 6-10anos	Idade 11-16 anos
Normal	Anualmente	Anualmente x3	Anualmente x 2
Condicional baixo	A cada 6 meses	A cada 6 meses	A cada 6 meses
Condicional alto	A cada 3 meses	A cada 3 meses	A cada 3 meses
Anormal	Dentro de 1 mês	Dentro de 1 mês	Dentro de 1 mês

Normal: Vmm <170 cm/s Condicional baixo: 170-184 cm/s condicional alto: 185-199 cm/s Anormal: ≥ 200 cm/s (Wang, 2007)

Neste centro, uma enfermeira foi treinada e fez todos os testes nas crianças de risco, quando compareciam para suas consultas de rotina. Os reagendamentos e recrutamento por telefone também foram todos centralizados nos esforços dessa enfermeira (McCarville et al. 2008 e Hankins et al. 2008).

Katz et al., em 2002, publicaram os resultados de um inquérito realizado com os pais/cuidadores, pacientes e diretores médicos de 24 centros que ofereciam o teste DTC nos EUA. O estudo avaliou o conhecimento sobre AVC, a necessidade de educação sobre esse evento neurológico e a realização do DTC propriamente dito. Entre os cuidadores, somente 34% relataram o AVC como uma possível complicação da DF e 36% estavam cientes de que seu filho tinha esse risco. Somente 11% das crianças souberam descrever adequadamente o AVC (explicações de acordo com a idade). Apesar de 82% dos diretores médicos concordarem com a necessidade de informação para os pacientes e familiares, somente 50% dispunham de material adequado para crianças. Tanto pais como cuidadores estavam interessados em receber informação sobre o AVC. A educação de pais, familiares e cuidadores contribuem para adesão às medidas preventivas, nelas incluída a prevenção primária do AVC pelo DTC.

## **2.4. Cuidados na interpretação dos resultados, limitações e falhas nos exames de Doppler transcraniano**

O Doppler transcraniano “cego”, que é o usualmente empregado na maioria das instituições, não permite a visualização direta dos vasos insonados, como ocorre com o Duplex-Scan das carótidas. Na verdade, faz-se uma avaliação indireta por meio de uma onda de frequência que é produzida por cristais estimulados eletricamente e é liberada pelos eritrócitos dentro dos vasos. É transmitida como sinal recebido por um transdutor e convertido em sinal elétrico. Este sinal é transformado em onda gráfica que permite a determinação da velocidade e da direção do fluxo sanguíneo nas artérias cerebrais. Permite, também, o cálculo de parâmetros adicionais, como o índice de pulsatilidade (PI), considerado marcador real da resistência distal ao local insonado. O PI é calculado pela equação de Gosling (PI = subtração da velocidade do pico diastólico à velocidade do pico sistólico sobre a velocidade média).  $PI = \frac{V_{PD} - V_{PS}}{V_m}$ .

Foram determinadas as diferentes profundidades, direção do fluxo e variação das velocidades normais relacionadas à idade para cada vaso sanguíneo e a identificação de cada vaso é feita por esses parâmetros já estabelecidos. Vários fatores influenciam a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral.

1. Idade: a velocidade é mais alta até os quatro anos de idade e depois se reduz progressivamente.
2. Hematócrito: é determinante para a quantidade total de oxigênio extraído da hemoglobina circulante. Anemia leve não leva a alterações

significativas do fluxo sanguíneo cerebral. Porém, com a redução acentuada do hematócrito (<30%), há elevação da velocidade do fluxo para a manutenção da quantidade total de oxigênio necessária para a função cerebral. As crianças com anemia falciforme apresentam hematócrito em torno de 18% a 21% e a velocidade do FSC é maior do que a velocidade do fluxo cerebral de crianças saudáveis, na mesma faixa etária. A VMM (velocidade média máxima) para uma criança de 8 anos, com níveis de Hb em torno de 7g/dL e hematócrito 21%, é de 140 cm/s, aproximadamente. Pode haver redução da velocidade em situações de hiperviscosidade ou de maior liberação de oxigênio.

3. Dióxido de carbono: as arteríolas cerebrais respondem a variações do CO<sub>2</sub>, ocorrendo dilatação na presença de concentração mais elevada da substância, de forma a permitir aumento do fluxo cerebral. Isso ocorre, por exemplo, em doença pulmonar, na administração de CO<sub>2</sub> exógeno e durante o sono.
4. Oxigênio: hipóxia produz aumento no fluxo sanguíneo cerebral para manutenção da liberação do oxigênio. Pacientes com pneumonia ou outras causas de redução de O<sub>2</sub> terão aumento compensatório do FSC.
5. Hipoglicemia: a redução dos níveis de glicemia pode elevar o FSC para aumentar a liberação de glicose e ocorre, geralmente, com níveis plasmáticos abaixo de 40 mg/dL.
6. Febre: para cada grau Celsius de elevação da temperatura corporal há aumento de aproximadamente 10% no FSC o que corresponderá a elevação das velocidades do DTC, em relação aos níveis basais.



7. Pressão arterial: as arteríolas cerebrais respondem a mudanças na pressão arterial para manutenção do FSC constante. Este mecanismo de autorregulação será quebrado em casos de grande elevação ou redução na pressão arterial sanguínea.
8. Débito cardíaco: em condições fisiológicas, o débito cardíaco é estável e não influencia o FSC. Em condições de baixa do débito cardíaco, como arritmias, estenose aórtica grave e bloqueio A-V de III grau, pode haver redução do FSC e das correspondentes ondas gráficas no DTC.
9. Obstrução arterial proximal: se há estenose do vaso em mais de 80% do seu calibre, pode haver um decréscimo do volume de fluxo a jusante, resultando em redução da velocidade (estenose proximal ao ponto de insonação), com uma onda gráfica de baixa resistência.
10. Estenose arterial distal: estenose arterial grave distal ao ponto de insonação causa diminuição do volume de fluxo através da artéria. O fluxo no local de insonação levará à redução da velocidade com uma onda de alta resistência. Pressão intracraniana elevada produzirá efeito similar à estenose arterial distal, levando ao aumento da resistência ao nível arteriolar.
11. Oscilação do ritmo cardíaco: indivíduos normais apresentam oscilações periódicas na velocidade da ACM, produzindo aumento de até 15% na velocidade.
12. Malformações arteriovenosas: as malformações arteriovenosas não apresentam leito capilar e causam mínima resistência ao fluxo. A insonação de uma artéria que alimenta uma malformação arteriovenosa

demonstrará alta velocidade (devido alto fluxo volumétrico), com sinal de baixa resistência.

De acordo com o estudo STOP, os exames de DTC devem ser realizados quando a criança está livre de eventos clínicos. Não são recomendados exames em crianças com febre, hipóxia, hipocarbinia e acentuação da anemia, pois tais eventos podem transitoriamente elevar a VMM. Transfusão de concentrado de hemácias pode reduzir a VMM por várias semanas, até que o hematócrito retorne ao nível usual do paciente (Nichols III et al., 1992).

O ultrassom transcraniano “cego” (DTC) mostrou-se teste adequado para rastreamento das crianças com doença falciforme em risco de desenvolver AVC isquêmico. Apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 90%, quando comparado à angiografia cerebral, teste padrão-ouro. É um teste examinador-dependente, demandando treinamento e experiência (Adams et al., 1992).

A identificação de risco em crianças com DF deve ser feita de acordo com os princípios e os cuidados recomendados pelo estudo STOP. Como as crianças apresentam maiores riscos de AVC nos primeiros anos de vida, o rastreamento deve ser iniciado aos dois anos e mantido até os 16 anos, em crianças livres de evento neurológico (AVC clínico). O critério preditivo de risco é determinado pela velocidade média máxima do FSC encontrada nos segmentos arteriais: ACM, bifurcação e ACI distal. Os resultados foram derivados de estratificação das velocidades encontradas nestes segmentos arteriais. Exame normal: VMM até 169 cm/s; exame condicional ou intermediário, VMM de 170 a 199 cm/s e exame anormal, VMM maior ou igual

a 200 cm/s. Quando não há janelas transtemporais que permitam a insonação são qualificados como inadequados. O exame deve ser feito, cuidadosamente, insonando-se a ACM, desde suas porções mais superficiais (36-38 mm) até a bifurcação e ACI distal. As maiores VMM são encontradas nas porções proximais da ACM (46 a 50 mm de profundidade: 85%), ACI distal (12%) e o restante na bifurcação e nas porções distais da ACM. Posteriormente foram também consideradas como preditivo de alto risco VMM elevadas na ACA (Kwiatkowski et al, 2004). Embora sejam utilizadas para efeitos clínicos somente as velocidades nesses segmentos arteriais, o exame deve ser feito de forma completa com insonação de 15 segmentos arteriais. As informações da onda espectral não foram utilizadas no estudo STOP, mas sabe-se que ondas com velocidades lentas e baixa resistência são indicativas de estenose grave, assim como velocidades muito baixas (<70 cm/s). Além disso, diferença de 50% no segmento arterial contralateral também pode ser indicativa de estenose.

É necessário que se faça pelo menos um exame confirmatório, pois o teste apresenta variações individuais devido a fatores fisiológicos (sono, por exemplo) e a fatores patológicos que elevam o FSC (como febre). Pacientes que apresentam velocidades próximas de 200 cm/s podem tê-las revertidas em um exame subsequente em aproximadamente 15% dos casos. Entretanto pacientes que apresentam VMM maior do que 220 cm/s no primeiro teste, terão o resultado confirmado em 95% das vezes (Adams et al., 2005 e Brambilla et al., 2007).

Jones et al., 2005, analisaram os dados do estudo STOP e observaram que tanto a velocidade do pico sistólico como a velocidade do pico diastólico

final estavam relacionados à velocidade média máxima exibida pelo teste DTC. Após análise em modelo multivariado verificaram que a velocidade do pico sistólico de 250 cm/s equivale a uma VMM (TAMM) de 200 cm/s ou mais, podendo ser considerada como preditiva de alto risco. Essa equivalência da velocidade do pico sistólico seria mais familiar para interpretações dentro da comunidade de laboratórios vasculares, acostumados a leituras no DTCl (Doppler transcraniano com imagem).

Nem todos os AVCs são previsíveis pelo teste do DTC, como os que não são consequentes ao envolvimento das grandes artérias, e os AVC hemorrágicos. Em 2008, Wolf et al publicaram o caso de uma menina de 12 anos com anemia falciforme que desenvolveu AVC hemorrágico primário com teste DTC que mostrava VMM normais antes do evento.

Jones et al. (2001) compararam as velocidades exibidas pelo DTC “cego” com o Doppler transcraniano colorido e com imagem (DTCl), sendo o DTC utilizado como teste padrão-ouro para tomada de decisão no tratamento de prevenção primária do AVC, segundo o protocolo STOP. Um grupo de 29 crianças foi submetido a rastreamento pelo DTC cego (Nicolet 2000) e DTCl. Os exames foram realizados em duas sessões e depois lidos independentemente. As medidas das velocidades foram aproximadamente 10% inferiores quando se comparavam àquelas exibidas pelo DTC padrão. Velocidades médias de 180 cm/s encontradas ao DTCl corresponderiam ao equivalente a 200 cm/s no DTC “cego” e devem ser consideradas na faixa de risco para AVC.

Atualmente, somente o DTC é recomendado para seleção de pacientes para tratamento primário do AVC, ou seja, tratamento preventivo para ocorrência do primeiro evento. Outros exames que avaliam as condições cerebrais como a ressonância ou angiorressonância magnética cerebral (RM ou ARM) podem fornecer dados adicionais sobre o risco futuro de AVC. A associação de infartos silenciosos detectados pela RM e risco de AVC clínico foi demonstrada pelo estudo cooperativo de doença falciforme (CSSCD, Kinney et al, 1999). A ARM foi empregada para avaliação de risco, porém não se pôde estratificar o risco em dados prospectivos (Adams, 2005).

Em 2005, Sarnak analisou as falhas do rastreamento para identificação de risco para AVC pelo DTC e prevenção primária do evento, em crianças com doença falciforme. Haveria exposição desnecessária de crianças que não iriam desenvolver o AVC ao regime de transfusão (redução de 70% para 10% ou menos nas taxas do evento). Os efeitos adversos das transfusões como exposição às doenças transmitidas pelo sangue, risco de aloimunização, sobrecarga de ferro e quelação, tornariam o método ainda inadequado. Assim, ainda há resistência de pais e hematologistas que consideram a relação risco/benefício alta para submissão das crianças aos rigores e efeitos colaterais da transfusão crônica. Além disso, 7,5% das crianças com risco elevado ao DTC tiveram as velocidades anormais revertidas ao longo do tempo, quando analisadas pelo estudo STOP. Entretanto, a autora concluiu que O DTC e exames de RM aumentaram, grandemente, a possibilidade de detecção precoce das alterações do SNC nas crianças com doença falciforme. Ponderou que o perfil de doença grave pode ser identificado precocemente, propiciando

que os tratamentos de intensificação sejam iniciados antes das lesões orgânicas provocadas pela doença falciforme.

## **2.5. Evidências científicas para tomada de decisão no tratamento de intensificação, em casos indicativos de evolução desfavorável**

A determinação da gravidade da doença falciforme nos períodos iniciais da vida é importante para se adotarem, precocemente, estratégias terapêuticas que evitassem danos orgânicos. Muitos avanços vêm ocorrendo no tratamento da anemia falciforme, como transfusões seriadas, uso de medicamentos que induzem o aumento da hemoglobina fetal (como a hidroxiuréia) e transplante de medula óssea. Entretanto, essas modalidades terapêuticas não são isentas de risco e as indicações devem ser bem fundamentadas e seguras (Bray et al., 1999 e Steinberg, 1999).

Estudo realizado por Miller et al. (2000) mostrou a importância preditiva da dactilite antes do primeiro ano de vida, da leucocitose e dos níveis de hemoglobina menor que 7 g/dL para a evolução adversa da anemia falciforme em crianças até 10 anos de idade. Esse trabalho mostrou risco de 40% para ocorrência de evento adverso (morte, síndrome torácica aguda, crises algicas frequentes e acidente vascular cerebral) com a presença dessas variáveis.

Quinn et al. (2007) estudaram 264 indivíduos com doença falciforme (HbSS e HbS $\beta^0$  talassemia), provenientes da triagem neonatal de Dallas (DNC, *Dallas Newborn Cohort*) desde 1983 e que tiveram cinco anos ou mais de

seguimento desde o primeiro ano de vida. Foram definidos três potenciais fatores preditivos precoces nos primeiros três anos de vida: **qualquer episódio de crise álgica, dactilite e síndrome torácica aguda (STA)**. Estudou-se a associação desses fatores preditivos com os seguintes desfechos desfavoráveis (depois do terceiro ano de vida): **óbito, primeiro AVC clínico, tratamento de intensificação** (modificadores da doença: hidroxiureia, transfusão crônica ou TMO), **hospitalização por crise álgica e evento AVC**. Nenhum dos eventos precoces predisse morte ou AVC. O único fator preditivo de STA tardia foi a STA em idade precoce. Crise álgica precoce, dactilite precoce, sexo e genótipo não predisseram a ocorrência de crises dolorosas tardias e nem de STA. Dois indicadores objetivos de doença grave como morte e evento AVC estão sofrendo redução na sua frequência, resultado do diagnóstico precoce, do uso profilático de penicilina e de imunizações, no caso das mortes por infecção. A identificação de crianças de risco elevado para AVC pelo DTC e a prevenção primária vêm reduzindo, por sua vez, a incidência de AVC clínico. Embora vários fatores tenham sido estudados ainda não se dispõe de um modelo preditivo de gravidade para lactentes e crianças jovens.

Os investigadores da Coorte Neonatal de Dallas/EUA continuaram o estudo e avaliaram se os fatores prognósticos verificados no CSSCD, ocorrência de dactilite no primeiro ano de vida, hemoglobina basal < 7 g/dL e leucometria  $\geq 20.000/mm^3$  (no segundo ano de vida), estariam associados a risco aumentado de evolução adversa como morte, AVC, crises álgicas frequentes e STA recorrente. Esse modelo não foi validado na coorte de Dallas: nenhum paciente para o qual os fatores de gravidade estavam presentes

experimentou eventos adversos. Por outro lado, pacientes que não apresentavam os mencionados fatores de risco evoluíram com eventos. Nenhuma relação existiu entre os fatores precoces de gravidade e a evolução tardia desfavorável, a não ser para uma possível exceção: a leucocitose. Sugeriram que o modelo não fosse utilizado como critério para intervenção precoce na evolução da doença falciforme.

O AVC é uma das mais graves complicações da doença falciforme e o melhor fator preditivo até o momento é a detecção do aumento da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral pelo DTC. O estudo STOP comprovou que a prevenção primária do AVC com transfusões crônicas é a conduta mais adequada para os pacientes com risco elevado de AVC. Esse é o tratamento padrão com nível de evidência e grau de recomendação IA. O estudo STOP II mostrou que essas transfusões devem ser mantidas indefinidamente, pois a suspensão leva frequentemente, ao aumento da velocidade do FSC para níveis de risco (Adams et al., 1992, Adams et al., 1998, Adams et al., 2007, Adams et al. 2005, Adams 2007, Wang 2007).

O estudo de série de casos de Bernaudin et al, (2005) mostrou a possibilidade do uso da hidroxiureia após o período transfusional para alguns casos em que ocorrera a reversão da velocidade do FSC para níveis não-críticos e não havia alterações cerebrais à ARM. E para outros, em que não se conseguiu a reversão da velocidade do FSC ou, então, que apresentavam alterações estruturais do cérebro à ARM, mesmo tendo ocorrido diminuição do FSC com as transfusões, a melhor indicação seria o transplante de células-tronco hematopoiéticas.



### **2.5.1. Qual o melhor tratamento para as crianças identificadas com alto risco para AVC? Que evidências científicas o suportam?**

Embora o tratamento padrão de prevenção primária seja o uso de transfusões de troca com manutenção dos níveis de HbS abaixo de 30%, os efeitos adversos (aloimunização, reações transfusionais, transmissão de doenças veiculadas pelo sangue e sobrecarga de ferro), os custos e a dificuldade de aderência dos pacientes dificultam a execução adequada do programa transfusional. Vichinsky et al. observaram que o uso da fenotipagem estendida para os grupos C, D, E e Kell, além de deleucotização dos concentrados de hemácias transfundidos nos pacientes do estudo STOP, promoveram a redução da aloimunização para 0,5% e as reações transfusionais caíram em 90%, por unidade transfundida.

A sobrecarga de ferro, nociva aos mais diversos órgãos, advinda das transfusões crônicas exige a quelação adequada desse metal. O uso da deferroxamina via subcutânea, por infusão prolongada e diária, embora eficaz na quelação, não tem aderência adequada principalmente por crianças pequenas e adolescentes. Além disso, pode estar associada com efeitos neurotóxicos visuais e auditivos e retardo do crescimento. O estudo multicêntrico de fase III de Capellini et al., 2006 mostrou que o deferasirox, quelante de uso oral, foi eficaz, apresentou boa segurança e foi bem tolerado pelos pacientes.

Desde o clássico estudo MSH (*Multicenter Study of Hydroxyurea*), publicado em 1995 por Charache et al, o uso da hidroxiureia (HU) tem-se ampliado em pacientes com doença falciforme, com significativa redução da morbidade e mortalidade provocadas por suas complicações. Esse estudo clínico de fase III, randomizado, duplo cego, controlado e multicêntrico estudou a eficácia da HU e mostrou que pacientes adultos que usaram o medicamento apresentaram significativa melhora na evolução da doença, sem provocar efeitos adversos importantes, mas o uso deveria ser rigorosamente monitorado.

Steinberg et al. (2003), após nove anos de seguimento, relataram que a mortalidade dos pacientes do estudo MSH, em uso de HU para crises dolorosas, sofreu redução estatisticamente significativa ( $p=0,04$ ). A sobrevida estava relacionada aos níveis de HbF e à frequência das crises vaso-oclusivas.

Em 1999, Kinney et al. publicaram o resultado de estudo multicêntrico de fase I/II para determinar a eficácia e segurança da HU em crianças com doença falciforme. Foram recrutadas 84 crianças de 5 a 15 anos e a dose inicial da droga foi de 15 mg/kg/dia, aumentando as doses até alcançar 30 mg/kg/dia, ou seja a dose máxima tolerada (DMT) sem efeitos adversos. Visitas quinzenais foram realizadas para verificar a adesão, toxicidade, eventos clínicos adversos, aferição de crescimento e parâmetros laboratoriais de resposta. Houve aumento dos níveis de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), HbF e redução do número de leucócitos, neutrófilos, plaquetas e da contagem de reticulócitos. A toxicidade hematológica foi leve e transitória e foi revertida após suspensão temporária da droga, seguindo-se o reescalonamento gradual da dose. Não houve eventos

clínicos graves. O tratamento, realizado por hematologista pediátrico, se mostrou seguro. A HU induziu as mesmas mudanças laboratoriais observadas nos adultos.

Ware et al. (2004) estudaram prospectivamente uma série de casos composta de 35 crianças que tiveram AVC e estavam em regime transfusional crônico em que as transfusões foram descontinuadas. Foi iniciado o uso da HU para essas crianças juntamente com flebotomias seriadas para reduzir a sobrecarga de ferro. Inicialmente as transfusões foram suspensas e a HU com flebotomia iniciada. Posteriormente, a HU e flebotomias foram usadas concomitantes à transfusão, até que a HU alcançasse a dose terapêutica e houvesse resposta à droga. A recorrência do AVC que era de 5,7 eventos/100 pacientes-ano caiu para 3,6 eventos/pacientes-ano, quando se usou a segunda estratégia. Além disso, houve redução dos níveis séricos da ferritina e biopsias hepáticas exibiram histologia normal. Concluíram que a HU preveniria parcialmente os acidentes vasculares cerebrais e que a flebotomia seriada levava à completa resolução da hemossiderose secundária às transfusões.

Em 2004, Gulbis et al. publicaram os resultados da experiência do registro belga com o uso da hidroxiureia em crianças com risco elevado detectado pelo DTC. De 34 crianças com DTC anormal, houve redução significativa das velocidades do FSC em 11 crianças e apenas uma desenvolveu o evento AVC primário, após seguimento de 96 pacientes-ano.

Conforme já mencionado, anteriormente, o DTC apresenta alta sensibilidade e especificidade para detecção de risco, mas o valor preditivo positivo de um resultado anormal é relativamente baixo, já que só um terço dos

pacientes irá desenvolver o AVC. Há que se considerar alternativas para a prevenção primária do AVC por meio da utilização de esquema transfusional crônico. Zimmerman et al. (2007) estudaram o efeito da HU nas velocidades do FSC medido pelo DTC em crianças que usavam hidroxiureia devido à evolução grave da DF. Prospectivamente, compararam as velocidades do fluxo basal, antes do início do tratamento com HU, após a resposta terapêutica e um ano mais tarde, verificando-se a persistência do efeito da HU sobre as velocidades ao DTC. Com uso da HU em DMT houve decréscimo significativo das velocidades ao DTC e também após um ano de tratamento, em dose plena. De 15 crianças com valores de velocidades condicionais (ou intermediários), em 14 houve diminuição da velocidade. Em cinco de seis crianças com valores iniciais anormais ao DTC, cujos pais recusaram o tratamento transfusional, as velocidades caíram abaixo de 200 cm/s.

Em recente revisão, Verduzco e Nathan (2009) ponderaram sobre o rastreamento pelo DTC e o tratamento preventivo para o AVC isquêmico inicial. Postularam que o futuro da prevenção do evento na DF não será a transfusão crônica devido aos riscos dela inerentes. A subespecificidade do teste DTC com detecção de risco de 40% dos eventos de AVC primários ainda geram controvérsias e diminuem o interesse pelo rastreamento universal das crianças com DF.

Em 1996, Walters et al. publicaram os resultados do tratamento de 22 crianças submetidas a transplante alogênico de medula óssea, devido à evolução grave da anemia falciforme. Vinte crianças sobreviveram e houve “pega” das células hematopoiéticas do doador em 16 pacientes, com duplo

quimerismo. O tratamento mostrou-se curativo para a doença, apesar das complicações decorrentes do procedimento.

Com os avanços adquiridos em vários estudos multicêntricos nos EUA e Europa, a adoção de regimes não-mieloablativos resultou em menor risco de óbito e menor toxicidade do procedimento. Fontes alternativas de doadores de células hematopoiéticas, como doadores HLA-compatíveis não-relacionados e sangue de cordão umbilical, permitirão que casos selecionados se beneficiem desse tratamento (Michlitsch e Walters, 2008).

Três estudos clínicos, randomizados e controlados de fase III, financiados pelo NHLBI, estão em andamento e ajudarão a definir as estratégias de prevenção e tratamento do acidente vascular cerebral e infartos silenciosos, além de outros desfechos desfavoráveis da DF:

1. O estudo SWiTCH (*Stroke With Transfusion Changing to Hydroxyurea*) tem como objetivo primário comparar o uso de hidroxureia e flebotomia com transfusões crônicas e quelação do ferro para a prevenção secundária do acidente vascular cerebral. Foram recrutadas 130 crianças de cinco a 18 anos de idade, sendo o estudo iniciado em 2005, com previsão de término em 2010.

(<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00122980?term=Transfusion+hanging+to+hydroxyurea+SWiTCH&rank=1>, acessado em 18/05/2009).

2. O estudo clínico multicêntrico (*Silent Cerebral Infarction Multi-Center Clinical Trial*), patrocinado pela Washington University School of Medicine e National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS) tem o objetivo de estudar o uso de transfusões para prevenção de infartos silenciosos em

crianças com doença falciforme. Estudará, ainda, se os benefícios do tratamento transfusional ultrapassarão os riscos consequentes a essa prática.

[http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00072761?term=Silent+Cerebra I++infarct+Multi-Center+Clinical+Trial&rank=1](http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00072761?term=Silent+Cerebra+I++infarct+Multi-Center+Clinical+Trial&rank=1) acesso em 18/05/2009).

3. O estudo clínico multicêntrico (*Hydroxyurea to Prevent Organ Damage in Children With Sickle Cell Anemia – Baby-HUG trial*) foi iniciado em agosto de 2000 e tem previsão para finalizar a coleta de dados em setembro de 2009. Foi planejado o recrutamento de 200 crianças com DF, na faixa etária de nove meses a 18 meses. Será estudada a ação da HU na redução de danos orgânicos, provocados pela doença, no baço, cérebro, pulmões, rins e crescimento das crianças.

<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006400?term=phase+iii+AND+organ+damage+AND+hydroxyurea+AND+sickle+cell+disease&rank=2>, acesso em 20/05/2009).

A avaliação com o teste DTC foi um desfecho secundário a ser analisado pelo Baby-Hug. À entrada do estudo 192 lactentes (94%), com idade entre 7-17 meses, foram rastreados pelo teste DTC: nenhum apresentou risco alto e apenas quatro exibiram VMM com valores intermediários. A VMM do FSC apresentou correlação negativa com o nível de Hb e correlação positiva com a idade. Novas avaliações serão realizadas durante o seguimento do estudo, para determinar se o teste DTC é instrumento válido para detecção de risco para AVC nessa faixa etária (Pavlakis et al., 2009).

## **2.5.2. Tomada de decisão clínica: evidências científicas e coparticipação de pacientes e responsáveis**

Pais e cuidadores devem ser alertados sobre o risco de AVC e sobre o teste Doppler para identificação das crianças com risco elevado de desenvolverem essa complicação. Intervenções educativas em crianças com doença crônica e o oferecimento de informações úteis sobre a saúde apresentam desafios metodológicos e aspectos éticos, mas são essenciais (Katz et al., 2002).

Em junho de 2007, em Washington (EUA), pesquisadores e gestores discutiram os problemas relacionados à disparidade entre os aspectos graves da doença falciforme, a dificuldade de acesso aos serviços de saúde e os recursos limitados para a pesquisa na área. Foram traçadas medidas estratégicas para viabilizar a mudança dessa realidade. O tratamento e as medidas preventivas devem englobar as instituições públicas, planos de saúde, os gestores, e participação ativa dos representantes de indivíduos afetados, contemplando-se as necessidades culturais e étnicas da população acometida (Smith et al., 2006, Hassel et al., 2009).

Pacientes com formas graves da doença falciforme puderam identificar suas preferências por diversos tratamentos de intensificação (hidroxiureia, transfusões crônicas ou transplante de células-tronco) em inquérito realizado depois de palestras informativas. A melhoria do entendimento das preferências de pacientes e cuidadores e dos processos de tomadas de decisão ajudarão a definir os ensaios clínicos e as decisões de tratamento (Hankins et al., 2007).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Identificar as crianças com risco elevado para acidente vascular cerebral isquêmico pelo DTC e detectar fatores clínicos e hematológicos preditivos de risco de doença cerebrovascular na população de crianças com perfil FS, triadas pelo PETN-MG e acompanhadas no Hemocentro de Belo Horizonte (HBH).

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Verificar, pelo DTC, as velocidades do FSC nos segmentos arteriais do polígono de Willis, em crianças com DF (HbSS e HbSβ<sup>0</sup>) triadas ao nascimento pelo PETN-MG, no período de 1998 a 2005 e acompanhadas no HBH até maio de 2009;
- Estratificar o risco de desenvolvimento de AVC isquêmico pelas velocidades do FSC encontradas no teste DTC;
- Determinar a incidência de doença cerebrovascular avaliada pelo teste DTC nessa população de crianças;
- Verificar a associação de variáveis hematológicas com as velocidades do FSC encontradas nas artérias cerebrais médias;
- Verificar a associação das velocidades do FSC com os índices antropométricos das crianças;



- Verificar a associação da ocorrência de sequestro esplênico agudo (SEA) até os três anos de idade com as velocidades do FSC;
- Verificar a associação da ocorrência de síndrome torácica aguda (STA) com as velocidades do FSC.
- Verificar, por meio de curvas de sobrevida das crianças, as probabilidades estimadas da ocorrência de AVC clínico e de DTC alterado.

## **4. Metodologia**

### **4.1. Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo de coorte, parte prospectiva e parte retrospectiva, observacional, com corte transversal e randomização de amostra para realização do teste DTC. O desfecho primário de interesse foi a detecção de DTC alterado (valores intermediários ou anormais).

### **4.2. Casuística**

Foram arroladas crianças nascidas no Estado de Minas Gerais, a partir de março de 1998 a 31 de dezembro de 2005, triadas pelo PETN-MG, com perfil eletroforético de hemoglobina FS determinado por eletroforese com focalização isoeétrica e HPLC. Foram incluídas as crianças em

acompanhamento no Hemocentro de Belo Horizonte, até a última consulta antes da data final de *follow-up* do estudo.

Entre 01/03/1998 a 25/12/2005 foram registradas para acompanhamento inicial no Hemocentro de Belo Horizonte 435 crianças triadas pelo PETN.

Das 435 crianças, 355 foram randomizadas para o estudo, em outubro de 2008. Os dados foram resgatados de prontuários padronizados do HBH-Hemominas e registrados num Banco de Dados específico construído com o programa Access 2004, da Microsoft. (**Anexos 1 a 3**)

A amostragem por randomização foi realizada por estratificação anual, levando-se em conta a incidência de DCV relatado na literatura e a incidência verificada em estudo preliminar no Hemominas, conforme descrito na seção de Métodos Estatísticos.

Para a realização do estudo DTC foi feito um recorte transversal e os testes foram iniciados em dezembro de 2006, em todas as crianças que não tiveram AVC.

Trezentas crianças com diagnóstico FS (HbSS e HbS $\beta^0$ ) das 355 randomizadas, eram passíveis de serem submetidas ao DTC.

Para inclusão da criança no estudo, os pais ou responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Informado, após informação detalhada e sem prejuízo para a criança, no caso de não-consentimento. O estudo foi realizado conforme as determinações normativas e legais sobre estudo em humanos, e o projeto da pesquisa e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (**Anexo 4**) foram submetidos à Comissão de Ética em Pesquisa da

Fundação Hemominas, com aprovação. A figura 3 mostra as características gerais da amostra randomizada para o estudo.

### Características gerais da amostra randomizada

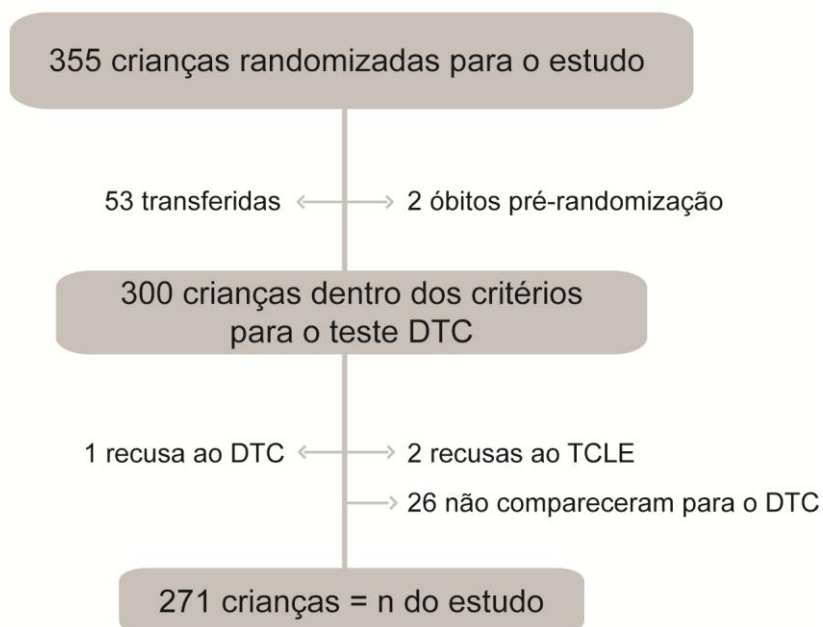


Figura 3: Características gerais da amostra randomizada para o estudo

## 4.3. Métodos

### 4.3.1. Variáveis clínicas

Foram utilizados os dados clínicos recuperados das primeiras consultas e retornos das crianças em seguimento regular e aderentes ao protocolo para acompanhamento e tratamento das crianças com doença falciforme, triadas pelo PETN.

Foram quantificados e analisados os seguintes eventos clínicos: sequestro esplênico agudo (SEA) e episódios de síndrome torácica aguda até

os três anos de idade, acidente vascular cerebral clinicamente manifesto e óbito.

Foram recuperados dos prontuários as medidas antropométricas (peso, estatura) e perímetro cefálico até os três anos de idade, tomadas a cada visita médica. A avaliação nutricional foi realizada pelo Programa EPINUT, do EPI INFO (versão 2004), fazendo-se a comparação dos índices com a amostra padronizada pelo NCHS – National Center for Health Statistics (versão 2000).

#### **4.3.2. Variáveis laboratoriais**

Os resultados dos exames laboratoriais hematológicos – níveis de hemoglobina total, número total de leucócitos, plaquetas, reticulócitos e dosagem de hemoglobina fetal – foram retirados dos prontuários do HBH, registrados em Banco de Dados específico, construído com base no programa Access 2007, da Microsoft e analisados no programa estatístico SPSS, versão 17.0.

A determinação dos valores basais das variáveis hematológicas obedeceu à seguinte metodologia:

1. Para determinação do nível de hemoglobina basal foi considerada a média dos valores de hemoglobina, após os dois anos idade, desprezando-se os valores próximos a transfusões sanguíneas ou eventos clínicos. Para as crianças que apresentaram AVC ou entraram em regime de transfusão crônica, os valores foram considerados até a

data anterior ao início das transfusões. Para a criança que sofreu AVC aos dois anos de idade, o nível de Hb total basal foi tomado como o valor antes da ocorrência do evento, com a idade de 1 ano e 11 meses. Para as crianças que iniciaram tratamento com hidroxiureia, o nível da Hb total basal foi representado pela média dos valores anteriores ao início dessa terapêutica, com o mesmo cuidado relativo a transfusões e eventos clínicos próximos à determinação da hemoglobina;

2. Os níveis basais de contagem de reticulócitos foram determinados de forma semelhante. Para cinco crianças que não tinham registro de contagem de reticulócitos após os dois anos de idade, foi considerado o valor mais próximo dos dois anos (inclusive a criança que sofreu AVC aos 2 anos de idade).
3. Os níveis basais de leucometria foram determinados pela média dos valores de contagem global de leucócitos após os dois anos de idade, salvo as crianças em uso de hidroxiuréia, cujas médias foram determinadas a partir de dados registrados antes do início da terapêutica;
4. Os níveis de basais de contagem de plaquetas foram determinados pelas médias dos valores após os dois anos de idade e antes do início da terapêutica com hidroxiureia;
5. Os níveis de Hb fetal foram determinados após os 2 anos idade, exceto para a criança que sofreu AVC nesta idade; uma criança não tinha registro de Hb F próximo a 2 anos e foi considerada “missing” para esta variável. Para as que foram submetidas à hipertransfusão ou receberam

hidroxiuréia, foram registrados valores anteriores a essas abordagens terapêuticas.

#### **4.3.3. Metodologia Doppler transcraniano**

Para determinação da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral nas grandes artérias do Polígono de Willis, foi executada a ultrassonografia transcraniana, com a utilização do Doppler pulsado de 2 MHz, com sonda acústica infantil. Foi usado protocolo baseado nos critérios sugeridos pelos pesquisadores do estudo “*Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia*” (STOP), (**Anexo 5**). A pesquisadora deste estudo recebeu treinamento técnico na Faculdade de Medicina da Geórgia/EUA e realizou todos os exames de DTC das crianças da amostra.

O rastreamento pelo Doppler transcraniano foi oferecido a todas as crianças já em acompanhamento e a partir dos dois anos de idade, com a criança sem evento clínico, em ausência de febre e em vigília. Os exames foram realizados a partir de dezembro de 2006, ocasião da compra do equipamento pela Fundação Hemominas, com recursos do Ministério da Saúde (MS).

Os resultados dos testes do DTC foram estratificados de acordo com a classificação proposta pelo estudo STOP, acrescentando-se a recomendação de se incluir a VMM na artéria cerebral anterior  $\geq 170$  cm/s como também representando risco elevado de desenvolvimento de AVC isquêmico (Kwiatkowski et al., 2004):

**a. Teste Doppler Normal = baixo risco:** todas as velocidades médias máximas de fluxo sanguíneo cerebral menor que 170 cm/s, sendo necessária a insonação das ACMs (D e E) e das carótidas internas.

**b. Teste Doppler Condicional ou Intermediário baixo = certo aumento de risco:** velocidade média máxima entre 170-184 cm/s na ACM (direita ou esquerda) ou na artéria carótida interna (ACI).

**c. Teste Doppler condicional alto = aumento significativo de risco:** velocidade média máxima entre 185-199 cm/s em uma das ACMs ou na ACI

**d. Teste Doppler Anormal = risco alto:** velocidade máxima média maior ou igual a 200 cm/s em uma das ACMs ou na ACI; VMM em uma das artérias cerebrais anteriores (D ou E)  $\geq$  170 cm/s.

**e. Teste Doppler Inadequado = risco indefinido:** ausência de insonação das ACMs de um dos lados, estando o lado contralateral normal. Se a VMM de uma dessas artérias  $\geq$  200 cm/s, o exame é considerado anormal (risco alto). Velocidade do FSC nas ACMs  $<$ 70 cm/s também foi considerada como exame inadequado.

O teste anormal (risco alto) foi confirmado por dois outros exames com intervalo de uma a quatro semanas. Se a criança fosse então confirmada como de alto risco para desenvolvimento de acidente vascular cerebral, ela era encaminhada para tratamento preventivo primário do evento, com regime de transfusões sanguíneas regulares (manutenção da HbS  $\leq$  30%).

#### 4.3.4. Métodos estatísticos

Considerou-se 14% a incidência do teste DTC alterado em nosso meio, conforme estudo anterior que revelou 19 exames alterados em 139 crianças menores de 10 anos de idade (Silva et al., 2008). Utilizando-se o intervalo de confiança a 95% (incidência de 10% a 18%), seriam necessárias 288 crianças para o estudo (36 crianças por ano). Estimou-se em 20% a perda possível de casos, o que elevou para 355 o número de casos randomizados em 28/10/2008, Acrescentaram-se, dessa forma, 8-9 crianças em cada grupo anual.

As taxas de incidência dos eventos foram calculadas tendo como numerador o número de eventos observado no período (número de AVC, por exemplo) e como denominador o número de pacientes-ano, isto é a soma dos períodos de acompanhamento para cada paciente da amostra.

Medidas de tendência central foram calculadas para as variáveis basais hematológicas e para os escores z com cálculo de mediana, média e desvio padrão.

A associação entre variáveis nominais foi testada pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste exato de Fisher, quando uma das frequências esperadas era menor do que 5.

A possível associação dos resultados dos exames de DTC (normal, intermediário ou anormal) com variáveis contínuas cuja distribuição não fosse gaussiana foi verificada pelo teste de Kruskal-Wallis ou pelo teste de Mann-Whitney quando foram comparadas as crianças com DTC normal *versus* as com DTC alterados, mais aquelas que haviam desenvolvido AVC clinicamente manifesto. Caso as variáveis contínuas tivessem uma distribuição gaussiana, empregou-se a análise de variância, com teste de Bonferroni para avaliar quais



grupos diferiam entre si, ou o teste t de Student para comparar as médias de dois grupos em relação a uma variável contínua que apresentasse distribuição normal.

Análise multivariada foi utilizada para ajustar a força de associação das variáveis hematológicas, clínicas e antropométricas com os resultados do DTC, utilizando-se método de regressão logística, considerando-se os testes anormais e condicionais, mais as crianças com AVC clínico, como  $y=1$  e os normais como  $y=0$ .

As probabilidades acumuladas de um evento (AVC, por exemplo) foram calculadas utilizando-se as curvas de Kaplan-Meier com a opção “1 minus survival”. Elas foram comparadas estatisticamente com o teste de log rank.

As análises foram feitas no programa estatístico SPSS, versão 17.0, adotando-se como nível de significância estatística  $p \leq 0,05$ .

## 5. Artigo para submissão a periódico

### DETECÇÃO DO RISCO DE DOENÇA CEREBROVASCULAR PELO DOPPLER TRANSCRANIANO EM CRIANÇAS COM ANEMIA FALCIFORME

Célia Maria Silva, Mestre em Pediatria, Fundação Hemominas  
([celia.cmaria@gmail.com](mailto:celia.cmaria@gmail.com))

Poliana Giovani, Acadêmica de Medicina, Unifenas  
([polianagiovani@yahoo.com.br](mailto:polianagiovani@yahoo.com.br))

Marcos Borato Viana, Doutor em Pediatria, UFMG ([vianamb@gmail.com](mailto:vianamb@gmail.com))

#### Resumo

As complicações neurológicas na anemia falciforme (AF) são frequentes. Aproximadamente 11% das crianças até 20 anos podem ter acidente vascular cerebral (AVC). A realização de Doppler transcraniano (DTC) é importante meio para detecção de risco para AVC isquêmico. O objetivo deste estudo é verificar a incidência de AVC e de DTC alterado em crianças e determinar possíveis fatores de risco. **Materiais e Métodos:** Foi analisada uma coorte de crianças triadas pelo PETN-MG, com perfil FS, nascidas de 03/1998 a 12/2005 e acompanhadas no HBH até maio de 2009. Para realização do DTC foi feito um corte transversal randomizado de 300 crianças. Os exames foram realizados segundo o protocolo STOP, utilizando-se o DTC pulsado, com sonda de 2 MHz. As crianças com velocidade média máxima (VMM) do fluxo sanguíneo cerebral <170 cm/s nas artérias: cerebral média, carótida interna distal e cerebral anterior de ambos os lados foram classificadas como de risco baixo; se VMM entre 170-184 cm/s, risco intermediário baixo; se VMM de 185-199 cm/s, risco intermediário alto e se  $\geq 200$  cm/s, risco alto. **Resultados:** a média de idade foi 6,5 anos (2-11a); 150 meninas. Foram classificadas como de baixo risco 195 crianças (75,6%); 19 risco intermediário baixo (7,4%); 7 risco intermediário alto (2,7%) e 8 risco alto (3,1%); 11,2% dos exames foram inadequados. Sete crianças com risco elevado, após exames confirmatórios, iniciaram regime de transfusão “crônica” e uma, hidroxiureia. Uma, com baixo risco, desenvolveu AVC hemorrágico (angiografia cerebral normal). Treze crianças (4,8%) haviam sofrido AVC isquêmico antes da realização do DTC. A ocorrência de DTC alterado ou AVC clínico foi observada em crianças com

menor média de idade ( $p=0,002$ ). A probabilidade acumulada de ter AVC até 10 anos de idade foi de 9,5%; a de AVC+DTC alterado (riscos intermediários + alto) de 38,4%. Não houve diferença entre as crianças com DTC normal e as com DTC alterado+AVC, quando se analisaram a antropometria (comparação de médias de escores Z aos 3 anos de idade), ocorrência de sequestro esplênico agudo ( $p=0,13$ ) e síndrome torácica aguda ( $p=0,16$ ). As médias de hemoglobina foram inferiores nas crianças com DTC alterado+AVC ( $p<0,001$ ); as contagens de leucócitos e de reticulócitos foram superiores nas crianças com DTC alterado+AVC ( $p=0,006$  e  $p<0,001$ , respectivamente). Em análise multivariada a média de reticulócitos foi a única variável significativa ( $p=0,0002$ ). Observou-se aumento progressivo da velocidade do fluxo sanguíneo cerebral na artéria basilar das crianças com VMM aumentada nas ACMs ( $R= 0,59$ ;  $p<0,001$ ): 8 das 25 crianças com DTC alterado possuíam VMM basilar  $>130$  cm/s; entre as 186 com baixo risco, apenas 1 possuía VMM basilar  $>130$  cm/s ( $p<0,001$ ). **Conclusões:** a frequência de AVC clínico foi semelhante à da literatura e a de DTC alto risco, inferior. As probabilidades acumuladas de DTC alterado são altas e requerem atenção especial no seguimento de crianças com AF. A contagem elevada de reticulócitos foi o fator mais importante para predizer doença cerebrovascular (DCV). A VMM na artéria basilar  $>130$  cm/s é mais um fator preditivo de DCV.

**Apoio financeiro:** CNPq

**Palavras chaves:** falciforme, doença cerebrovascular, acidente vascular cerebral, Doppler transcraniano

## Introdução

A hemoglobina S é a alteração estrutural da hemoglobina mais frequente em todo o mundo<sup>1</sup> e resulta de uma mutação pontual na cadeia beta da globina. A incidência da doença falciforme em Minas Gerais é de, aproximadamente, 1 em cada 1.400 recém-nascidos<sup>2</sup>.

Anemia falciforme com o gene S em homozigose (Hb SS) é a hemoglobinopatia mais frequente e com cortejo sintomatológico mais exuberante e grave. A desoxigenação da hemoglobina S leva a sua polimerização com formação de cristais e filamentos que distorcem a membrana eritrocitária. A vasoclusão e hemólise respondem por diversas manifestações clínicas da doença falciforme: crises álgicas, atrofia progressiva do baço e diminuição da resposta imunológica às bactérias encapsuladas, déficit no crescimento, alterações cardiovasculares, entre outras<sup>3</sup>. Ela apresenta ampla variabilidade clínica. Estão implicados fatores genéticos, como co-herança do gene  $\alpha$ -talassemia, haplótipos, níveis de hemoglobina fetal e polimorfismos genéticos<sup>4</sup>, além de condições sócio-econômicas e localização geográfica.<sup>3</sup>

Estudos recentes têm mostrado que a disfunção endotelial é tão ou mais importante na fisiopatologia da doença falciforme, ou em pelo menos em alguns subfenótipos, do que a polimerização da hemoglobina eritrocitária (figura 1)<sup>5</sup>. Essa disfunção endotelial produzida pela hemólise acentuada, déficit de arginina e reduzida biodisponibilidade do óxido nítrico (NO) responderiam pela vasculopatia presente nos subfenótipos em que predominam as manifestações de hipertensão pulmonar, priapismo, úlceras de perna e, possivelmente, acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico. A baixa disponibilidade do NO, consumido pela hemólise e a liberação de arginase comprometem o balanço da homeostase regulada pelo NO, tendendo para a vasoconstrição.<sup>5,6</sup>

O AVC isquêmico ocorre em aproximadamente 11% dos indivíduos com anemia falciforme (HbSS) até os 20 anos de idade. A maior incidência é verificada na primeira década de vida, com risco mais elevado entre os dois e cinco anos de vida<sup>7</sup>. A incidência do AVC hemorrágico é menor nas crianças com doença falciforme, embora seja responsável por aproximadamente 3% dos casos nesta faixa etária.<sup>8</sup> O Estudo Cooperativo para Doença Falciforme (CSSCD) detectou como fatores de risco associados ao AVC isquêmico ataque isquêmico transitório (AIT) prévio, concentração de hemoglobina baixa, síndrome torácica aguda (STA) nas duas semanas anteriores ao AVC, número de STAs na história do paciente e aumento da pressão arterial sistólica.<sup>7</sup>

A base fisiopatológica para o AVC isquêmico ainda não está totalmente elucidada, provavelmente estando implicados fatores múltiplos. A vasculopatia com estenose dos grandes vasos cerebrais do polígono de Willis, mormente da parte distal da artéria carótida interna (ACI) e das regiões proximais das artérias cerebrais médias (ACM) e anteriores (ACA), é responsável pela maioria dos eventos agudos. O território da circulação posterior é geralmente poupado.<sup>9</sup>

A associação da vasculopatia envolvida no AVC com fatores “de risco” não está bem estabelecida. Entretanto, baixo nível de concentração de hemoglobina é fator de risco para desenvolvimento do evento e a presença da co-herança da  $\alpha$ -talassemia tem efeito protetor, pois aumenta a concentração da hemoglobina. Além disso, marcadores de hemólise como níveis elevados de desidrogenase láctica (LDH) e alanina aminotransferase (AST) seriam outros fatores de risco.<sup>10</sup>

Estudo que analisou os pacientes do estudo STOP<sup>11</sup> (*Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Disease*) verificou que a presença de deleção de um ou dois genes  $\alpha$ -talassemia (deleção de 3.7 kb  $-\alpha/\alpha$  e  $-\alpha/-\alpha$ ) estava associada com teste Doppler transcraniano (DTC) normal ( $<170$  cm/s), quando comparados aos pacientes que exibiram valores anormais ( $\geq 200$  cm/s).<sup>12</sup> Outro estudo mostrou que presença de deficiência de G6PD, ausência de traço  $\alpha$ -talassemia, níveis baixos de hemoglobina (Hb) e de LDH elevados foram fatores de risco independentes para velocidades do fluxo sanguíneo cerebral (FSC) anormalmente altos nos testes de DTC.<sup>13</sup>

Em 1990, Adams e colaboradores<sup>14</sup> estabeleceram os primeiros critérios para detecção de estenose nas grandes artérias cerebrais de crianças com anemia falciforme, através do DTC. Os segmentos arteriais com estenose comprovada em exames de imagem exibiam velocidade média que variou de 190 cm/segundo a 250 cm/segundo.

O exame de DTC apresenta boa segurança e é bem tolerado por crianças. O teste tem custo reduzido e pode ser realizado em ambulatório. Apresenta sensibilidade de 90% e especificidade de 100%, em relação à angiografia cerebral<sup>15</sup> que, embora considerada o teste padrão-ouro, apresenta riscos de complicações e exige preparo hematológico do paciente.

O estudo STOP<sup>11</sup>, estudo clínico controlado, randomizado e multicêntrico, tinha como objetivo principal verificar a eficácia da prevenção primária do AVC em crianças com doença falciforme, por meio de transfusão crônica. Foram rastreadas pelo DTC 1.934 crianças com doença falciforme (HbSS e HbS $\beta^0$ ) de dois anos a 16 anos de idade, sem história de AVC prévio. As 130 crianças que apresentaram FSC com velocidade média máxima (VMM) igual ou maior do que 200 cm/segundo (em dois exames) nas artérias cerebrais médias e/ou artérias carótidas internas foram aleatorizadas, ou para receber tratamento transfusional, ou para ficar em observação. No grupo transfundido, apenas um paciente evoluiu com AVC, enquanto que no grupo com tratamento conservador 11 evoluíram para AVC, diferença estatisticamente significativa. O estudo foi interrompido diante dessa evidência, sendo então oferecida hemotransfusão crônica a todas as crianças de risco elevado. Posteriormente foi observado que a elevação da VMM na artéria cerebral anterior ( $\geq 170$  cm/s) estava também associada com maior risco de desenvolvimento de AVC<sup>16</sup>.

O objetivo deste estudo foi detectar possível doença cerebrovascular (DCV) pelo teste de DTC e verificar fatores de risco na população de crianças triadas pelo PETN-MG e acompanhadas no Hemocentro de Belo Horizonte.

## **Materiais e Métodos**

Foi analisada uma coorte de crianças triadas pelo PETN-MG, com perfil FS, nascidas no período de 03/1998 a 12/2005 e acompanhadas no HBH até 05/2009. Para o teste DTC foi feito corte transversal randomizado de 300 crianças. Os exames foram realizados por um único pesquisador (CMS), após treinamento no *Medical College of Geórgia*, USA. Foi utilizado o protocolo STOP, com DTC pulsado e sonda de 2 MHz, com realização do teste Doppler completo, insonando-se 15 segmentos arteriais do polígono de Willis: segmento M1 da ACM e verificação de toda sua extensão de 2 em 2 mm, bifurcação da carótida interna, artéria carótida interna distal ou terminal, artéria cerebral anterior (ACA), artéria cerebral posterior (ACP), em ambas janelas transtemporais, e a artéria basilar na janela transforaminal<sup>11</sup>.

De acordo com a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral nas ACM e ACI, os exames foram assim classificados:

-VMM de 70 cm/s a 169 cm/s – teste DTC normal, com baixo risco para desenvolvimento de acidente vascular cerebral isquêmico;

-VMM entre 170 cm/s a 184 cm/s – teste DTC condicional ou intermediário baixo, com certo aumento de risco para AVC isquêmico;

-VMM entre 185 cm/s a 199 cm/s – teste DTC condicional ou intermediário alto, com significativo risco para AVC isquêmico;

-VMM maior ou igual a 200 cm/s – teste DTC anormal, com alto risco para AVC isquêmico;

- Ausência de insonação das artérias cerebrais médias de um dos lados, com o lado contralateral normal, VMM menor do que 70 cm/s em uma das artérias cerebrais médias ou ausência de janelas acústicas transtemporais – teste DTC inadequado com risco indefinido para AVC isquêmico pelo DTC.<sup>11</sup>

No caso das ACA, foram consideradas de alto risco as crianças com VMM  $\geq$  170 cm/s, não havendo grupos intermediários<sup>16</sup>.

Os exames anormais foram assim classificados após mais dois testes confirmatórios, com intervalos de uma a duas semanas.

Os dados clínicos resgatados dos prontuários clínicos padronizados, bem como os resultados dos testes DTC, foram armazenados em banco de dados específico para a pesquisa, no Programa Access 2007 da Microsoft. Para verificar a associação de variáveis nominais foi utilizado o teste exato de Fisher. Variáveis paramétricas foram comparadas com o teste t e as não-paramétricas com o teste de Mann-Whitney. As probabilidades acumuladas de um evento (AVC, por exemplo) foram calculadas utilizando-se as curvas de Kaplan-Meier com a opção “1 minus survival”. Elas foram comparadas estatisticamente com o teste de log rank. As análises foram feitas no programa estatístico SPSS, versão 17.0, adotando-se como nível de significância estatística  $p \leq 0,05$ .

## Resultados

*Dados gerais da casuística:* de 300 crianças elegíveis para realização do teste DTC, acompanhadas no HBH, no período de março de 1998 a maio de 2009, 271 realizaram o exame (26 não aderiram à convocação para o exame, dois responsáveis se recusaram a assinar o termo de consentimento para inclusão em pesquisa e um pai recusou a realização do teste DTC na filha). Cento e cinquenta crianças eram do sexo feminino e 121 do sexo masculino. A idade variou de dois a 11 anos com média de 6,5 anos.

*Incidência de acidente vascular clínico:* das 271 crianças, 13 (4,8%) haviam sofrido AVC isquêmico, antes da realização do teste DTC e uma (0,37%), AVC hemorrágico com teste normal dois meses antes do evento. Uma criança teve ataque isquêmico transitório (0,37%) e apresentou DTC anormal e condicional alto quando da confirmação do teste. A angiorressonância cerebral mostrou estenose de áreas segmentares das artérias cerebral média direita (D), cerebral anterior esquerda (E) e carótida interna E, além de sinais de infartos “silenciosos”. Uma criança, cujo DTC havia sido normal, faleceu devido a síndrome torácica aguda (STA).

As figuras 2-4 apresentam as curvas da probabilidade estimada, até os 10 anos de idade, de AVC (fig. 2); de AVC ou DTC de alto risco ( $\geq 200$  cm/s, fig. 3); e de AVC ou DTC alterado nos três níveis de risco (fig. 4).

*Estratificação de risco de doença cerebrovascular pelo teste DTC* (Tabela 1): excluídas as crianças com DTC inadequados e a criança que sofreu AVC hemorrágico, não houve diferença significativa quanto ao sexo, entre os grupos com DTC normal e aquelas com DTC alterados (médio risco, alto risco) mais AVC clinicamente expresso ( $p=0,1$ ). As crianças com DTC alterado mais as crianças com AVC clínico apresentaram idade significativamente mais baixa, com mediana de sete anos para o grupo de risco baixo (DTC normal) e mediana de 5,7 anos para as crianças com DTC alterado mais AVC ( $p=0,02$ ).

*Velocidades médias do fluxo sanguíneo cerebral nas artérias cerebrais médias:* observou-se correlação positiva entre as médias das velocidades nas artérias esquerda e direita ( $r$  de Pearson = 0,63,  $p<0,0001$ ; figura 5). Não houve diferença significativa entre as velocidades médias do FSC nas artérias cerebral média D (123,13 cm/s) e artéria cerebral média E (125,25 cm/s) das crianças com exame normal (VMM entre 70 cm/s e 169 cm/s). Para essa comparação, entretanto, não foi levada em conta a dominância do hemisfério cerebral de cada criança.

*Análise dos dados antropométricos* (Tabela 2): foram determinados os escores Z para peso/idade (WAZ), altura/idade (HAZ), peso/altura (WHZ) e índice de massa corporal (BMIZ) para todas as crianças com a idade de 3 anos, tomando como população de referência as curvas da OMS. Não houve diferença significativa quando se compararam as médias dos escores Z do grupo de crianças com DTC normal *versus* o grupo de crianças com testes DTC alterados (risco intermediário baixo e intermediário alto, risco alto e AVC

clínico):  $p=0,48$ ,  $p=0,94$ ,  $p=0,80$  e  $p=0,63$ , respectivamente, para HAZ, WAZ, WHZ e BMZI .

*Análise dos eventos síndrome torácica aguda (STA) e sequestro esplênico agudo (SEA):* durante os três primeiros anos de vida, 122 crianças tiveram pelo menos um episódio de STA e 119 crianças não apresentaram este evento agudo, excluídas desta análise as 29 crianças com DTC inadequado e a criança com AVC hemorrágico. Quando se compararam as crianças com risco baixo para AVC isquêmico (teste DTC normal) com as crianças que exibiram teste alterado (intermediário baixo e alto e anormal) mais aquelas que tiveram AVC isquêmico, não se detectou diferença na ocorrência de STA ( $p=0,16$ ; Tabela 3).

Durante o seguimento das 241 crianças (excluídas as mesmas 30 crianças), 76 haviam sofrido pelo menos um episódio de sequestro esplênico agudo (SEA) até os três anos de idade. Quando se analisou a ocorrência de SEA nos grupos estratificados para risco de desenvolvimento de AVC isquêmico, não se encontrou diferença significativa na ocorrência desse evento agudo ( $p=0,13$ ).

*Análise das variáveis hematológicas:* obtiveram-se dados de hemoglobina fetal em 257 crianças, após os dois anos de idade, ou imediatamente anterior a esta idade. Não se encontrou diferença significativa nos níveis de hemoglobina fetal quando se compararam as crianças com teste DTC normal com aquelas que apresentaram exames alterados ou AVC isquêmico ( $p=0,3$ ).

Observaram-se níveis mais elevados de hemoglobina total nas crianças com DTC normal do que nas crianças que tinham o teste DTC alterado ou AVC isquêmico ( $p<0,001$ ; figura 6).

Quando se compararam as médias do número global de leucócitos das crianças com teste DTC normal com as das crianças com teste alterado (risco intermediário baixo e alto e anormal) mais as crianças com AVC isquêmico, a leucometria foi significativamente mais elevada naquelas com DTC alterado ou que sofreram AVC isquêmico ( $p=0,006$ ; figura 7).

As médias para contagem de plaquetas das crianças com teste normal foi de  $400,2 \times 10^3/\text{mm}^3$  e  $400,4 \times 10^3/\text{mm}^3$  para o grupo de crianças com DTC alterado (riscos intermediários e anormais) mais AVC clínico, sem diferença significativa entre os grupos ( $p=0,89$ ).

A contagem do número de reticulócitos variou de 0,4% a 27,3% para as 271 crianças, apresentando média de 15,2%, mediana de 26,3% e desvio padrão de 4,86%. As crianças com teste DTC alterado (riscos intermediários e anormais) mais aquelas que tiveram AVC isquêmico apresentaram contagem reticulocitária mais elevada com diferença altamente significativa entre os dois grupos ( $p<0,001$ ; figura 8). Analisando-se as probabilidades estimadas da ocorrência de DTC alterado ou AVC clínico conforme a contagem de reticulócitos estratificada por quartis, nota-se que as crianças situadas no quartil superior têm uma probabilidade muito grande de ter doença



cerebrovascular até 10 anos de idade ( $63,7\% \pm 11,0\%$ ), relativamente àquelas com contagem reticulocitária situada no quartil inferior ( $10,5\% \pm 6,3\%$ ;  $p=0,00002$ , figura 9).

Na análise de regressão logística binária ( $y=1$ , crianças com DTC alterado ou AVC isquêmico e  $y=0$ , crianças com teste DTC normal), incluindo-se inicialmente no modelo as três variáveis hematológicas significativas na análise univariada, somente a contagem de reticulócitos permaneceu significativa ( $p=0,004$ ), pois constatou-se associação significativa entre contagem de reticulócitos e nível de hemoglobina e leucócitos.

*Análise da VMM na artéria basilar:* em 220 crianças nas quais a artéria basilar foi insonada no teste DTC (excluídas as que sofreram AVC e os testes inadequados), observou-se correlação positiva entre as médias das velocidades do fluxo sanguíneo cerebral na artéria basilar e artérias cerebrais médias ( $r$  de Spearman =  $0,59$ ;  $p<0,001$ ; figura 10). Estabelecendo-se o ponto de corte da VMM  $> 130$  cm/s na artéria basilar, observou-se que dos 9 casos nos quais a VMM na artéria basilar era superior a esta velocidade, 8 apresentaram alteração da VMM na artéria cerebral média. Por outro lado, dos 211 casos em que a artéria basilar apresentava VMM  $\leq 130$  cm/s, somente 25 tiveram alteração na VMM na artéria cerebral média ( $p<0,001$ ; Tabela 4; Figuras 11 e 12).

## Discussão

Este trabalho é representativo da população de crianças triadas pelo PETN-MG, acompanhadas no Hemocentro de Belo Horizonte, pois a amostragem para realização do teste DTC foi randomizada, com inclusão de crianças nascidas nos oito primeiros anos do programa de triagem neonatal. Verificou-se taxa de  $4,8\%$  de AVC isquêmico manifesto e estimativa de  $9,5\%$  até os 10 anos de idade. Quando se estimou a probabilidade de AVC clínico mais teste DTC anormal e intermediário alto, a taxa acumulada foi  $18,9\%$ , na população em estudo. No estudo Cooperativo para Doença Falciforme (CSSCD) foi observada taxa de  $4,01\%$  do evento, com risco de  $1,02\%$  por ano entre os dois e cinco anos de idade e estimativa de  $11\%$  até os 20 anos de idade.<sup>7,9</sup>

Em uma série de 226 casos de pacientes com Hb SS/S $\beta^0$  foram encontrados 24 pacientes ( $11\%$ ) com DTC considerados alterados (VMM  $\geq 200$  cm/s).<sup>17</sup> No presente trabalho, a taxa de testes DTC anormais (VMM $>200$  cm/s) foi de  $3,1\%$ , de  $10,1\%$  para resultados intermediários ou condicionais (intermediário baixo e alto), e  $75,6\%$  de exames normais. Assim, foram observadas taxas mais baixas de exames anormais e intermediários, embora as taxas de AVC isquêmico clínico tenham sido semelhantes às encontradas no CSSCD.<sup>7</sup>

Como o início do rastreamento das crianças foi em dezembro de 2006, certo porcentual de crianças com risco elevado não foi detectado, tanto assim que manifestaram o acidente vascular cerebral isquêmico antes do teste. Porém, ainda assim, as taxas ficam abaixo das relatadas em outros estudos. Uma possível explicação poderia ser a metodologia amostral utilizada, já que

este trabalho estudou uma amostra randomizada, representativa das crianças diagnosticadas precocemente pelo PETN-MG e acompanhadas no Hemocentro de Belo Horizonte, sem qualquer viés.

No programa de triagem neonatal de *Créteil* (França), observou-se taxa de 16,5% de probabilidade acumulada de teste DTC anormal ( $\geq 200$  cm/s) na população de crianças com Hb SS/S $\beta^0$  aos 5 anos de idade e de 23,1% até os 10 anos de idade.<sup>18</sup> Comparada com a probabilidade aos 10 anos, no presente estudo, de 14,7% de AVC+ DTC anormal, ela é bem maior no estudo de Créteil. Isso poderia denotar diferentes fatores de risco, como hemoglobina mais elevada na nossa população (por exemplo, uma maior frequência de alfa-talassemia) ou outros fatores genéticos, dada a composição étnica da população deste estudo. Questões que serão elucidadas com a realização de outros trabalhos e aumento do tamanho amostral.

O único acidente vascular cerebral hemorrágico ocorrido na amostra deste estudo está em consonância com os trabalhos da literatura que mostram incidência baixa do AVC hemorrágico em crianças.<sup>8,19</sup>

Verificou-se, na população deste estudo, 11,2% de exames inadequados, sendo 4,4% devido a ausência de janela acústica e 4% devido a não-cooperação da criança para a realização do teste. No estudo STOP<sup>11</sup> 5% dos exames foram inadequados.<sup>11</sup> Possivelmente, o maior número de exames inadequados foi consequência da pouca compreensão dos pais sobre a importância do teste como medida para prevenção primária do AVC isquêmico, aliada à não-disseminação do conhecimento do teste pelos profissionais médicos que prestam assistência ao paciente. Melhor adesão e cooperação foram obtidas em serviços que investiram na capacitação de profissionais e informações aos pais e cuidadores, além de vigilância aos esquemas de marcação dos exames.<sup>20,21,22,23</sup> Muitos pacientes foram recrutados especificamente para a realização do exame para este estudo, mesmo sendo a realização do teste parte do protocolo de atendimento aos pacientes com anemia falciforme, a partir de dois anos de idade.

As velocidades do FSC nas artérias cerebrais médias foram inferiores às relatadas na literatura: no presente estudo, 123,13 cm/s e 125,25 cm/s nas ACM D e na ACM E, respectivamente. Adams relata velocidade média de 140 cm/s na ACM, considerando criança de oito anos, com nível de hemoglobina de 7 g/dl e hematócrito de 21%.<sup>24</sup>

Como a população deste estudo apresentou nível de hemoglobina mais elevado e trata-se de amostragem randomizada de uma coorte proveniente de triagem neonatal, a diferença pode ser explicada pela metodologia do estudo.

Em estudo transversal, realizado em crianças quenianas, foram encontradas velocidades médias do fluxo sanguíneo cerebral com média de 120 cm/s. Nenhum exame foi classificado como de alto risco e apenas três foram considerados intermediários (VMM ou TAMM entre 170 cm/s e 199 cm/s). Os autores postularam que a história natural da anemia falciforme poderia ser diferente na África em comparação com os Estados Unidos e Europa<sup>25</sup>.

Embora haja associação de déficit de crescimento com baixos níveis de hemoglobina basal e gravidade da anemia falciforme<sup>26,27</sup>, não foram encontradas diferenças nos índices antropométricos para as crianças com DTC normal *versus* crianças com DTC alterado (riscos intermediário e alto) mais aquelas com AVC clínico. Não há relato de estudos nacionais ou internacionais abordando esse aspecto.

No CSSCD, a ocorrência de STA até duas semanas antes do AVC clínico, bem como a recorrência do evento, foram detectados como fator de risco.<sup>7</sup> No presente estudo, a associação de ocorrência de STA até os 3 anos de idade não constituiu fator para desenvolvimento de AVC ou determinação de DTC alterado. Da mesma forma, a ocorrência de SEA até os três anos de idade não constituiu risco para desenvolvimento de DTC alterado ou AVC clinicamente manifesto. Em recente estudo, Quinn et al.<sup>28</sup> também não encontraram associação entre os fatores de risco classicamente descritos no CSSCD<sup>29</sup> e evolução clínica desfavorável dos pacientes seguidos no programa neonatal de Dallas, EUA.

Entre as variáveis hematológicas, não houve diferença nos níveis de contagem de plaquetas ou de hemoglobina fetal após os dois anos de idade, entre as crianças com teste de DTC normal e aquelas com DTC alterado (riscos intermediários e risco alto) ou que sofreram acidente vascular isquêmico.

Em análise univariada, as médias mais baixas de hemoglobina, e mais elevadas de leucócitos globais e de contagem de reticulócitos foram altamente significativas como preditivas de teste DTC alterado ou AVC isquêmico. Em análise multivariada, somente a contagem elevada de reticulócitos permaneceu significativa. A probabilidade de se detectar, até os dez anos de idade, doença cerebrovascular nas crianças cujas contagens reticulocitárias situavam-se no quartil superior da distribuição da variável chegou a surpreendentes 64%! No CSSCD, a variável hematológica associada ao acidente vascular isquêmico foi o baixo nível de hemoglobina basal. Para o AVC hemorrágico, os fatores de risco foram baixo nível de hemoglobina basal e alta contagem leucocitária.<sup>7</sup>

No presente trabalho, não se estudaram variáveis laboratoriais indicadoras de hemólise elevada, como níveis de desidrogenase láctica, de bilirrubinas e alanina amino-transferase. Entretanto, a contagem reticulocitária, com alta significância estatística, coloca esta variável como importante fator de risco para desenvolvimento de DCV.

Está amplamente demonstrado pelos estudos na literatura que a VMM ou TMM do FSC nos segmentos arteriais (ACM e ACI  $\geq 200$  cm/s) é, atualmente, o maior fator de risco para desenvolvimento de AVC isquêmico.<sup>30</sup> Além disso, mais recentemente, a VMM do fluxo sanguíneo cerebral na ACA  $\geq 170$  cm/s, isoladamente ou em associação com aumentos das velocidades na ACM e ACI, também é considerada fator preditivo de DCV pelo teste DTC<sup>16</sup>. No presente estudo, observou-se associação de aumento da velocidade do fluxo sanguíneo na artéria basilar com as velocidades nas artérias cerebrais médias. Além disso, tomando-se como ponto de corte a velocidade na artéria basilar  $> 130$  cm/s, demonstrou-se que também a VMM nessa artéria possui valor

altamente preditivo de DCV. Em 9 pacientes com DTC alterado 8 apresentaram VMM na artéria basilar maior que 130 cm/s, enquanto que nos testes com VMM do fluxo sanguíneo cerebral nas ACMs normais apenas uma em 122 se apresentou com VMM na artéria basilar > 130 cm/s. Além disso, o exame do paciente em questão, em que apenas a artéria basilar apresentava a velocidade acima deste ponto de corte, exibiu importantes alterações ao exame de angiorressonância magnética, com estenoses segmentares nas artérias cerebrais médias e artéria carótida interna, além de imagens de “infartos silenciosos”.

Esses achados, não descritos na literatura, colocam a VMM na artéria basilar > 130 cm/s como mais um fator preditivo de DCV.

Em conclusão, no presente estudo a frequência de AVC clínico foi semelhante à da literatura e a de DTC de alto risco, inferior. A probabilidade acumulada de DTC alterado ( $\geq 170$  cm/s) foi alta e requer atenção especial no seguimento de crianças com anemia falciforme. A contagem elevada de reticulócitos foi o fator mais importante para predizer doença cerebrovascular. A VMM na artéria basilar >130 cm/s é mais um fator preditivo de DCV.

## Referências bibliográficas

1. Zago MA, Costa FF. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. *Trans R Soc Med Hyg* 1983; 79:385-388.
2. Januário JN. Incidência da doença falciforme em 1.000.000 de nascidos vivos em Minas Gerais (1998-2001) – MG (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina da UFMG – 2002.
3. Serjeant GR. *Sickle Cell Disease*. 2.<sup>a</sup> ed., Oxford: Oxford University Press, 1992.
4. Adams GT, Snieder H, McKie VC, Clair B, Brambilla D, Adams RJ, Kutlar F, Kutlar A. Genetic risk factors for cerebrovascular disease in children with sickle cell disease: design of a case-control association study and genomewide screen. *BMC Med Genet* 2003; 18:4:6.
5. Morris C. Mechanisms of Vasculopathy in Sickle Cell Disease and Thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 2008:177-185.
6. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev* 2007; 21:37-47.
7. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998; 91:288–294.

8. Powars D, Brian W, Imbus C, Pegelow C, Allen J. The Natural History of Stroke in Sickle Cell Disease. *American Journal of Medicine* 1978; 65(3):461-471.
9. Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. *Lancet Neurol* 2006; 5:501–512.
10. Lezcano NE, Odo N, Kutlar A, et al. Regular transfusion lowers plasma free hemoglobin in children with sickle-cell disease at risk for stroke. *Stroke* 2006; 37:1424–1426.
11. Adams RJ, McKie VC, McKie K, Hsu L, Files B, Vichinsky E, Pegelow C, Abboud M, Gallagher D, Kutlar A, Nichols FT, Bonds DR, Bramdilla D. Prevention of a first stroke in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *N Engl J Med* 1998; 339:5-11.
12. Hsu LL, Miller ST, Wright E, Kutlar A, McKie V, Wang W, Pegelow CH, Driscoll C, Hurler A, Woods G, Elsas L, Embury S, Adams RJ; Stroke Prevention Trial (STOP) and the Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD). Alpha Thalassemia is associated with decreased risk of abnormal transcranial Doppler ultrasonography in children with sickle cell anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003;25(8):622-628.
13. Bernaudin F, Verlhac S, Chevret S, Torres M, Coic L, Arnaud C, Kamdem A, Hau I, Grazia Neonato M, Delacourt C. G6PD deficiency, absence of alpha-thalassemia, and hemolytic rate at baseline are significant independent risk factors for abnormally high cerebral velocities in patients with sickle cell anemia. *Blood*. 2008 Nov 15; 112(10):4314-4317.
14. Adams RJ, Nichols FT, Aaslid R, McKie VC, McKie K, Carl E, Stephens S, Thompson WO, Milner P, Figueroa R. Cerebral Vessel Stenosis in Sickle Cell Disease: Criteria for Detection by Transcranial Doppler. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990; 12:277-282.
15. Adams RJ, Nichols FT, Figueroa R, McKie V, Lott T. Transcranial Doppler Correlation With Cerebral Angiography in Sickle Cell Disease. *Stroke* 1992; 23:1073-1077.
16. Kwiatkowski JL, Zimmerman R, Greenbaum B, Ohene-Frempong K. Stroke and elevated blood flow velocity in the anterior cerebral artery in sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26:323-326.
17. Bernaudin F, Verlhac S, Coïc L, Lesprit E, Brugières P, Reinert P. Long-term follow-up of pediatric sickle cell disease patients with abnormal high velocities on transcranial Doppler. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 242–248.
18. Verlhac S. Doppler transcrânien et protocole de prévention des accidents vasculaires cérébraux de l'enfant drépanocytaire. *Arch Pediatr* 2008; 15 :636-638.
19. Wolf M, Cangemi C, Drachtman R, Masterson M. Primary hemorrhagic stroke in a 12-old female with sickle cell disease and normal transcranial Doppler. *Pediatric Hematol Oncol* 2008; 25:451-456.
20. Adams RJ. Big strokes in small persons. *Arch Neurol* 2007;64(11):1567-1574.
21. McCarville MB, Goodin GS, Fortner G, Day SW, Li C, Adams RJ & Wang WC. Evaluation of a comprehensive transcranial Doppler screening program for children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50:818–821.

22. Hankins J, Hinds P, Day S, Carroll Y, Li CS, Garvie P, Wang W. Therapy preference and decision-making among patients with severe sickle cell anemia and their families. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48:705-710.
23. Katz ML, Smith-Whitley K, Ruzek SB, Ohene-Frempong K. Knowledge of stroke risk, signs of stroke, and the need for stroke education among children with sickle cell disease and their caregivers. *Ethn Health*. 2002; 7(2):115-123.
24. Adams RJ. TCD in sickle cell disease: an important and useful test. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 229–234.
25. Makani J, Kirkham FJ, Komba A, Ajala-Agbo T, Otieno G, Fegan G, Williams TN, Marsh K, Newton CR. Risk factors for high cerebral blood flow velocity and death in Kenyan children with Sickle Cell Anaemia: role of haemoglobin oxygen saturation and febrile illness. *Br J Haematol* 2009; 145(4):529-532.
26. Platt OS, Rosenstock W, Espeland MA. Influence of sickle hemoglobinopathies on growth and development. *N Engl J Med* 1984; 311(1):7-12.
27. Silva CM, Viana MB. Growth deficits in children with sickle cell disease. *Arch Med Res* 2002; 33(3):308-312.
28. Quinn CT, Lee NJ, Shull EP, Ahmad N, Rogers ZR, Buchanan GR. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell anemia: a study of the Dallas Newborn Cohort. *Blood* 2008; 111(2):544-5448.
29. Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ, Wethers DL, Smith J, Kinney TR. Prediction of Adverse Outcomes in Children with Sickle Cell Disease. *N Engl J Med* 2000; 342:83-89.
30. Wang WC. The pathophysiology, prevention, and treatment of stroke in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:191–197.

## TABELAS

**Tabela 1. Número de crianças com anemia falciforme, estratificadas segundo o risco para doença cerebrovascular**

<b>Risco de AVC e AVC clínico para as 271 crianças da coorte (258 com DTC)*</b>			
	<b>VMM ou TMM</b>	<b>n/N total</b>	<b>%</b>
Risco variável (DTC inadequado)	-	29/258	11,2
Risco baixo	70 a 169 cm/s	195**/258	75,6
Risco intermediário baixo	170 a 184 cm/s	19/258	7,4
Risco intermediário alto	185 a 199 cm/s	7/258	2,7
Risco alto	≥ 200 cm/s	8/258	3,1
Subtotal		258/258	100
Sem AVC isquêmico prévio	Com DTC	258/271	95,2
AVC isquêmico clínico	Sem DTC	13/271	4,8
Total		271/271	100

\* 13 crianças já haviam sofrido AVC isquêmico quando do início do estudo

\*\* Uma criança com DTC prévio normal sofreu AVC hemorrágico (1/271 = 0,37%).

**Tabela 2. Comparação entre escores Z dos índices antropométricos de crianças com risco baixo versus crianças com testes DTC anormais e crianças com AVC clínico**

<b>BR x R intermediário, R alto e AVC</b>	<b>N</b>	<b>Média</b>	<b>DP</b>	<b>Teste t</b>
HAZ grupo baixo risco	186	-0,08	0,91	P=0,48
HAZ grupo com DTC anormal + AVC	46	-0,19	1,09	
WAZ grupo baixo risco	194	-0,43	1,07	P=0,94
WAZ grupo com DTC anormal + AVC	48	-0,64	1,06	
WHZ grupo baixo risco	186	-0,62	1,04	P=0,80
WHZ grupo com DTC anormal + AVC	47	-0,81	1,12	
BMIZ grupo baixo risco	186	-0,62	1,04	P=0,63
BMZI grupo com DTC anormal + AVC	47	-0,78	1,17	



**Tabela 3. Comparação entre o número de ocorrência de STA, até os 3 anos de idade, entre os grupos de baixo risco *versus* os demais em 241 crianças com anemia falciforme\***

	STA não	STA sim	Total	Significância**
Risco 1 (baixo risco)	101	93	194	P= 0,16
Risco 2 (risco intermediário baixo)	6	13	19	
Risco 3 (risco intermediário baixo)	4	3	7	
Risco 4 (risco alto)	4	4	8	
Risco 5 (AVC isquêmico clínico)	4	9	13	
Total	119	122	241	

\*Excluídas as 29 crianças com teste de DTC inadequados e a criança com AVC hemorrágico;

\*\* Teste do qui-quadrado linear (“de tendência”)

**Tabela 4. Distribuição dos casos com VMM ou TMM na artéria basilar > 130 cm/s em crianças com DTC normal e crianças com teste DTC alterado (Riscos intermediários e alto)**

	<b>DTC Normal</b>	<b>DTC alterado</b>	<b>Total</b>	<b>P*</b>
VMM ou TMM ≤ 130 cm/s	186	25	211	<0,001
VMM ou TMM > 130 cm/s	1	8	9	
<b>Total</b>	<b>187</b>	<b>33</b>	<b>220</b>	

\* Teste exato de Fisher, bicaudal

# FIGURAS

## Espectro das complicações da Célula Falciforme

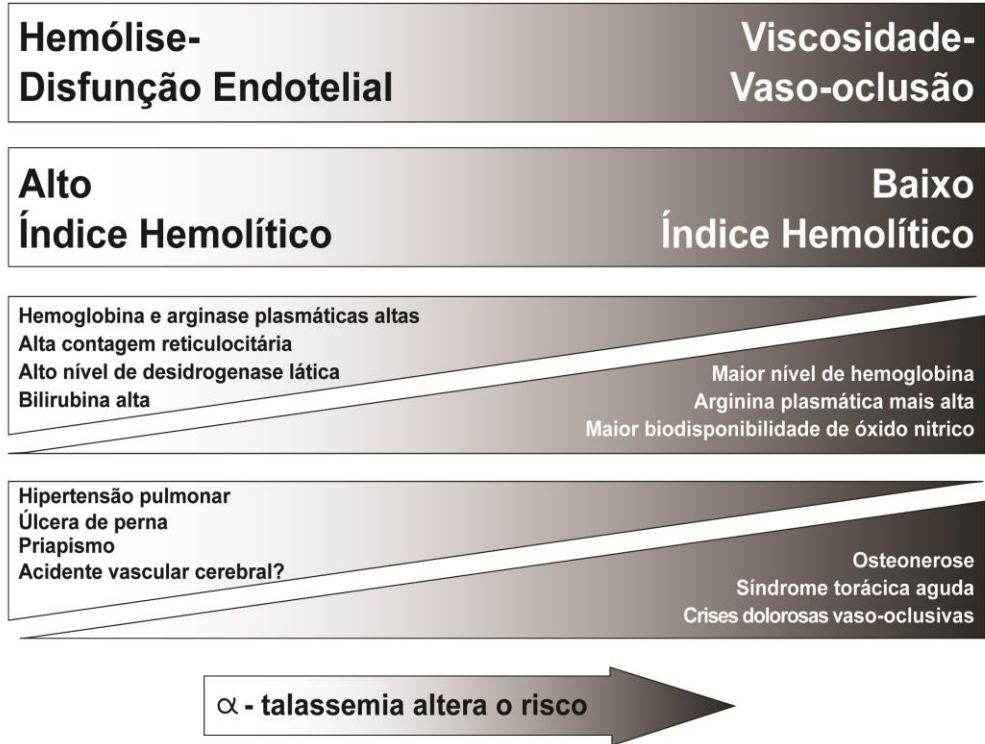


Figura 1. Subfenótipos da anemia falciforme<sup>5</sup>

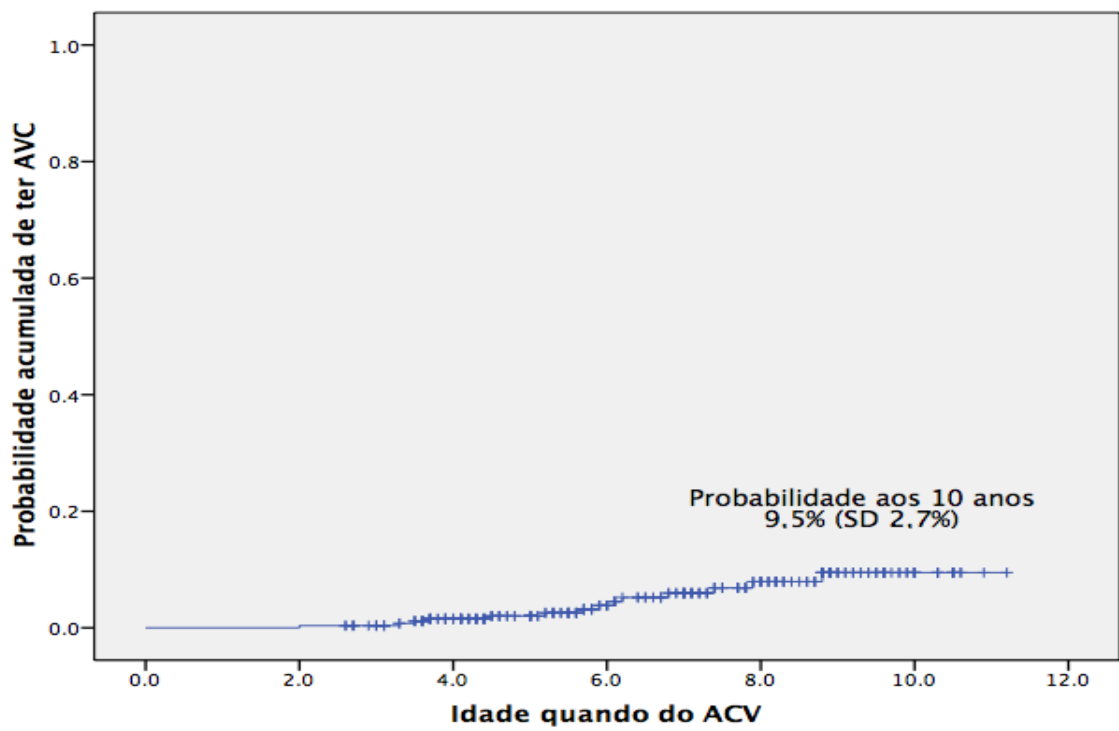


Figura 2. Probabilidade acumulada de desenvolvimento AVC até os 10 anos de idade

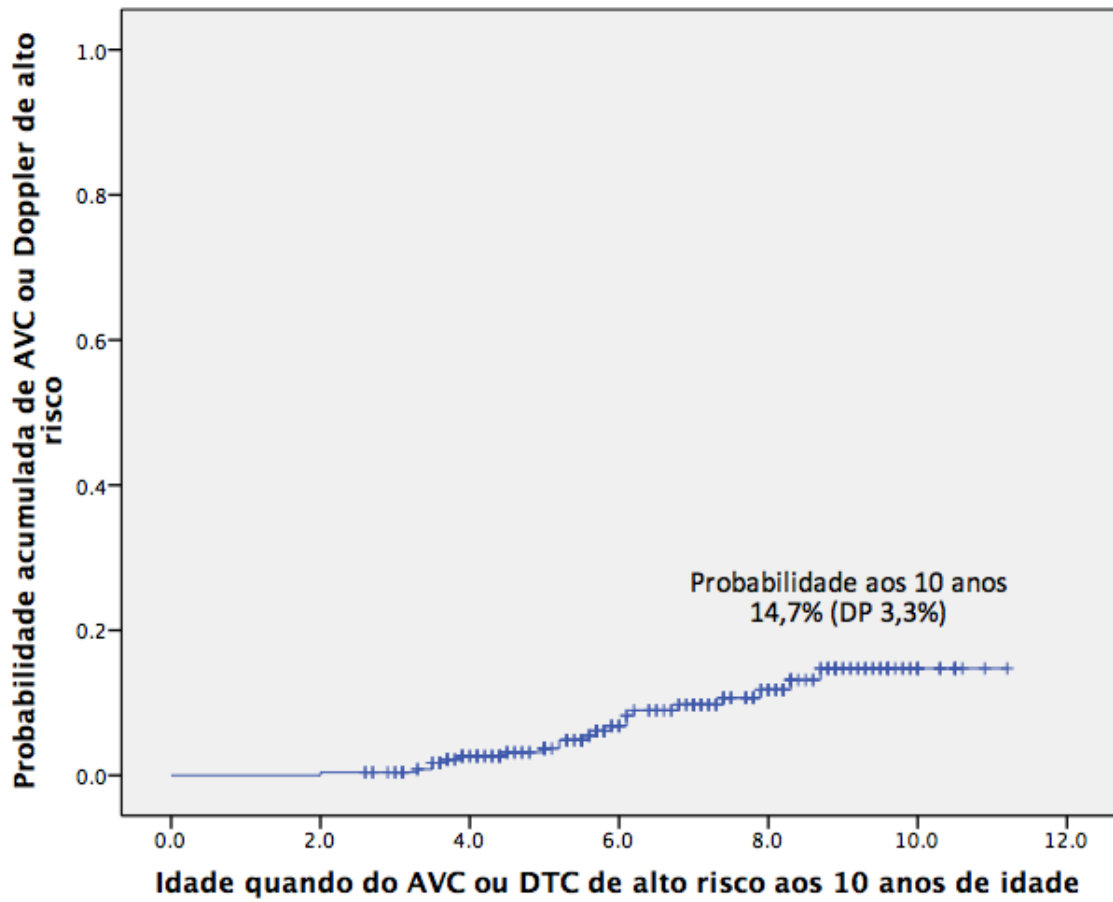


Figura 3. Probabilidade acumulada de ter AVC ou DTC alto risco ( $\geq 200$  cm/s) aos 10 anos de idade

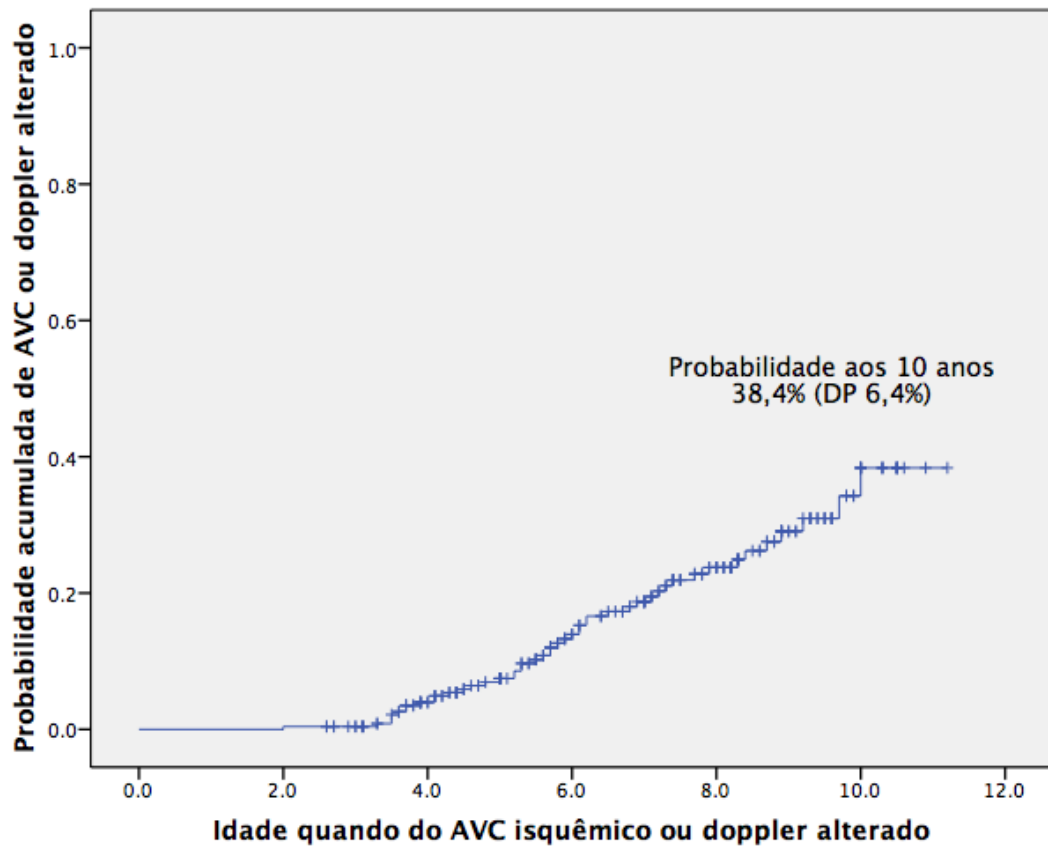


Figura 4. Probabilidade acumulada de ter AVC isquêmico ou DTC alterado aos 10 anos de idade

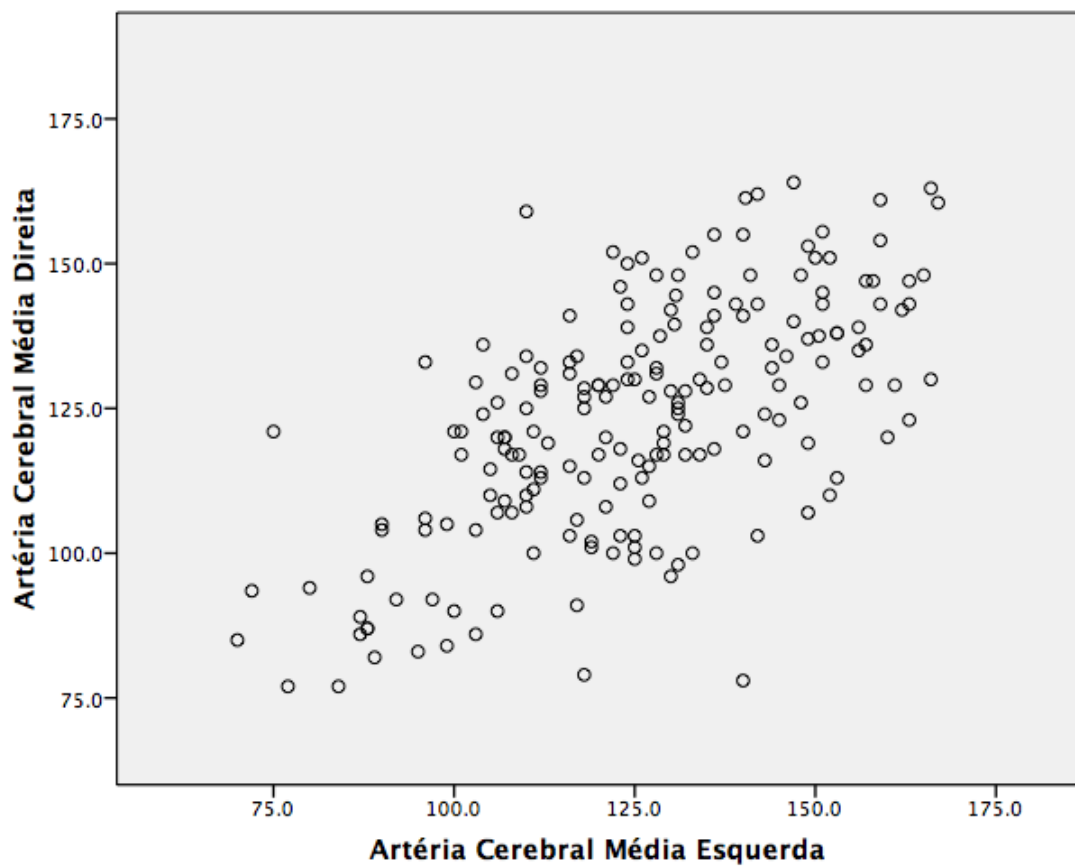


Figura 5. Correlação entre as VMM ou TAMM entre ACMD e ACME

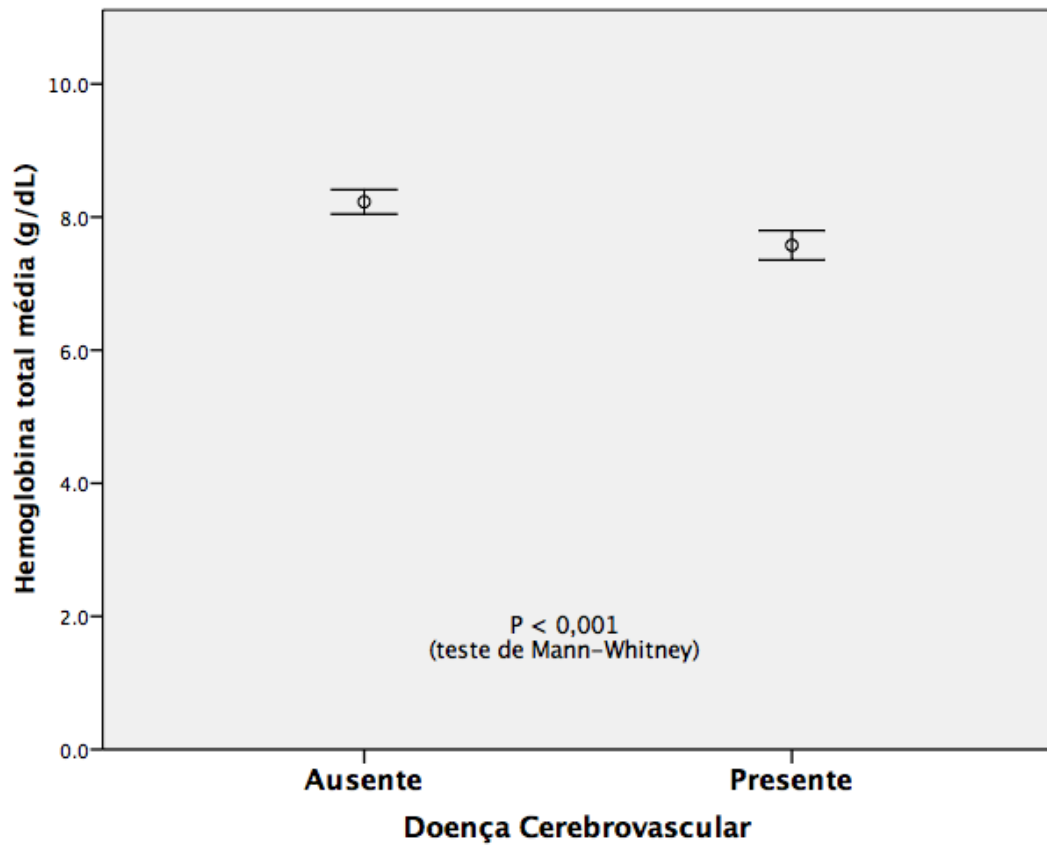


Figura 6. Média de hemoglobina basal nos pacientes com DTC normal (sem DCV) *versus* crianças com DTC alterado (riscos intermediários e risco alto) + AVC clínico



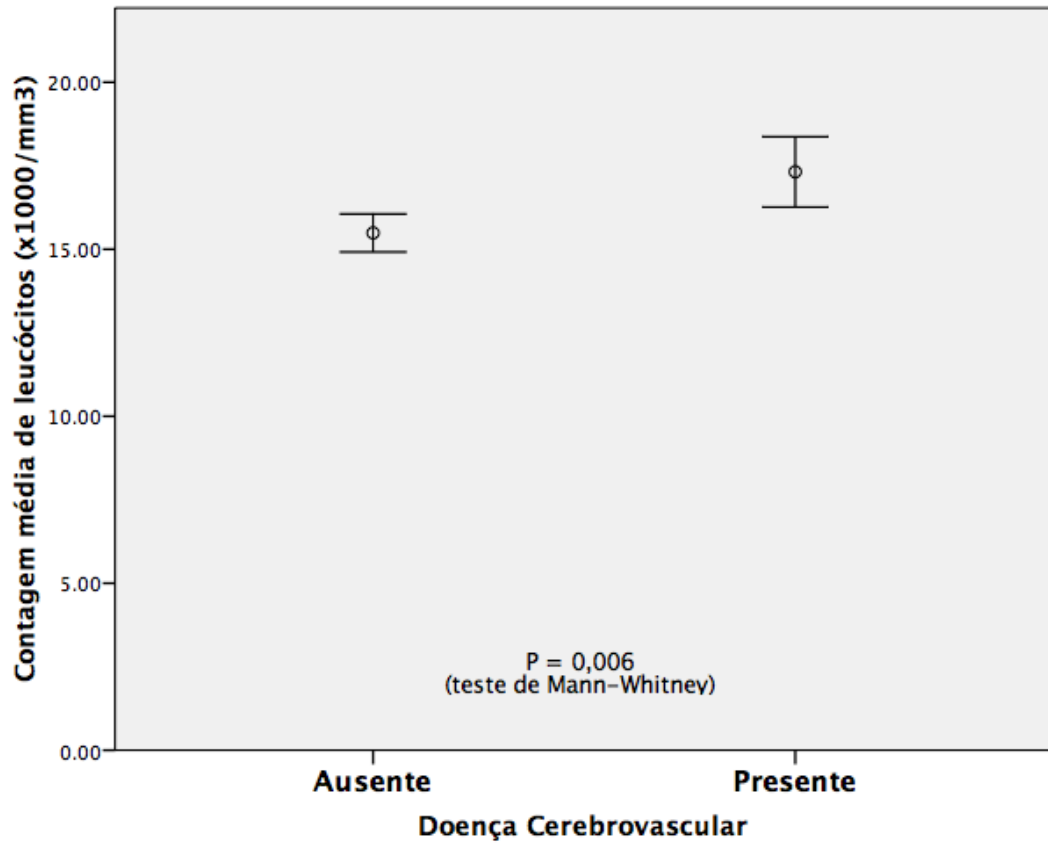


Figura 7. Média de contagem leucocitária nos pacientes com DTC normal (sem DCV) versus crianças com DTC alterado (riscos intermediários e risco alto) + AVC clínico

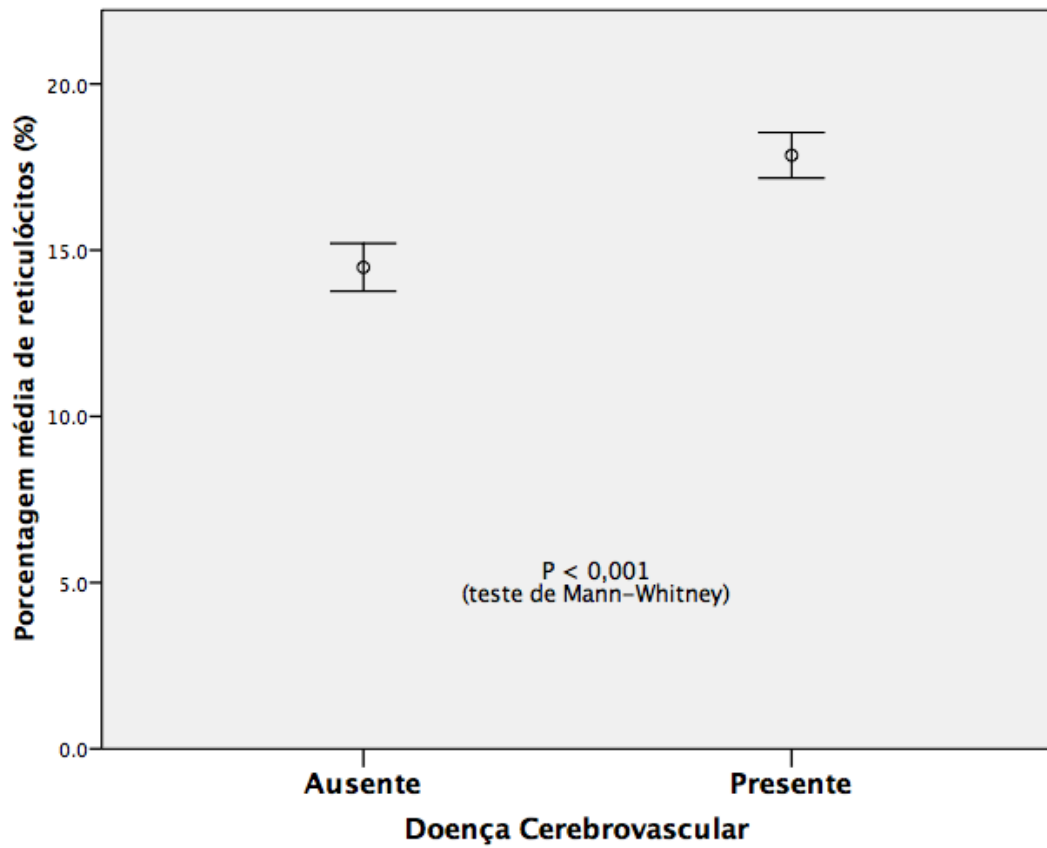


Figura 8. Comparação entre as médias de contagem reticulocitária entre as crianças com DTC normal *versus* as crianças com DTC alterado (riscos intermediários e risco alto) + AVC clínico

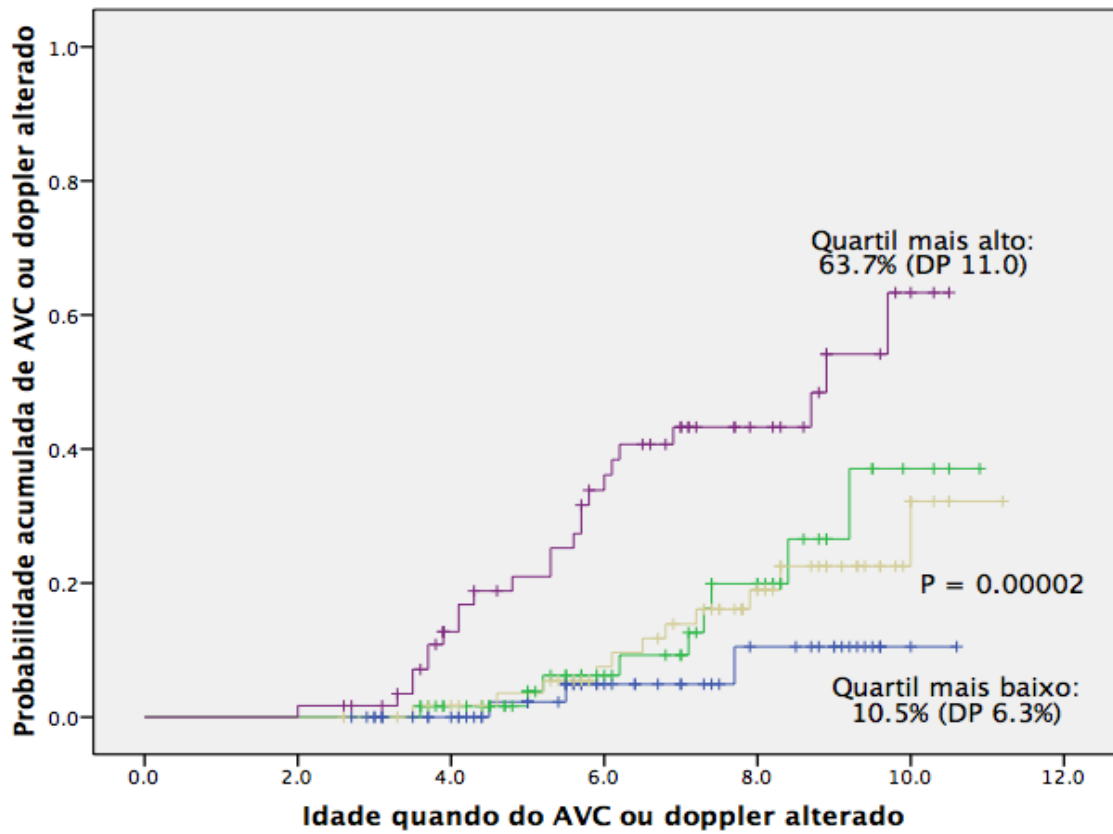
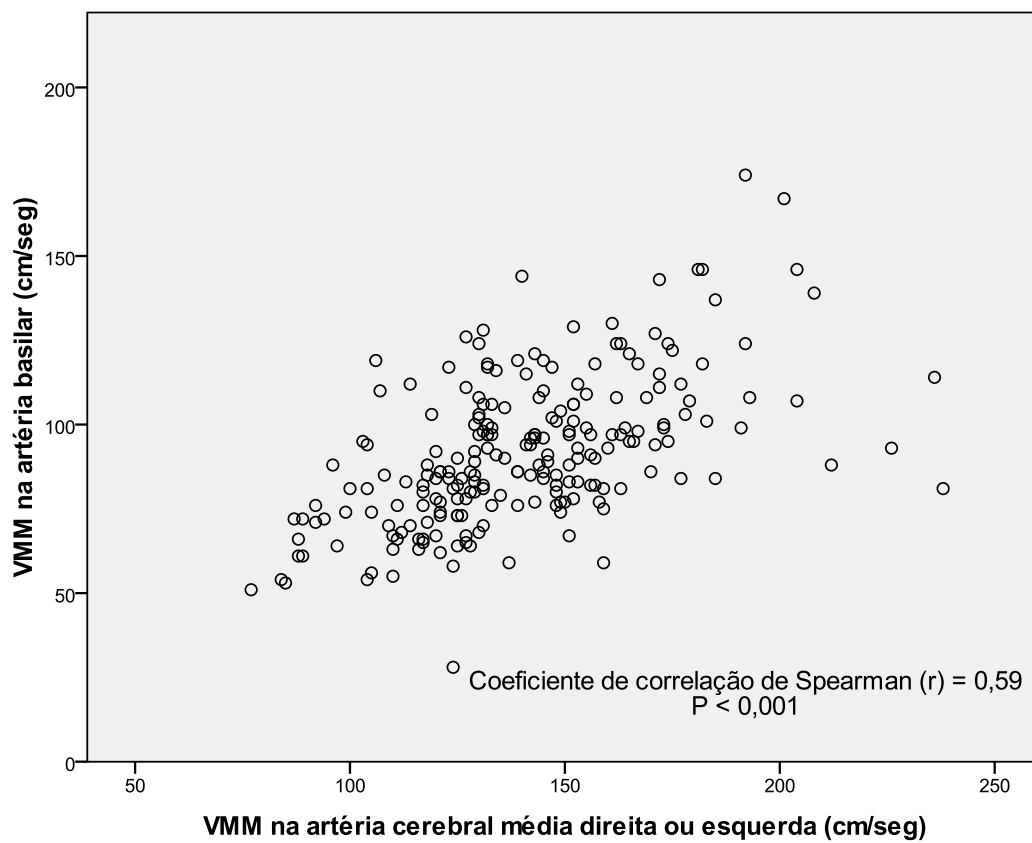


Figura 9. Probabilidade acumulada de ter AVC ou DTC alterado (riscos intermediários e alto risco) + AVC, segundo o quartil de reticulócitos



**Figura 10. Correlação entre a VMM na artéria basilar e em artéria cerebral média D ou E (a que tivesse maior VMM).**

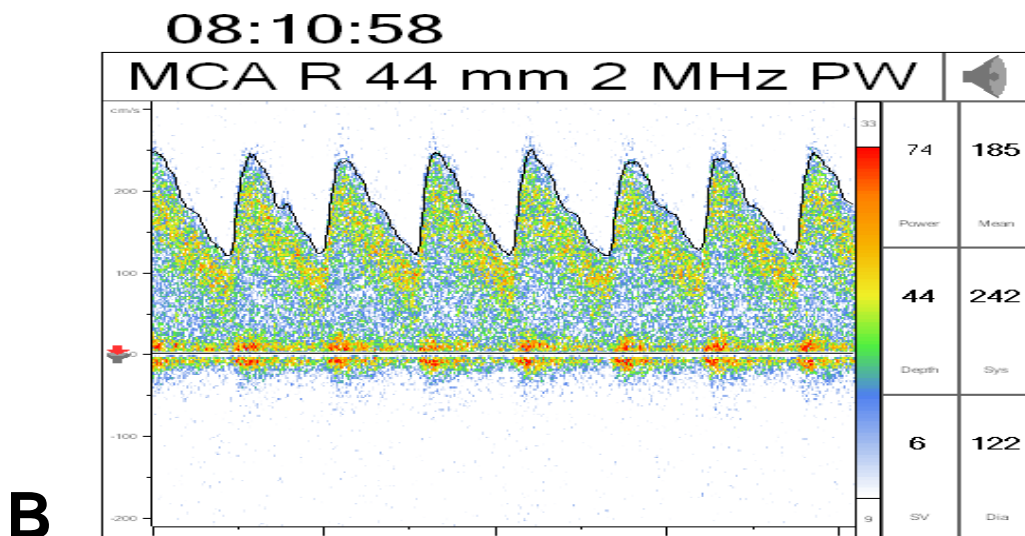
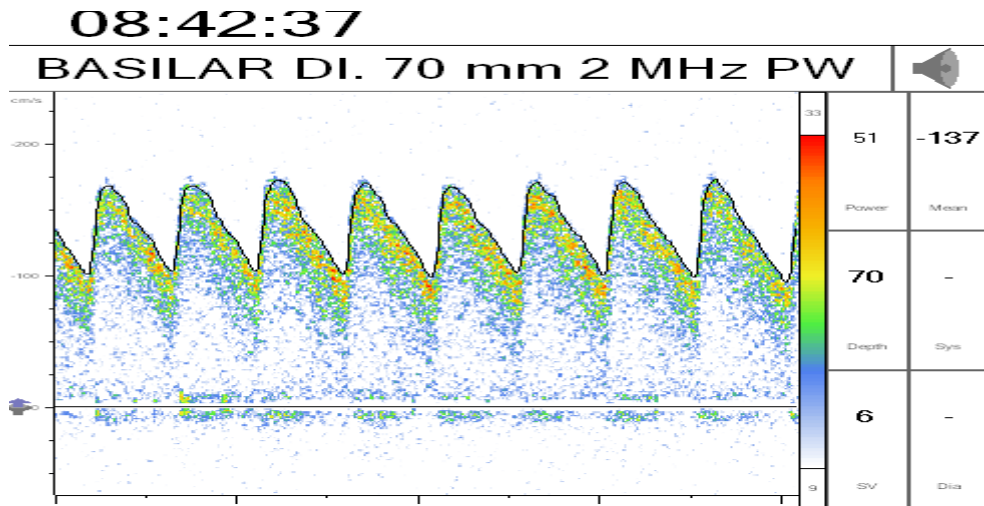
**A****B**

Figura 11. Doppler transcraniano no paciente PXF. Painel A: Artéria Basilar, VMM = 137 cm/s (elevada); Painel B: Artéria Cerebral Média direita, VMM = 185 cm/s (risco intermediário alto)

09:52:34

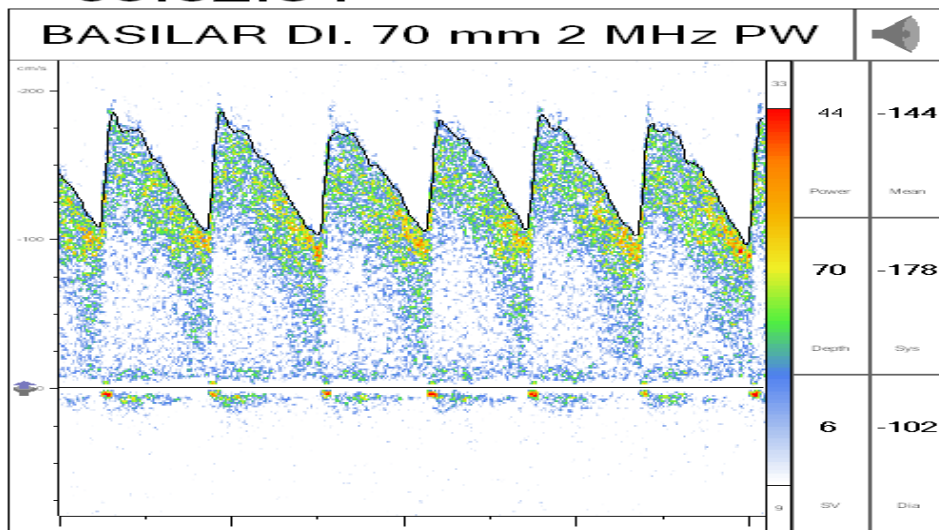


Figura 12: Doppler transcraniano no paciente TJSS; VMM da artéria basilar = 144 cm/s (elevada)

## 6. Perspectivas futuras

Os recentes avanços na compreensão da fisiopatologia da doença falciforme trazem contribuições importantes para a abordagem das complicações nas formas mais graves como a hipertensão pulmonar e a doença cerebrovascular.

O conhecimento de fatores de risco como hemólise acentuada, e detecção de risco elevado para o AVC isquêmico pelo DTC podem nortear as estratégias para modulação da doença e a redução das lesões a órgãos nobres como cérebro, rins e pulmões. Tratamentos modificadores da doença como o uso da hidroxiureia, das transfusões crônicas e do transplante de medula óssea não são isentos de risco e devem ser fundamentados em fatores de risco que apresentem alto valor preditivo para as crianças expostas. O tratamento padrão com transfusões sanguíneas seriadas reduz significativamente o risco para AVC, mas expõe as crianças aos efeitos colaterais indesejáveis como aloimunização e sobrecarga de ferro, além das dificuldades sociais de se realizarem transfusões a cada 3 ou 4 semanas. Se por um lado há redução de 90% do risco de desenvolvimento de AVC em 36% das crianças, as demais seriam expostas aos efeitos da terapia embora nunca fossem desenvolver a complicação.<sup>1,2</sup> Assim, a decisão por determinada modalidade terapêutica deve envolver a participação conjunta dos profissionais e responsáveis pelo paciente. Os estudos em andamento, BABY-HUG, SWiTCH e SIT<sup>3,4,5</sup> avaliam a preservação dos órgãos, o valor da hidroxiureia na prevenção secundária do AVC e o uso de transfusões crônicas para prevenção de infartos silenciosos,

respectivamente. Outros estudos devem ser conduzidos para comparar se há equivalência entre as transfusões seriadas e a hidroxureia na prevenção primária do AVC, após detecção de risco elevado pelo DTC. Pode-se, ainda, propor reduzir a idade de início do rastreamento pelo DTC, indicando-o em faixa etária abaixo de dois anos, principalmente nas crianças com história familiar de eventos graves. Recursos e pesquisas devem ser investidos para se agregar maior acurácia ao diagnóstico de risco elevado com oferta de exames de imagem como a ressonância magnética e angiorressonância magnética.

Os pacientes classificados em risco intermediário (ou condicional) devem ser submetidos a estudos pelo DTC com maior frequência, pela possibilidade de seus exames serem convertidos em risco alto e demandarem estratégias terapêuticas específicas.

Medidas simples no seguimento hematológico com realização de exames básicos como contagem reticulocitária e o rastreamento pelo DTC podem identificar os casos mais graves e apontar para exames complementares mais sofisticados em menor número de pacientes.

O envolvimento dos pais, sociedade e comunidade científica pode resultar na construção e sedimentação de saberes que minimizem as complicações e possibilite uma vida plena para os indivíduos com a doença falciforme.



## Referências

1. Adams RJ, McKie VC, Carl EM, Nichols FT, Perry R, Brock K, McKie K, Figueroa R, Litaker M, Weiner S, Brandilla D. Long-Term Stroke Risk in Children with Sickle cell disease screened with Transcranial Doppler. *Ann Neurol* 1997;42:699-704.
2. Verduzco LA, Nathan DG. Sickle cell disease and stroke. *Blood* 2009; 114:5117-5125.
3. Hankins JS, Fortner GL, McCarville MB, Smeltzer MP, Wang WC, Li CS, Ware RE. The natural history of conditional transcranial Doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2008; 142:94-99.
4. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006400?term=phase+iii+AND+organ+damage+AND+hydroxyurea+AND+sickle+cell+disease&rank=2>, acesso em 20/05/2009.
5. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00122980?term=Transfusion+changing+to+hydroxyurea+SWITCH&rank=1>, acesso em 18/05/2009.
6. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00072761?term=Silent+Cerebral++infarct+Multi-Center+Clinical+Trial&rank=1> acesso em 18/05/2009.

## 7. Referências gerais

1. Adams GT, Snieder H, McKie VC, Clair B, Brambilla D, Adams RJ, Kutlar F, Kutlar A. Genetic risk factors for cerebrovascular disease in children with sickle cell disease: design of a case-control association study and genomewide screen. *BMC Med Genet* 2003; 18;4:6.
2. Adams RJ, Brambilla D; Optimizing Primary Stroke Prevention in Sickle Cell Anemia (STOP 2) Trial Investigators. Discontinuing prophylactic transfusions to prevent stroke in sickle cell disease. *N Engl J Med* 2005; 353:2769-2778.
3. Adams RJ, McKie V, Nichols F, Carl E, Zhang D, McKie K, Figueroa R, Litaker M, Thompson W, Hess D. The use of transcranial Ultrasonography to predict stroke in sickle cell disease. *N Engl J Med* 1992; 326: 605-610.
4. Adams RJ, McKie VC, McKie K, Hsu L, Files B, Vichinsky E, Pegelow C, Abboud M, Gallagher D, Kutlar A, Nichols FT, Bonds DR, Bramdilla D. Prevention of a first stroke in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial doppler ultrasonography. *N Engl J Med* 1998; 339:5-11.
5. Adams RJ, Nichols FT, Aaslid R, McKie VC, McKie K, Carl E, Stephens S, Thompson WO, Milner P, Figueroa R. Cerebral Vessel Stenosis in Sickle Cell Disease: Criteria for Detection by Transcranial Doppler. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990; 12:277-282.

6. Adams RJ, Nichols FT, Figueroa R, McKie V, Lott T. Transcranial Doppler Correlation With Cerebral Angiography in Sickle Cell Disease. *Stroke* 1992; 23:1073-1077.
7. Adams RJ. Big strokes in small persons. *Arch Neurol* 2007; 64:1567-1574.
8. Adams RJ. TCD in sickle cell disease: an important and useful test. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 229–234.
9. Armstrong-Wells J, Grimes B, Sidney S, Kronish D, Shiboski SC, Adams RJ, Fullerton HJ. Utilization of TCD screening for primary stroke prevention in children with sickle cell disease. *Neurology* 2009; 72:1316-1321.
10. Bernaudin F, Verlhac S, Chevret S, Torres M, Coic L, Arnaud C, Kamdem A, Hau I, Neonato MG, Delacourt C. G6PD deficiency, absence of alpha-thalassemia, and hemolytic rate at baseline are significant independent risk factors for abnormally high cerebral velocities in patients with sickle cell anemia. *Blood* 2008; 112:4314-4317.
11. Bernaudin F, Verlhac S, Coic L, Lesprit E, Brugières P, Reinert P. Long-term follow-up of pediatric sickle cell disease patients with abnormal high velocities on transcranial Doppler. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 242–248.
12. Bode H, Eden A. Transcranial Doppler in children. *J Child Neurol* 1989; 4:S68-S76.

13. Bramdilla DJ, Miller ST, Adams RJ. Intra-individual variation in blood flow velocities in cerebral arteries of children with sickle cell disease. *Pediatric Blood Cancer* 2007; 49:318-322.
14. Bray GL, Muenz L, Makris N, Lessin LS. Assessing Severity in Children with Sickle Cell Disease. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994; 16: 50-54.
15. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Bejaoui M, Perrotta S, Agaoglu L, Aydinok Y, Kattamis A, Kilinc Y, Porter J, Capra M, Galanello R, Fattoum S, Drelichman G, Magnano C, Verissimo M, Athanassiou-Metaxa M, Giardina P, Kourakli-Symeonidis A, Janka-Schaub G, Coates T, Vermynen C, Olivieri N, Thuret I, Opitz H, Ressayre-Djaffer C, Marks P, Alberti D. A phase 3 study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006; 107:3455-3462.
16. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, McMahon RP, Bonds DR. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med* 1995; 1332:1317-1322.
17. Clinical Alert from the National Heart, Lung, and Blood Institute: Clinical alert. Bethesda, MD: National Heart, Lung and Blood Institute: Department of Health National Heart, Lung and Blood Institute: Department of Health & Human Services; Sept 18, 1997.
18. Fujioka KA, Douville CM. Anatomy and Freehand Examination Techniques. In *Transcranial Doppler*, Newel DW and Aaslid R, eds. Raven Press Ltd., New York, 1992.

19. Fullerton HJ, Adams RJ, Zhao S, Johnston SC. Declining stroke rates in Californian children with sickle cell disease. *Blood* 2004; 104:336–339.
20. Fullerton HJ, Gardner M, Adams RJ, Lo LC, Johnston SC. Obstacles to primary stroke prevention in children with sickle cell disease. *Neurology* 2006; 67: 1098-1099.
21. Gulbis B, Haberman D, Dufour D, Christophe C, Vermeylen C, Kagambega F, Corazza F, Devalck C, Dresse MF, Hunninck K, Klein A, Le PQ, Loop M, Maes P, Philippet P, Sariban E, Van Geet C, Ferster A. Hydroxyurea for sickle cell disease in children and for prevention of cerebrovascular events: the Belgian experience. *Blood* 2005; 105:2685-2690.
22. Hankins J, Hinds P, Day S, Carroll Y, Li CS, Garvie P, Wang W. Therapy preference and decision-making among patients with severe sickle cell anemia and their families. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48:705-710.
23. Hankins JS, Fortner GL, McCarville MB, Smeltzer MP, Wang WC, Li CS, Ware RE. The natural history of conditional transcranial Doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2008; 142:94-99.
24. Hassell K, Pace B, Wang W, Kulkarni R, Luban N, Johnson CS, Eckman J, Lane P, Woods WG; American Society of Pediatric Hematology Oncology. Sickle cell disease summit: from clinical and research disparity to action. *Am J Hematol.* 2009; 84:39-45.

25. Hsu LL, Miller ST, Wright E, Kutlar A, McKie V, Wang W, Pegelow CH, Driscoll C, Hurler A, Woods G, Elsas L, Embury S, Adams RJ; Stroke Prevention Trial (STOP) and the Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD). Alpha Thalassemia is associated with decreased risk of abnormal transcranial Doppler ultrasonography in children with sickle cell anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25:622-628.
26. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00006400?term=phase+iii+AND+organ+damage+AND+hydroxyurea+AND+sickle+cell+disease&rank=2>, acesso em 20/05/2009.
27. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00072761?term=Silent+Cerebral++infarct+Multi-Center+Clinical+Trial&rank=1> acesso em 18/05/2009.
28. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00122980?term=Transfusion+hanging+to+hydroxyurea+SWITCH&rank=1>, acesso em 18/05/2009.
29. Januário JN. Incidência da doença falciforme em 1.000.000 de nascidos vivos em Minas Gerais (1998-2001) – MG (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina da UFMG – 2004.
30. Jones A, Granger S, Brambilla D, Gallagher D, Vichinsky E, Woods G, Berman B, Roach S, Nichols F, Adams RJ. Can peak systolic velocities be used for prediction of stroke in sickle cell anemia? *Pediatr Radiol* 2005; 35: 66–72.
31. Jones AM, Seibert JJ, Nichols FT, Kinder DL, Cox K, Luden J, Carl EM, Bramdilla D, Saccente S, Adams RJ. Comparison of transcranial color

- Doppler imaging (TCDI) and transcranial Doppler (TCD) in children with sickle-cell anemia. *Pediatric Radiol* 2001; 31:461-469.
32. Kassab MY, Majid A, Farooq MU, Azhary H, Hershey LA, Bednarczyk EM, Graybeal DF, Johnson MD. Transcranial Doppler: An Introduction for Primary Care Physicians. *J Am Board Fam Med* 2007; 20:65–71.
33. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev* 2007; 21:37-47.
34. Katz ML, Smith-Whitley K, Ruzek SB, Ohene-Frempong K. Knowledge of stroke risk, signs of stroke, and the need for stroke education among children with sickle cell disease and their caregivers. *Ethn Health*. 2002; 7:115-23.
35. Kinney TR, Helms RW, O'Branski EE, Ohene-Frempong K, Wang W, Daeschner C, Vichinsky E, Redding-Lallinger R, Gee B, Platt OS, Ware RE. Safety of hydroxyurea in children with sickle cell anemia: results of the HUG-KIDS study, a phase I/II trial. *Pediatric Hydroxyurea Group. Blood* 1999; 94:1550-1554.
36. Kinney TR, Sleeper LA, Wang W, Zimmerman RA, Pegelow CH, Ohene-Frempong K, Wethers DL, Bello JA, Vichinsky EP, Moser FG, Gallagher DM, Debaun MR, Platt O, Miller S. Silent Cerebral Infarcts in Sickle Cell Anemia: A Risk Factor Analysis. *Pediatrics* 1999; 103:640-645.

37. Kirkham FJ, Hewes DK, Prengler M, Wade A, Lane R, Evans JP. Nocturnal hypoxaemia and central-nervous-system events in sickle-cell disease. *Lancet* 2001; 357:1656-1659.
38. Kwiatkowski JL, Granger S, Brambilla DJ, Brown RC, Miller ST, Adams RJ; STOP Trial Investigators. Elevated blood flow velocity in the anterior cerebral artery and stroke risk in sickle cell disease: extend analysis from the STOP Trial. *Br J Haematol* 2006; 134:333-339.
39. Kwiatkowski JL, Zimmerman R, Greenbaum B, Ohene-Frempong K. Stroke and elevated blood flow velocity in the anterior cerebral artery in sickle cell disease. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26:323-326.
40. Lee MT, Piomelli S, Granger S, et al. Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP): extended follow-up and final results. *Blood* 2006; 108:847-852.
41. Lezcano NE, Odo N, Kutlar A, Bramdilla D, Adams RJ. Regular transfusion lowers plasma free hemoglobin in children with sickle-cell disease at risk for stroke. *Stroke* 2006; 37:1424–1426.
42. Makani J, Kirkham FJ, Komba A, Ajala-Agbo T, Otieno G, Fegan G, Williams TN, Marsh K, Newton CR. Risk factors for high cerebral blood flow velocity and death in Kenyan children with Sickle Cell Anaemia: role of haemoglobin oxygen saturation and febrile illness. *Br J Haematol* 2009; 145:529-532.
43. Manci EA, Culberson DE, Yang YM, et al. Causes of death in sickle cell disease: an autopsy study. *Br J Haematol* 2003; 123: 359–65.



44. McCarville MB, Goodin GS, Fortner G, Day SW, Li C, Adams RJ & Wang WC. Evaluation of a comprehensive transcranial Doppler screening program for children with sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer* 2008; 50:818–821.
45. Michlitsch JG, Walters MC. Recent advances in bone marrow transplantation in hemoglobinopathies. *Curr Mol Med* 2008; 8:675-689.
46. Miller ST, Macklin EA, Pegelow CH, Kinney TR, Sleeper LA, Bello JA, DeWitt LD, Gallagher DM, Guarini L, Moser FG, Ohene-Frempong K, Sanchez N, Vichinsky EP, Wang WC, Wethers DL, Younkin DP, Zimmerman RA, DeBaun MR; Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Silent infarction as a risk factor for overt stroke in children with sickle cell anemia: A report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *J Pediatr* 2001; 139:385-390.
47. Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ, Wethers DL, Smith J, Kinney TR. Prediction of Adverse Outcomes in Children with Sickle Cell Disease. *N Engl J Med* 2000; 342:83-89.
48. Minniti CP, Gidvani VK, Bulas D, Brown WA, Vezina G, Driscoll MC. Transcranial Doppler changes in children with sickle cell disease on transfusion therapy. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004; 26:626-630.
49. Morris C. Mechanisms of Vasculopathy in Sickle Cell Disease and Thalassemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008; 2008:177-185.

50. Moser FG, Miller ST, Bello JA, Pegelow CH, Zimmerman RA, Wang WC, Ohene-Frempong K, Schwartz A, Vichinsky EP, Gallagher D, Kinney TR. The Spectrum of Brain MR Abnormalities in Sickle-Cell Disease: A Report from the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *AJNR* 1996; 17:965–972.
51. Nichols III FT, Adams RJ and Jones AM. TCD and sickle cell disease. In *Cerebrovascular Ultrasound in Stroke Prevention and Treatment*, Andrei V. Alexandrov ed., Blackwell Publishing, New York, 2004.
52. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998; 91:288–294.
53. Paixão MC, Ferraz MHC, Januário JN, Viana MB, Lima JM. Reliability of isoelectric focusing for hemoglobin S, C, and D detection in a pioneering population-based program of newborn screening in Brazil. *Hemoglobin* 2001; 25:297-303.
54. Pavlakis SG, Rees RC, Huang S, Brown RC, Casella JF, Iyer RV, Kalpatthi R, Luden J, Miller ST, Rogers ZR, Thornburg CD, Wang WC, Adams RJ. Transcranial Doppler ultrasonography (TCD) in infants with sickle cell anemia: Baseline data from BABY HUG trial. *Pediatr Blood Cancer* 2009; 54:256-259.
55. Platt OS, Rosenstock W, Espeland MA. Influence of sickle hemoglobinopathies on growth and development. *N Engl J Med* 1984; 311:7-12.

56. Powars D, Brian W, Imbus C, Pegelow C, Allen J. The Natural History of Stroke in Sickle Cell Disease. *American Journal of Medicine* 1978; 65:461-471.
57. Powars DR. Childhood stroke frequency decreased in California during 1999 and 2000. *Blood* 2004; 104:298-299.
58. Quinn CT, Rogers ZR, Buchanan GR. Survival of children with sickle cell disease. *Blood* 2004; 103:4023-4027.
59. Quinn CT, Lee NJ, Shull EP, Ahmad N, Rogers ZR, Buchanan GR. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell anemia: a study of the Dallas Newborn Cohort. *Blood* 2008; 111:544-548.
60. Quinn CT, Shull EP, Ahmad N, Lee NJ, Rogers ZR, Buchanan GR. Prognostic significance of early vaso-occlusive complications in children with sickle cell anemia. *Blood* 2007; 109:40-45.
61. Raphael J L, Shetty PB, Liu H, Mahoney DH, and Mueller BU. A Critical Assessment of Transcranial Doppler Screening Rates in a Large Pediatric Sickle Cell Center: Opportunities to Improve Healthcare Quality. *Pediatric Blood Cancer* 2008; 51:647-651.
62. Sarnaik SA. Sickle cell diseases: current therapeutic options and potential pitfalls in preventive therapy for transcranial Doppler abnormalities. *Pediatr Radiol* 2005; 35: 223–228.
63. Serjeant GR. *Sickle Cell Disease*. 2.<sup>a</sup> ed., Oxford: Oxford University Press, 1992.

64. Silva CM, Viana MB. Growth deficits in children with sickle cell disease. Arch Med Res 2002; 33:308-312.
65. Silva C, Borato M, Freitas A, Souza F, Amaro A, Braga M, Silva D, Cangussu C, Macedo D, Giovani P. Rastreamento de crianças com anemia falciforme (AF) pelo Doppler transcraniano (DTC) para detecção de risco de acidente vascular cerebral (AVC) – Experiência do Hemocentro de BH – Hemominas. Rev Bras hematol hemoter 2008;30(4):223-241.
66. Smith LA, Oyeku SO, Homer C, Zuckerman B. Sickle cell disease: a question of equity and quality. Pediatrics 2006; 117:1763-1770.
67. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, Orringer E, Bellevue R, Olivieri N, Eckman J, Varma M, Ramirez G, Adler B, Smith W, Carlos T, Ataga K, DeCastro L, Bigelow C, Sauntharajah Y, Telfer M, Vichinsky E, Claster S, Shurin S, Bridges K, Waclawiw M, Bonds D, Terrin M. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. JAMA 2003; 289:1645-1665.
68. Steinberg MH. Management of Sickle Cell Disease. N Engl J Med 1999; 340: 1021-1030.
69. Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. Lancet Neurol 2006; 5:501–512.

70. Thomas PW, Singhal A, Hemmings-Kelly M, Serjeant GR. Height and weight reference curves for homozygous sickle cell disease. *Arch Dis Child* 2000; 82:204-208.
71. Verduzco LA, Nathan DG. Sickle cell disease and stroke. *Blood* 2009; 114:5117-5125.
72. Verlhac S. Doppler transcrânien et protocole de prévention des accidents vasculaires cérébraux de l'enfant drépanocytaire. *Arch Pediatr* 2008; 15 :636-638.
73. Vichinsky EP, Luban NL, Wright E, Olivieri N, Driscoll C, Pegelow CH, Adams RJ; Prospective RBC phenotype matching in a stroke-prevention trial in sickle cell anemia: a multicenter transfusion trial. *Transfusion* 2001; 41:1086-1092.
74. Walters MC, Patience M, Leisenring W, Eckman JR, Scott JP, Mentzer WC, Davies SC, Ohene-Frempong K, Bernaudin F, Matthews DC, Storb R, Sullivan KM. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med* 1996; 335:369-76.
75. Wang WC. The pathophysiology, prevention, and treatment of stroke in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:191–197.
76. Ware RE, Zimmerman SA, Sylvestre PB, Mortier NA, Davis JS, Treem WR, Schultz WH. Prevention of secondary stroke and resolution of transfusional iron overload in children with sickle cell anemia using hydroxyurea and phlebotomy. *J Pediatr* 2004; 145:346-352.

77. Wolf M, Cangemi C, Drachtman R, Masterson M. Primary hemorrhagic stroke in a 12-old female with sickle cell disease and normal transcranial Doppler. *Pediatric Hematol Oncol* 2008; 25:451-456.
78. Zago MA, Costa FF. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. *Trans R Soc Med Hyg* 1983; 79:385-388.
79. Zimmerman SA, Schultz WH, Burgett S, Mortier NA, Ware RE. Hydroxyurea therapy lowers transcranial Doppler flow velocities in children with sickle cell anemia. *Blood* 2007; 110:1043-1047.

## **8. Anexos**

### **Anexo 1- ficha Doença Falciforme primeira consulta Hemominas**



Anexo 1- ficha Doença falciforme 1 consulta\_Hemominas.pdf

## **Anexo 2 – ficha consulta retorno Hemominas**



Anexo 2 - ficha\_Doenca\_Falciforme.retorno.pdf



### **Anexo 3 – interface Banco de Dados da Pesquisa**



Anexo 3 - FigBancoDados.pdf

## Anexo 4 – Termo de consentimento livre e esclarecido

### ***TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO***

Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96

Pesquisa: Estudo de marcadores genéticos (haplótipos do grupo do gene da globina beta e alfa talassemia) e a relação com os aspectos clínicos e hematológicos em pacientes pediátricos com doença falciforme acompanhados no Hemocentro Regional de Belo Horizonte – Fundação HEMOMINAS

A anemia falciforme é uma doença do sangue causada pela alteração na forma das hemácias, que ficam parecidas com foice, ao invés de ter a forma normal arredondada. Ela é uma doença genética, ou seja, o pai e a mãe podem transmitir para os filhos o gene alterado (hemoglobina S) que leva à doença. A doença falciforme causa diferentes sintomas nos pacientes, com casos mais leves e outros mais graves. A gravidade da doença pode ser prevista por avaliação clínica ou estar relacionada com características genéticas dos indivíduos. Nosso objetivo é estudar algumas destas características (dados clínicos como condições do pulmão, dos vasos cerebrais, coração, ossos e outros órgãos, dados hematológicos, ou seja, composição do sangue, fatores genéticos, como grupos de genes associados ao gene da HbS e alfa talassemia) que podem influenciar a doença falciforme. Alguns resultados poderão ajudar o médico a conhecer quais os pacientes terão maior risco de ter uma doença mais grave, e assim orientá-lo no tratamento mais adequado para evitar as possíveis complicações.

É por isso que nós pedimos sua autorização para incluir seu(sua) filho(a) nestes estudos. Caso você autorize, você não terá nenhum custo. Iremos colher um pouco de sangue da veia (5 ml) da criança para realizar os testes genéticos. A coleta de sangue será feita por um profissional treinado, mas, em alguns casos pode acontecer um hematoma (cor roxa) na região do braço onde a agulha foi introduzida. Caso seja feita uma coleta de sangue para exames referentes ao acompanhamento clínico, esta mesma amostra poderá ser usada para nossa pesquisa, sem necessidade de nova coleta. O material coletado ficará guardado no Laboratório de Pesquisa da Fundação Hemominas e será usado apenas para os fins propostos nestas pesquisas (identificação dos grupos de genes associados ao gene da HbS, e alfa talassemia). Será necessário coletar dados no prontuário do seu (sua) filho(a). Além disso, faremos a avaliação dos vasos sanguíneos cerebrais através do ultra-som transcraniano, exame simples que não provoca dor, para detecção de doença neurológica. Este exame será realizado no Ambulatório do Hemocentro de Belo Horizonte, como parte da avaliação clínica. Os resultados dos testes clínicos e genéticos serão anexados ao prontuário do participante. Na divulgação dos resultados, o nome da pessoa não será mostrado, garantindo sigilo e privacidade. Também é importante esclarecer que você tem toda a liberdade para decidir se quer ou não autorizar a participação do seu (sua) filho(a) nestas pesquisas. Se você não autorizar, ele não será prejudicado no atendimento, e se desistir durante a pesquisa não sofrerá nenhum prejuízo

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Conselho Nacional de Saúde, Resolução 196/96

Banco de amostras: caso você autorize, o material genético (DNA) recolhido para estes estudos poderá ser usado pelos mesmos pesquisadores envolvidos nestas pesquisas em futuras investigações com os mesmos objetivos: investigar marcadores genéticos que podem ter influência nas manifestações clínicas da doença falciforme. Neste caso, a amostra da criança será conservada sem prazo para descarte. Entretanto, o uso futuro deste material nunca será ligado a nenhum dado pessoal do participante. Você pode negar a permissão para o uso da amostra em estudos futuros, e ainda participar deste projeto. Se você autorizar o uso futuro da amostra da criança, qualquer novo estudo utilizando esta amostra deverá ser avaliado e autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação. Se a nova pesquisa não trazer benefícios ou riscos para o participante, você não será informado sobre seu uso. Portanto, marque com um x no quadrado abaixo sua decisão.

- Aceito que os pesquisadores guardem a amostra coletada para uso em estudos futuros.
- Não aceito que os pesquisadores guardem a amostra coletada para uso em estudos futuros.

Qualquer dúvida que você tiver, fale com Marina Lobato Martins ou Cibele Velloso Rodrigues no telefone 3248-4535, nos horários de 9:00 às 16:00h, para esclarecimentos.

Eu,

\_\_\_\_\_  
Responsável pelo menor \_\_\_\_\_,  
após esclarecimentos, autorizo o pesquisador a incluí-lo (a) nestes estudos.

Endereço Residencial

Rua: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_  
Cidade: \_\_\_\_\_ CEP: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_ do \_\_\_\_\_ pesquisador:

Local \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Pesquisadores responsáveis: Célia Maria Silva, Cibele Velloso Rodrigues, Marcos Borato, Marina Lobato Martins.

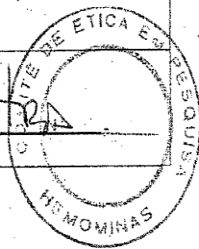
**Serviço de Pesquisa – Fundação HEMOMINAS: 3248-4535**

**Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas: 3248-4587**



**PARECER CONSUBSTANCIADO**

1. Título do Projeto de Pesquisa: Avaliação da gravidade da anemia falciforme em crianças triadas pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais.	
<b>SUJEITOS DA PESQUISA</b>	
2. Número de sujeitos No Centro: 363 Total: 363	3. Grupos Especiais: (x) Menor de 18 anos; ( ) Portador de deficiência mental ( ) Embrião/feto; ( ) Relação de dependência (militares, presidiários...) ( ) Outros; ( ) Não se aplica
<b>PESQUISADOR RESPONSÁVEL</b>	
4. Nome: Célia Maria Silva	
5. Instituição a que pertence: Fundação Hemominas	
<b>INSTITUIÇÃO (ÕES) ONDE SERÁ REALIZADO</b>	
6. Nome: Fundação Hemominas	
7. Unidade/Órgão: Ambulatório do Hemocentro de Belo Horizonte	
8. Participação Estrangeira: Sim ( ) Não (x)	
9. Projeto Multicêntrico: Sim ( ) Não (x) Nacional ( ) Internacional ( )	
<b>PATROCINADOR</b> Não se aplica (x)	
10. Nome:	
<b>COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP</b>	
11. Data de Entrada: 08/05/06	12. Registro no CEP: 143
13. Objetivos: Identificar variáveis clínicas e hematológicas que possam estar associadas com a severidade da anemia falciforme em crianças, buscando estabelecer critérios para indicação precoce de tratamentos mais eficientes para crianças com doença grave.	
14. Sumário do Projeto: Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo e retrospectivo, de crianças com diagnóstico de anemia falciforme que foram triadas pelo Centro de Referência em Triagem Neonatal do Estado de Minas Gerais (NUPAD/UFMG) e que são atendidas no Ambulatório do Hemocentro de Belo Horizonte (Fundação Hemominas). O número de crianças identificadas com anemia falciforme é de 363, podendo ser incluídos novos casos com a triagem de outros recém-nascidos no período do estudo. Os prontuários dos participantes serão avaliados para avaliação dos dados clínicos e hematológicos. Será realizado o exame Doppler de ultrassonografia transcraniana em crianças acima de dois anos de idade como indicador de doença cerebrovascular e risco de acidente vascular cerebral. Todos os dados serão analisados para identificação daqueles associados com severidade da doença, buscando-se estabelecer critérios terapêuticos para atuação precoce nos casos com indicadores de doença grave.	
15. Comentário dos Relatores:  Após adequações, o projeto foi considerado aprovado.	
16. Parecer:	
Aprovado (x)	Pendência ( )
Data: 04/09/06	Data:
Não Aprovado ( ) Data:	
17. Encaminhamento a CONEP: Os dados acima para registro ( ) O projeto para apreciação ( ) Data:	18. Coordenador  <i>Susie Dutra</i> Assinatura Susie Dutra Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa Fundação Hemominas



## **Anexo 5 – Procedimento operacional padrão (Pop) para o teste DTC**

### **PROTOCOLO PARA REALIZAÇÃO DE EXAME ULTRASONOGRÁFICO DOPPLER TRANSCRANIANO (DTC)**

1. Dados e identificação do paciente
2. Meça e registre o diâmetro bitemporal da criança
3. Posicionamento do paciente e aparelho:
  - a. O examinador deve se posicionar atrás da cabeceira do paciente.
  - b. Cada examinador encontrará a sua zona de maior conforto
4. Posição do paciente:
  - a. Criança (ou paciente) em posição supina, com toalha dobrada sob a cabeça para maior conforto
  - b. Permita que a criança veja a tela inicialmente
5. Equipamento:
  - a. O aparelho deve apresentar o protocolo padrão (*STOP study*).
  - b. A tela do TCD deve apresentar boa visão para o observador
  - c. Registro para a janela transtemporal (direita/esquerda)
6. Mantenha um quadro com as artérias do polígono de *Willis*: a medida do diâmetro ajudará no cálculo da profundidade de cada artéria a ser estudada
7. Para cada segmento arterial a ser registrado use os três passos seguintes:

- a. Identifique a artéria (isto significa que você deve saber onde você está)
- b. Otimize o sinal (isto significa que a escala esteja de tal forma que o pico sistólico alcance aproximadamente  $\frac{3}{4}$  da tela onde se registra a onda espectral e o sinal do ruído seja tão bom quanto possível. A linha zero (*baseline*) deve estar no meio da tela. Enquanto cada registro do sinal deve ser legível, esforço especial deve ser feito para otimizar quando registrar os sinais referentes aos segmentos arteriais referidos no protocolo (STOP I): segmento MCA-1 mais superficial (*shallowest*), MCA (artéria cerebral média), BIF(bifurcação da carótica interna = MCA/ACA), ACA (artéria cerebral anterior) dICA (artéria carótida interna distal), PCA (artéria cerebral posterior) e TOB (tope da artéria basilar)
- c. Registre e marque depois da identificação e da otimização do sinal
- d. A BIF (MCA/ACA) é o ponto de referência importante para identificação dos segmentos arteriais

8. Verifique as funções no controle remoto e/ou teclado:

- registros para o lado temporal (janela transtemporal D/E)
- direção do fluxo ( em direção à sonda, ou oposto à sonda)
- profundidade da amostra do volume (*depth of sample volume*)
- amostra do volume (*sample volume-4 a 6mm*)
- ganho (*gain* permite manter boa relação entre sinal e ruído)
- linha delimitadora da forma da onda (*wave form follower*) em “on”

- Display de onda espectral 250 cm/s

9. Identificação da artéria (significa que você sabe onde está dentro do polígono *Willis*):

- Coloque a sonda sobre a janela temporal
- As crianças têm os ossos do crânio finos e pode haver múltiplas janelas
- Deslize delicadamente para localizar o melhor sinal
- A porção posterior da janela temporal é mais acessível
- Primeiro localize a bifurcação BIF (MCA/ACA) e salve duas fotos.
- Através deste ponto de referência, aumente e diminua a profundidade para localizar todos os vasos do polígono de *Willis*

10. Otimize o sinal

- O envelope envolve a forma da onda (*envelope follower*)
- Melhore sinal do som (pouca interferência, pouco ruído)
- O ganho (*gain*) permite maximizar o sinal

11. O exame transtemporal permite o acesso à: MCA (artéria cerebral média, segmento MCA-1 e MCA em toda sua extensão desde o segmento mais superficial até a bifurcação), ACA (artéria cerebral anterior), ICA (porção distal da artéria carótida interna), e PCA (artéria cerebral posterior)

O diâmetro da cabeça deve ser conhecido para localizar o local de referência (isto é, 120 mm; linha média = 60 mm; bifurcação = 50 mm).

***I. Artéria cerebral média:***

- M-1 segmento: parte mais superficial da artéria cerebral média, acesse a bifurcação e vá para a profundidade mais superficial
- O fluxo é em direção à sonda (seta vermelha)
- Sinal é identificado à profundidade de 30-40 mm
- MCA segmento: do ponto mais superficial até a bifurcação com aumento de 2 mm em 2mm
- Continue a otimizar o sinal

***II. Bifurcação da artéria carótida interna:***

- Registro da BIF
- MCA fluxo em direção da sonda acima da linha zero (baseline)
- ACA fluxo oposto à sonda abaixo da linha zero (baseline)
- A MCA e a ACA devem ser otimizadas para igual intensidade acima e abaixo da linha de base



III. **Artéria cerebral anterior:**

- Registro da artéria cerebral anterior
- O fluxo é oposto à sonda (seta azul)
- Aumente a profundidade de 4mm
- Esta artéria é de acesso difícil!
- Angule a sonda ligeiramente (anterior e superiormente)
- Não ultrapasse a linha média

IV. **Artéria carótida interna distal:**

- Registro da dICA
- O fluxo é em direção à sonda
- Retorne à profundidade da bifurcação
- Aumente a profundidade em 4mm
- Angule a sonda ligeiramente inferior

V. **Artéria Cerebral Posterior:**

- Registro da PCA
- O fluxo é em direção à sonda
- Retorne à bifurcação
- Aumente a profundidade em 4 mm
- Angule a sonda posteriormente.

**VI. Topo da Basilar:**

- Registro da TOB
- O fluxo é bidirecional.

**VII. Artéria Basilar (salve duas fotos)**

- Registro da BAS
- O fluxo é oposto à sonda

O procedimento é todo repetido para o lado esquerdo (janela transtemporal esquerda).

12. Exame suboccipital ou transforaminal: dá acesso à circulação posterior, incluindo as artérias vertebrais intracranianas e artéria basilar.

A criança deve deitar de lado e flexionar a cabeça até o queixo tocar o tórax (levemente, não flexionar o pescoço, pois assim o forame magno se fecha).

- Geralmente a profundidade é 70 mm-74 mm
- O fluxo é oposto à sonda
- Coloque o transdutor na base do crânio alvejando o espaço entre as sobrancelhas.
- Registre o sinal da artéria basilar em duas profundidades alcançado a velocidade máxima do sinal

O procedimento é todo repetido para o lado esquerdo

**Tabela 1 – Profundidade das amostras para insonação dos segmentos arteriais, segundo estudo STOP**

Polígono de Willis (profundidade da amostra = <i>depth</i> )						
Diâmetro bitemporal (cm)	MCA	MCA-1	BIF	ACA	PCA	dICA
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
11	30-48	30-36	46-50	46-54	40-56	50-54
12	30-54	30-36	50-54	50-58	40-60	54-58
13	30-58	30-36	52-58	52-62	42-66	56-62
14	34-62	34-40	56-64	56-68	46-70	60-68
15	40-66	40-46	56-66	56-72	50-76	60-70

**Pontos de referência para o teste DTC segundo estudo STOP**

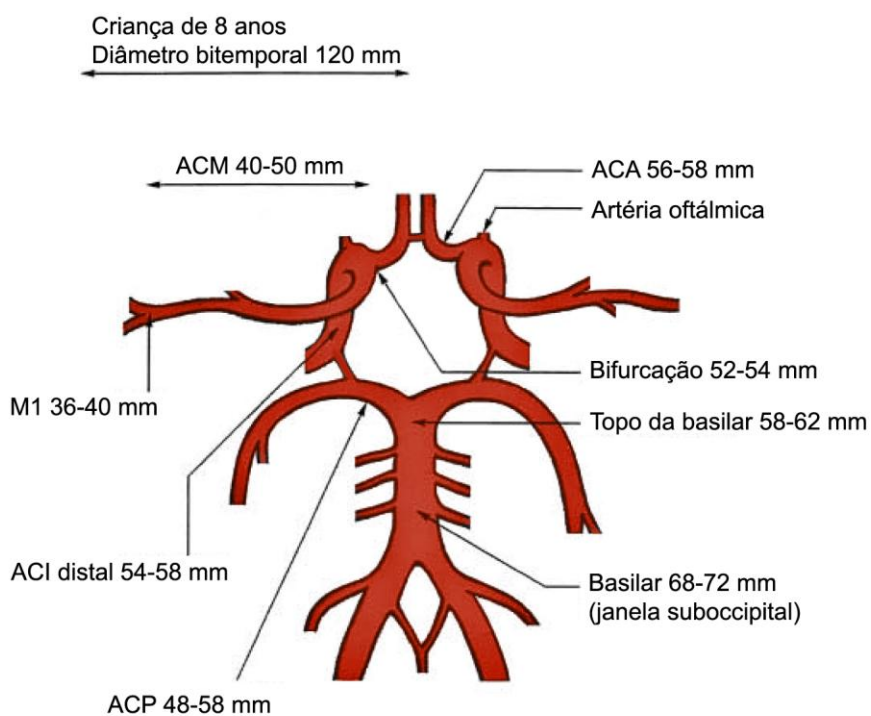


Figura 1 – Pontos de referência para detecção dos segmentos arteriais

## **Interpretação do exame segundo estudo STOP para crianças com anemia falciforme**

- Normal: nenhuma velocidade acima de 170 cm/s em quaisquer segmentos arteriais.
- Risco alto: (risco para desenvolvimento de AVC isquêmico: 10 a 20 vezes maior do que na criança com AF da mesma idade)
- VMM  $\geq$  200 cm/s na MCA e/ou dICA
- Mais recentemente acrescentado VMM na ACA  $\geq$  170 cm/s também como preditivo de alto risco (*Kwiatkowski et al, 2007*)

Conduta: repetir o exame em uma semana (criança livre de evento clínico, com Hb basal), se confirmado: regime de transfusão de troca.

- Risco moderado: VMM 170 – 199 cm/s na MCA e/ou dICA.

Conduta: repetir exame de 3-6 meses (até 184 cm/s intermediário baixo (6 meses), se maior até 199 intermediário alto (3 meses).

- Baixo risco: VMM  $<$  170 cm/s

Conduta: repetir exame anualmente.

- Os exames normais (VMM  $<$  170 cm/s devem ser repetidos anualmente, até 3 anos consecutivos)

Observação: Os critérios de velocidade só se aplicam às crianças com AF que não tiveram AVC.

Outros indicativos de vasculopatias:

1. VMM de 190 cm/s
2. Baixa velocidade na MCA (<70 cm/s)
3. Relação lados D/E MCA <0,5
4. Relação ACA/MCA > 1,2 do mesmo lado
5. Não detecção de MCA, na presença de janela.

Também é importante a interpretação do

RI= pico sistólico – final diástole/pico sistólico → Índice de resistência desenvolvido por Pourcelot.

PI =vel máx – vel mínima/vel média entre 0,6 a 1,1 (N)

Reflete a pressão de perfusão (se há estenose). Diferença de 15% por lado é significativa.

Revisão dos dados dos exames STOP revelou que PSV de 250 cm/s é anormal, correlacionando-se com o ponto de corte  $\geq 200$  cm/s.

Ainda não padronização para todos os dados do DTC. A realização do exame completo com insonação dos 15 segmentos arteriais é importante para agregar dados para detecção da vasculopatia. Por isso o estudo STOP protocola a realização do exame completo.

Os pais ou responsáveis devem assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para a realização do exame, que embora inócua poderá implicar em conduta clínica no caso de alterações.

**Tabela 2 - Periodicidade para realização do DTC em crianças com AF**

Resultado do DTC	Frequência do exame		
	Idade 2-5 anos	Idade 6-10anos	Idade 11-16 anos
Normal	Anualmente	Anualmente x3	Anualmente x 2
Condicional baixo	A cada 6 meses	A cada 6 meses	A cada 6 meses
Condicional alto	A cada 3 meses	A cada 3 meses	A cada 3 meses
Anormal	Dentro de 1 mês	Dentro de 1 mês	Dentro de 1 mês

Normal: Vmm <170 cm/s Condicional baixo: 170-184 cm/s condicional alto: 185-199 cm/s

Anormal:  $\geq 200$  cm/s - (Wang 2007)

Emissão do laudo com resultado do exame:

Impressão da folha *text report* do aparelho

a. Descrever sobre a qualidade do exame: boa qualidade, possíveis dificuldades encontradas na execução do exame

b. Descrever a interpretação do resultado:

1. Exame normal (VMM dos segmentos arteriais insonados dentro dos limites da normalidade <170 cm/s)

**Risco baixo para AVC isquêmico pelo DTC. Repetir anualmente**

2. Exame condicional baixo ou intermediário baixo (VMM  $\geq 170$  <185 cm/s nas artérias ACM e Carótida interna (distal e bifurcação)

**Risco intermediário baixo para AVC isquêmico pelo DTC. Repetir em 6 meses.**

3. Exame condicional alto (VMM  $\geq 185$  <200mcm/s)

**Risco intermediário alto para AVC isquêmico pelo DTC. Repetir em 3 meses**

4. Exame anormal (VMM  $\geq 200$  cm/s em quaisquer segmentos das ACM e ACI s e  $\geq 170$  cm/s na ACA) – Necessita de exame confirmatório dentro de 4 semanas)

**Risco alto para AVC isquêmico pelo DTC. Encaminhar ao médico assistente**

5. Exame inadequado: ausência de insonação das ACMs de um dos lados estando o lado contralateral normal; VMM da ACM < 70 cm/s. Ausência de insonação da ACI e bifurcação. Ausência de janelas transtemporais (repetir exame e solicitar exame por outro profissional para confirmar ausência de janela).

Observação: A conduta deve ser do médico assistente e a tomada de decisão para o tratamento deve ser discutida com o paciente e responsável. O técnico que realiza o exame (médico neurologista ou hematologista) deve se disponibilizar para discussão sobre o exame e esclarecimento de dúvidas.

|

## Referências :

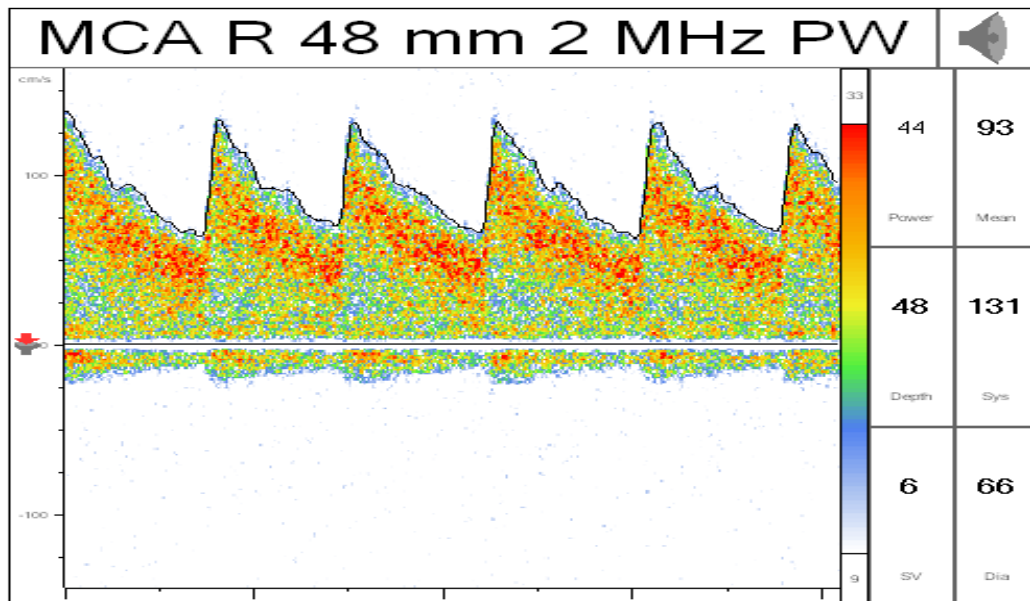
1. Adaptação do protocolo para realização de estudo da circulação intracraniana e detecção de estenose de vasos do Polígono de Willis, em crianças com anemia falciforme. Transcranial Doppler Ultrasound and Imaging in Children with Sickle Cell Disease- Presented by Medical College of Georgia School of Medicine Department of Neurology Augusta, Georgia.
2. Adams RJ. TCD in sickle cell disease: a important and useful test. **Pediatr Radiol** 2005; 35:229-234.
3. Bulas D. Screening children for sickle cell vasculopathy: guidelines for transcranial Doppler evaluation. **Pediatr Radiol** 2005; 35:235-241.
4. Nichols FT, Jones AM, Adams RJ, et al. Stroke prevention trial in sickle cell disease (STOP) study guidelines for transcranial Doppler testing. **J Neuroimaging** 2001; 11:354-363.
5. Jones A, Granger S, Brambilla D, et al. Peak systolic and diastolic TCD velocities for prediction of stroke in sickle cell anemia? **Pediatr Radiol** 2004; 31:461-469.
4. Kwiatkowski JL, Granger S, Brambilla DJ, Brown RC, Miller ST, Adams RJ; STOP Trial Investigators. Elevated blood flow velocity in the anterior cerebral artery and stroke risk in sickle cell disease: extend analysis from the STOP Trial. **Br J Haematol** 2006; 134:333-339.
6. Wang W C. The pathophysiology, prevention, and treatment of stroke in sickle cell disease. **Curr Opin Hematol** 2007;14:191-197.

**Célia Maria Silva – Ambulatório do Hemocentro de Belo Horizonte - Fundação HEMOMINAS  
Dezembro/2006 (atualizado em maio 2009).**



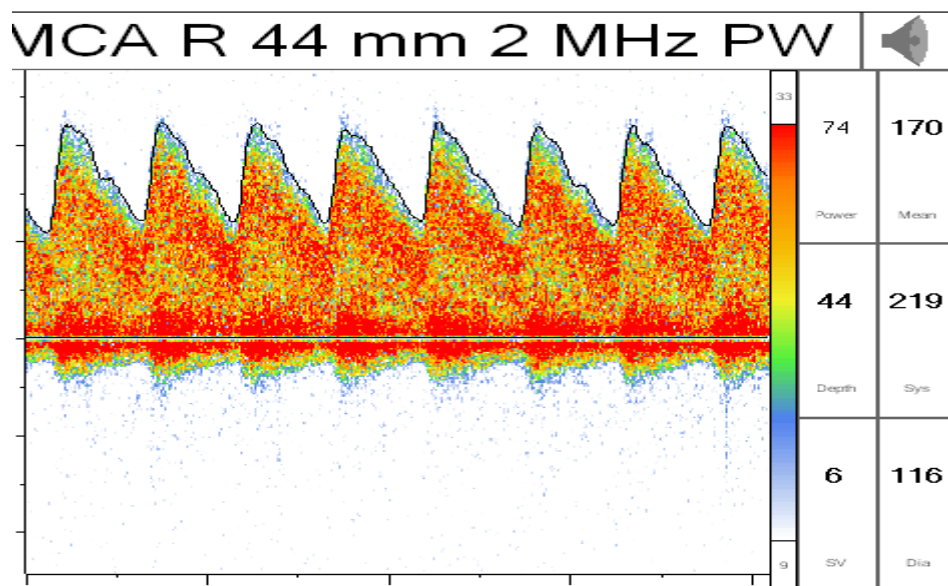
## Anexo 6 – Resultados de exames

A. Exame DTC normal (risco baixo): VMM ou TAMM < 170 cm/s, em 195 (75,6%) crianças



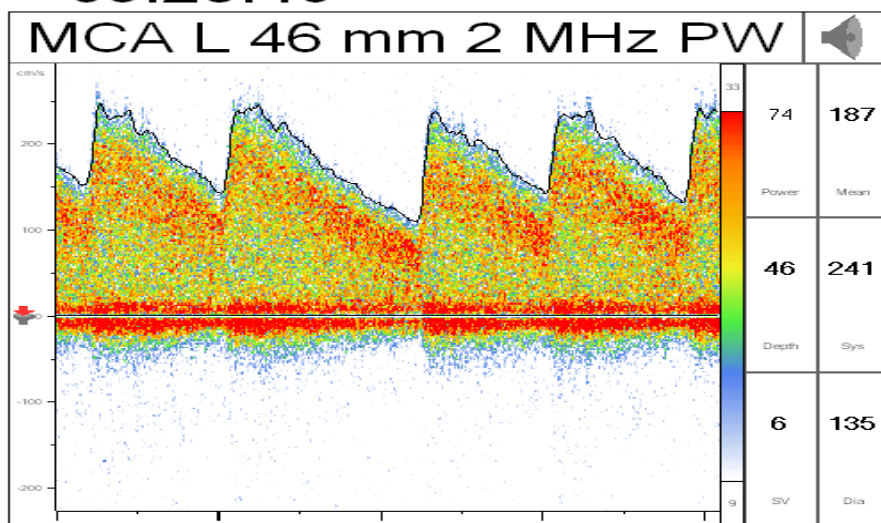
Artéria cerebral média direita, criança PEAA, 8 anos, DTC normal

**B. Exame DTC condicional (risco condicional baixo ou intermediário baixo): VMM (ou TMMX) entre 170 cm/s e 184 cm/s em 19 crianças (7,4%)**



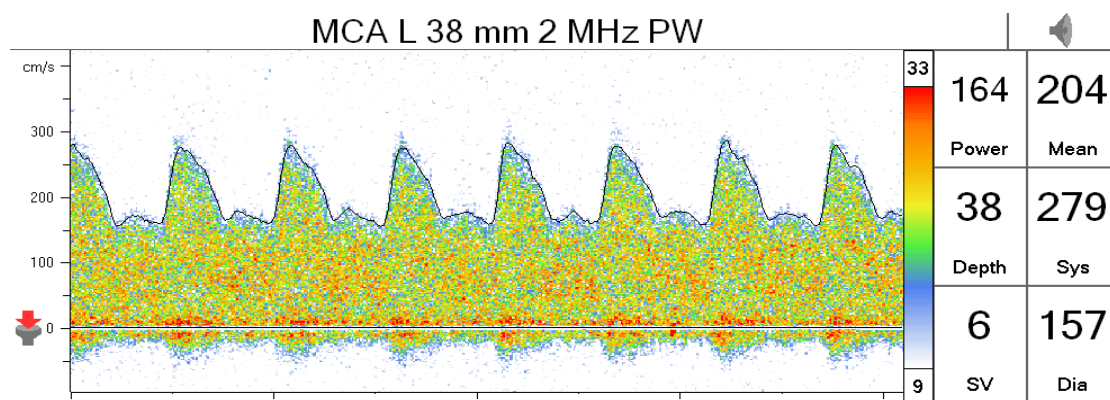
**ACM D, criança TBG, 4 anos, DTC risco intermediário baixo**

**C. Exame DTC condicional alto (risco intermediário alto): VMM ou TAMM  
(entre 185 cm/s e 199 cm/s, em sete crianças (2,7%))**



**Artéria cerebral média esquerda, PAR, 9 anos, DTC risco intermediário alto**

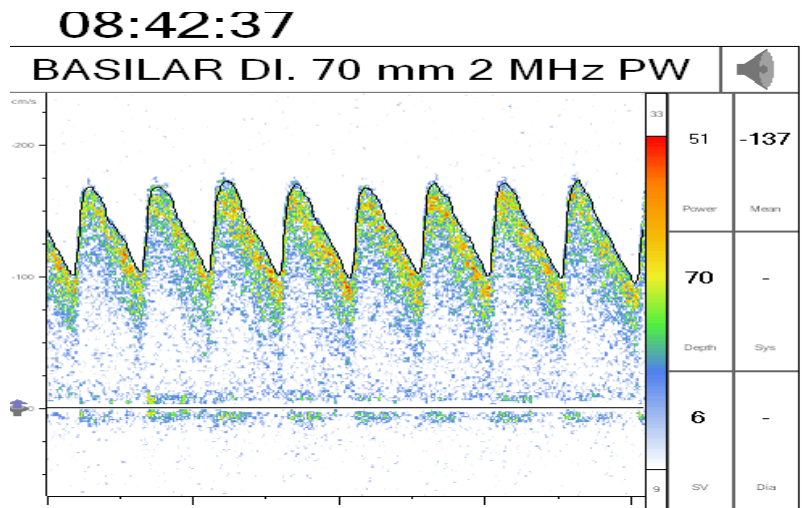
**D. Exame DTC anormal (risco alto para desenvolvimento de AVC isquêmico): VMM  $\geq$  200 cm/s nas ACM ou ACI distal ou  $\geq$ 170 ACA: 8 crianças (3,1%)**



**ACM E (segmento M1) LPBS, 6 anos, DTC anormal (risco elevado para AVC)**

D. Imagens de PXF: DTC ACM D: VMM ouTAMM 185 cm/s

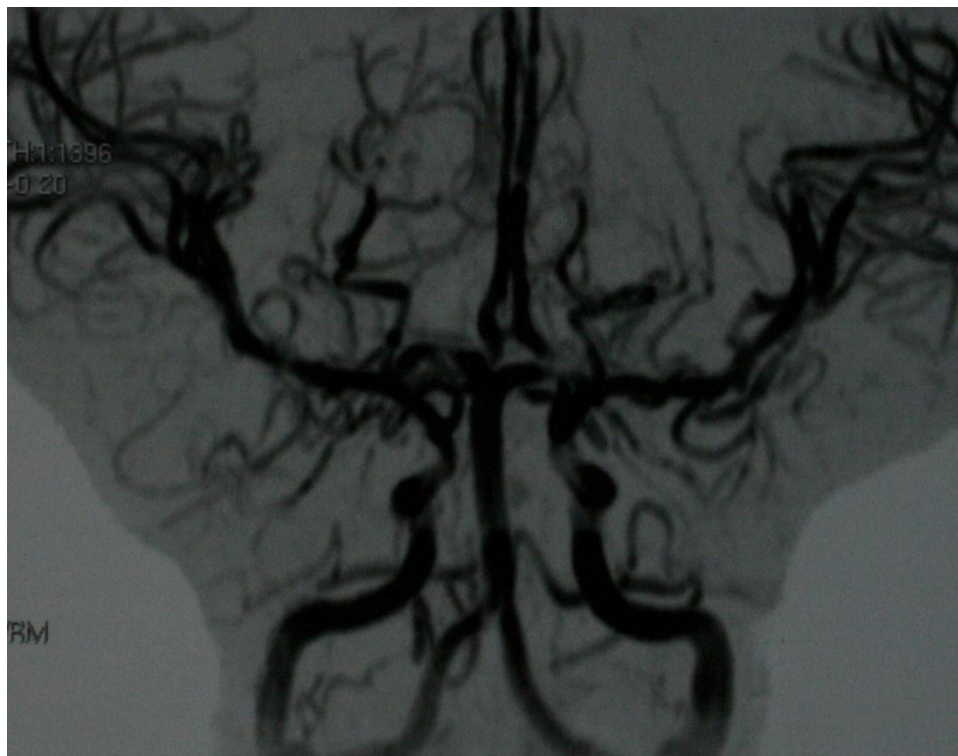
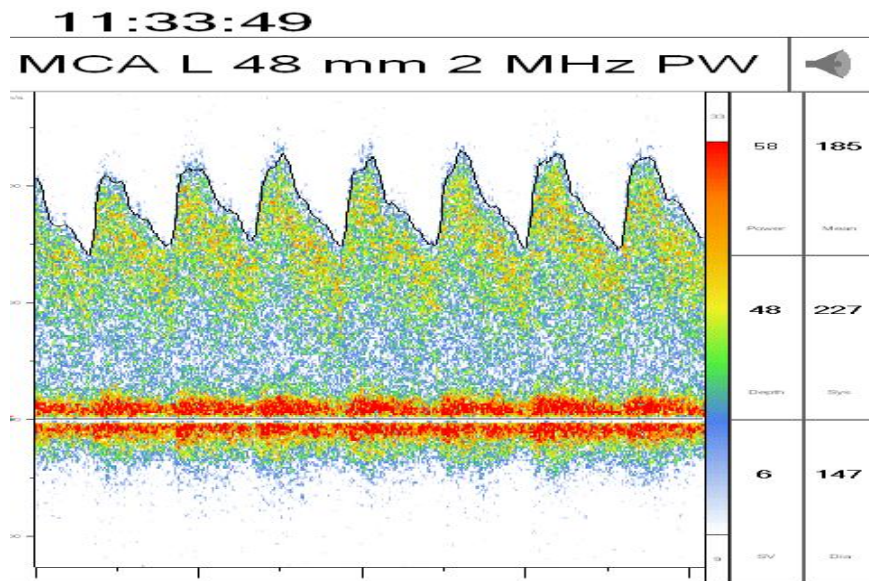
ARM estenoses : ACA, ACMD e ACI



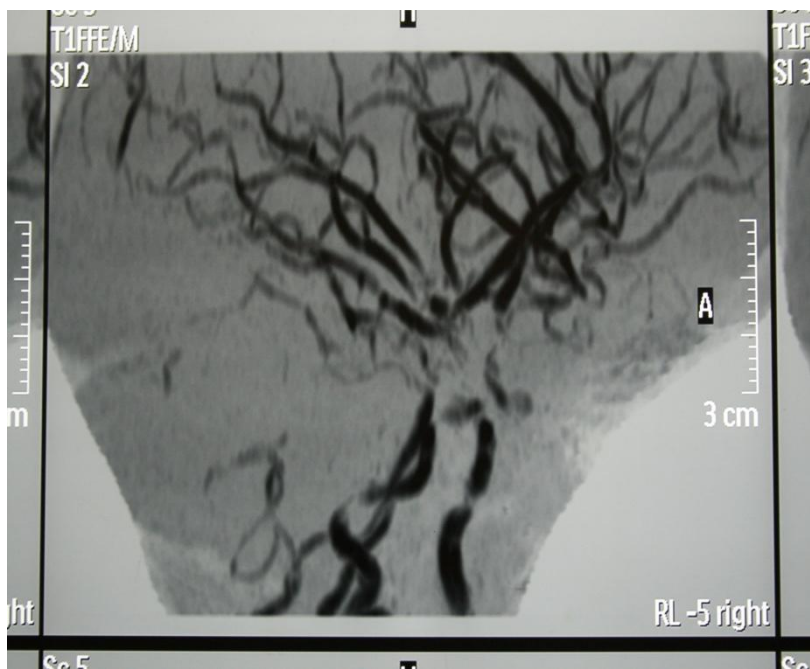
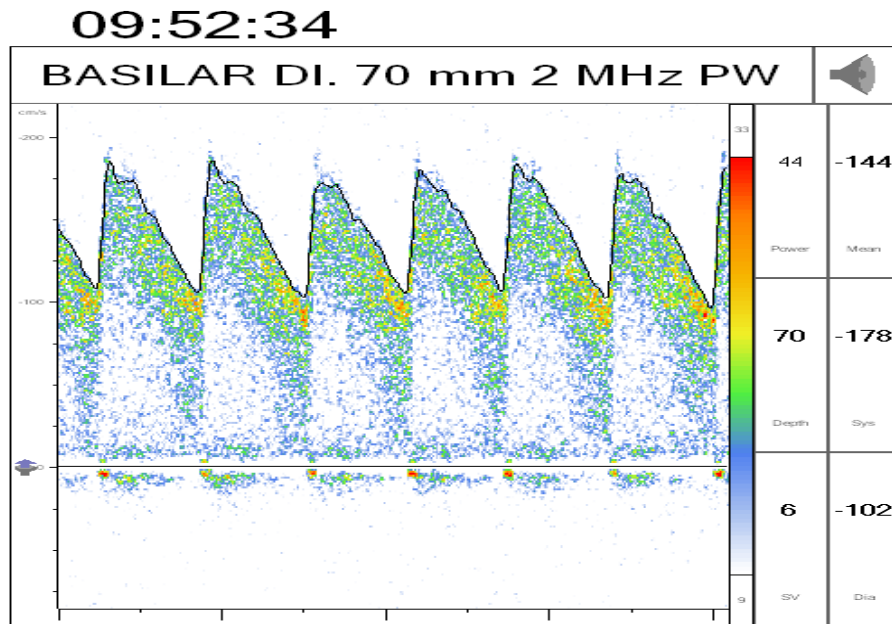


E. Imagens de LGP: DTC AM E VMM 185 cm/s (risco intermediário alto)

ARM: estenoses ACM + circulação colateral



E. Imagens de TJSS: DTC VMM ou TAMM basilar 144 cm/s) e ARM (ACM D e ACI)



**Anexo 7 – Prova eletrônica do artigo submetido ao periódico Pediatric  
Blood & Cancer**



pbcc\_22680.pdf













