



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
RAQUEL REBOUÇAS PAIVA

**EFEITO DA HIDROXIUREIA NO DOPPLER TRANSCRANIANO EM CRIANÇAS E
ADOLESCENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Salvador
2021

RAQUEL REBOUÇAS PAIVA

EFEITO DA HIDROXIUREIA NO DOPPLER TRANSCRANIANO EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Anteprojeto apresentado ao curso de graduação em medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.

Orientador: Doutora Rozana dos Santos Teixeira

Coorientador: Mestre Camilo Vieira Santos

Sumário

1 INTRODUÇÃO	7
2 OBJETIVOS	8
3 REVISÃO DE LITERATURA	9
3.1 Doença Falciforme	9
3.2 Acidente Vascular Encefálico	10
3.3 Hidroxiureia	12
3.4 Doppler transcraniano	13
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	14
4.1 Delineamento do estudo	14
4.2 Período do Estudo	14
4.3 População Alvo	14
4.4 População Acessível	14
4.5 Amostra	15
4.5.1 Técnica de Amostragem	15
4.6 Critérios de elegibilidade	15
4.6.1 Critérios de inclusão	15
4.6.2 Critérios de exclusão	15
4.7 Definições e Operacionalização das Variáveis	15
4.7.1 Variáveis Dependentes	15
4.7.2.1 Variáveis clínicas e sociodemográficas	15
4.7.3 Definição de eventos clínicos	16
4.7.4 Variável Preditora	16
4.8 Protocolo de coleta de dados	16
5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	16
5.1 Hipótese nula	16
5.2 Hipóteses alternativas	16

5.3 Estatística Descritiva	16
5.4 Análise Bivariada e Multivariada	17
5.5 Aspectos Éticos	17
6 RESULTADOS	18
7 DISCUSSÃO	24
8 CONCLUSÃO	26
9 REFERÊNCIAS	26

RESUMO

INTRODUÇÃO: A anemia falciforme é uma doença autossômica recessiva, predominante na população negra e de alta incidência na Bahia. O Acidente Vascular Cerebral é uma complicação frequente nessa população e apresenta alta morbimortalidade e um alto custo para a saúde pública. A Ultrassonografia Doppler Transcraniana (DTC) é uma forma de triar o risco dessa complicação e possibilita a intervenção precoce. A hidroxiureia é uma droga já utilizada nessa população, mas o uso desta na prevenção do AVE ainda está em teste. **OBJETIVO:** descrever o efeito do tratamento com a Hidroxiureia (HU) nas velocidades sanguíneas das artérias cerebrais médias medidas através do Doppler Transcraniano, em crianças e adolescentes com DF, sem história de Acidente Vascular Encefálico (AVE). **METODOLOGIA:** foram analisados crianças e adolescente entre 2 e 16 anos, com a DF confirmado por eletroforese, triadas com o doppler transcraniano por profissional capacitado, em Salvador e outras cidades da Bahia. O estudo é longitudinal, retrospectivo, analítico com grupo de comparação intragrupo e entre diferentes grupos. Nenhum paciente do estudo usava a HU no primeiro DTC, os grupos foram definidos de acordo com o uso no segundo exame (grupo HU sim e grupo HU não). Foram excluídos pacientes em uso de transfusões sanguíneas, que sem 2 exames documentados no banco e com história prévia de AVE. As informações foram analisadas utilizando testes estatísticos: teste T student, qui quadrado, teste T pareado, testes de normalidade: *Kolmogorov-Smirnov* e o *Shapiro Wilk*, médias e desvio padrão. **RESULTADOS:** Os grupos foram semelhantes nos quesitos avaliados (média de idade, velocidade inicial nas artérias cerebrais, genótipos, sexo, cidade de origem), diferentes apenas em média do tempo entre as ultrassonografias com doppler. O estudo encontrou que as velocidade média iniciais e finais foram semelhantes em pacientes em uso da HU, com média da velocidade inicial da artéria cerebral média direita (ACMD) de $126,83 \pm 22,32$, e final $126,73 \pm 28,41$ ($p = 0,983$) e na artéria cerebral média esquerda (ACME) inicial de $126,23 \pm 22,94$ e final de $130,17 \pm 30,76$ ($p = 0,340$). No grupo HU não, a velocidade inicial foi menor que a velocidade final. Os pacientes foram categorizados de acordo com a faixa de velocidade em baixa (≤ 70 cm/s), normal (entre 70 e 170), condicional (entre 170 e 199) e alto (≥ 200). Observou-se nos pacientes condicionais uma maior tendência de manter a categoria ou evoluir para uma categoria de velocidade menor nos grupos em uso da HU e uma tendência de piora no grupo HU não. Na análise dos genótipos, houve uma maior velocidade média no genótipo SS em ambos os grupos. **CONCLUSÃO:** Crianças e adolescentes com DF, não tratados com HU tendem a evoluir com aumento da velocidade do Doppler Transcraniano ao longo do tempo, o que significa maior dano vascular e maior risco para AVE. Foi observado uma tendência de diminuição da velocidade nas artérias cerebrais média em pacientes categorizados em velocidade condicional. O genótipo HbSS, associado a maior gravidade, teve maior média de velocidade apresentando mais risco de um AVE.

Palavras-chaves: Hidroxiureia. Anemia Falciforme. Acidente Vascular Cerebral. Ultrassonografia Doppler Transcraniana.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Sickle cell anemia is an autosomal recessive disease, predominantly in the black population and with a high incidence in Bahia. Stroke is a frequent complication in this population and has high morbidity and mortality and a high cost to public health. Transcranial Doppler Ultrasound (TCD) is a way to screen the risk of this complication and allows for early intervention. Hydroxyurea is a drug already used in this population, but its use in preventing stroke is still being tested. **PURPOSE:** to describe the effect of the treatment with Hydroxyurea (HU) on the blood velocities of the middle cerebral arteries measured by Transcranial Doppler, in children and adolescents with FD, without a history of cerebrovascular accident (CVA). **METHODOLOGY:** children and adolescents between 2 and 16 years old, with FD confirmed by electrophoresis, screened with transcranial Doppler by a trained professional, in Salvador and other cities in Bahia, were analyzed. The study is longitudinal, retrospective, analytical with an intragroup and between different groups comparison group. None of the study patients used HU in the first DTC, the groups were defined according to use in the second exam (HU group yes and HU group no). Patients using blood transfusions, who did not have 2 exams documented in the database and with a previous history of stroke, were excluded. The information was analyzed using statistical tests: Student t test, chi square, paired t test, normality tests: Kolmogorov-Smirnov and Shapiro Wilk, means and standard deviation. **RESULTS:** The groups were similar in the evaluated items (mean age, initial velocity in the cerebral arteries, genotypes, gender, city of origin), different only in the mean time between the Doppler ultrasounds. The study found that the initial and final mean velocity were similar in patients using HU, with a mean initial velocity of the right middle cerebral artery (ACMD) of 126.83 ± 22.32 , and final 126.73 ± 28.41 ($p = 0.983$) and in the left middle cerebral artery (ACME) initial 126.23 ± 22.94 and final 130.17 ± 30.76 ($p = 0.340$). In the HU group no, the initial velocity was lower than the final velocity. Patients were categorized according to velocity range as low (≤ 70 cm/s), normal (between 70 and 170), conditional (between 170 and 199) and high (≥ 200). There was a greater tendency for conditional patients to maintain the category or progress to a lower speed category in the groups using HU, and a tendency towards worsening in the HU group that did not. In the analysis of genotypes, there was a higher mean speed in the SS genotype in both groups. **CONCLUSION:** Children and adolescents with FD not treated with HU tend to evolve with increased Transcranial Doppler velocity over time, which means greater vascular damage and greater risk for stroke. A trend of decreased velocity in the middle cerebral arteries was observed in patients categorized as conditional velocity. The HbSS genotype, associated with greater severity, had a higher mean speed, presenting a higher risk of a stroke.

Keywords: Hydroxyurea. Sickle Cell. Stroke. Ultrasonography. Doppler, Transcranial.

1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) ou doença falciforme (DF) é uma doença de origem genética, que resulta de uma mutação no sexto códon do gene da β globina. A troca da adenina pela timina causa a substituição do ácido glutâmico pela valina e a síntese de uma hemoglobina anormal, a hemoglobina S (HbS). Em condições de desoxigenação, esta hemoglobina sofre polimerização, adquirindo a forma de foice. Apresenta propriedades físico-químicas especiais que a torna insolúvel, mais rígida, obstruindo vasos sanguíneos, num fenômeno de vasclusão e isquemia tecidual. Além disso, sofre hemólise, adere ao endotélio, ativa leucócitos, citocinas e plaquetas, resultando em um estado inflamatório crônico, hipercoagulabilidade e vasculopatia proliferativa¹.

Esta doença provavelmente origem na África, predominando em afrodescendentes e populações menos privilegiadas economicamente. No Brasil, estima-se que 25.000 a 50.000 pessoas tenham a doença em estado homozigótico (HbSS). A Bahia é o estado brasileiro com maior incidência de Doença Falciforme 1:650 nascidos vivos e de traço Falciforme 1:17¹.

A anemia falciforme se manifesta com episódios de adoecimento agudo (crises dolorosas, síndrome torácica aguda, infecções recorrentes, acidente vascular encefálico, sequestro esplênico, dactilite) e manifestações crônicas e incapacitantes (hipertensão pulmonar, nefropatia, retinopatia, osteonecrose do quadril etc.) que levam a morte precoce².

As alterações estruturais da hemoglobina S e a conseqüente vasculopatia predispõem os indivíduos com Doença Falciforme ao Acidente Vascular Encefálico (AVE). Esta complicação ocorre em cerca de 7 a 11% dos casos, sendo responsável por limitações funcionais e morte precoce³. Em pacientes que já tiveram o evento isquêmico, a taxa de recorrência chega a 93%, se nenhum tratamento for instituído³. Nesse contexto, são necessárias medidas seguras e eficazes para a prevenção deste agravo. O Doppler transcraniano (DTC) é uma técnica que avalia o risco para esta complicação, através da mensuração da velocidade média do sangue na artéria cerebral média, sendo considerado risco elevado quando acima de 200 cm/s. O rastreio de crianças de 2 a 16 anos com DTC anual foi incorporado no protocolo de acompanhamento de pacientes com *HbSS*.

A hidroxiureia (HU) é o único tratamento medicamentoso disponível até o momento. Instituído no Brasil em 2010, a partir de evidências que demonstraram aumento da hemoglobina fetal (HbF), protetor da polimerização da HbSS, aumento da produção de óxido nítrico, diminuição das dores crônicas e diminuição da expressão das moléculas de adesão na DF. Esses efeitos ocorrem a partir da inibição da enzima ribonucleotídeo redutase, tornando a HU a terapia farmacológica considerada de maior sucesso para a DF².

Alguns estudos^{3,4} demonstraram a ação da HU na redução da velocidade média das artérias cerebrais médias avaliadas através da Ultrassonografia com Doppler Transcraniano (DTC). Este exame possibilita a estratificação de riscos de AVE conforme critérios de velocidade⁵. A Portaria conjunta nº 05, de 19 de fevereiro de 2018 do Ministério da Saúde¹, recomenda o uso profilático da HU quando o DTC está acima de 160 até 200 cm/s. Acima desta velocidade ou indivíduos que já tenham apresentado o primeiro episódio de AVE está indicado regime de transfusões mensais para manter a HbS inferior a 30%.

Este estudo tem como objetivo avaliar o efeito da HU na redução do DTC numa coorte de crianças e adolescentes com AF, acompanhadas longitudinalmente na cidade de Salvador–BA e a possível ação preventiva desta droga na ocorrência de AVE.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Descrever o efeito do tratamento com a Hidroxiureia nas velocidades sanguínea das artérias cerebrais médias medidas através do Doppler Transcraniano, em crianças e adolescentes com DF, sem história de AVE.

2.2 Objetivos específicos

- Comparar a velocidade sanguínea das artérias cerebrais médias medidas através do DTC entre grupos tratados e não tratados com HDX;

- Observar a diferença entre o doppler inicial e final em cada grupo;
- Comparar a velocidade sanguínea das artérias cerebrais médias medidas através do DTC entre os diferentes genótipos da doença falciforme tratados com Hidroxiuréia.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Doença Falciforme

A doença falciforme foi descrita pela primeira vez pelo médico James Herrick em 1910, observada em um paciente com anemia grave, icterícia e dores articulares, embora séculos antes, já havia relatos de que indivíduos africanos com sintomas típicos eram tatuados a fim de identificá-los com uma doença misteriosa⁶. Apenas em 1956, Ingram descobriu a origem genética da doença falciforme: uma mutação no sexto aminoácido da beta globina, substituindo o ácido glutâmico pela valina. Kan e Dozy, em 1980, estudando a evolução da hemoglobina S (HbS) através do tempo, encontraram, sua origem em cinco regiões diferentes da África, correspondentes a cinco haplótipos (Benin, Bantu, Senegal e Camarões) com diferentes graus de gravidade, associado a quantidade de hemoglobina fetal presente¹².

Por se tratar de uma doença que afeta a hemoglobina, para entender a sua fisiopatologia é importante discorrer sobre a hemoglobina normal. A hemoglobina é formada por 4 cadeias de aminoácidos e 4 moléculas de protoporfirina ligadas 4 átomos de ferro (grupo heme). A hemoglobina mais prevalente na espécie humana é a hemoglobina A, que é formada por duas cadeias de aminoácidos alfas e duas betas. A hemoglobina fetal, mais prevalente na primeira infância, é composta por duas cadeias alfa e duas cadeias gama, e fisiologicamente é quase inexistente na vida adulta¹².

Devido a mutação no gene da beta globina, os indivíduos homocigotos (HbSS) para anemia falciforme, não sintetizam a hemoglobina A. Uma hemoglobina variante é produzida, a hemoglobina S (HbS), que se liga ao oxigênio de forma instável e quando desoxigenada se polimeriza, principalmente em órgãos com maior demanda de oxigênio, formando fibras capazes de distorcer a membrana das hemácias, que tomam a forma de foice. Em concentração de HbS superior a 30% as hemácias

falcizadas se agregam, obstruem vasos, podendo causar infarto e fibrose, principalmente no baço⁶ com evolução para auto-esplenectomia, além de processo inflamatório, disfunção endotelial e hemólise.

A principal razão para atendimento médico pela doença falciforme é a crise vaso-oclusiva. Entre as razões que explicam as crises, destaca-se a interação da HbS com o endotélio vascular, a qual leva a produção de radicais livres de oxigênio que, por sua vez, estimulam a transcrição de moléculas de adesão como a E-selectina na superfície do endotélio⁶.

De acordo com Manwani e Frenette (2013, p 3892-3898), o processo de vaso-oclusão se dá da seguinte forma⁷:

(1) ativação endotelial por SS-RBCs e outros mediadores inflamatórios, (2) recrutamento de leucócitos aderentes, (3) ativação de neutrófilos recrutados e de outros leucócitos (por exemplo, monócitos ou células iNKT), (4) interações de eritrócitos falciformes com neutrófilos aderentes, (5) obstrução vascular por agregados heterotípicos de células-células compostos de SS-RBCs, leucócitos aderentes e possivelmente plaquetas, (6) aumento do tempo de trânsito para maior do que o tempo de atraso para a polimerização da hemoglobina induzida por desoxigenação, propagação de VOC retrógrado e (7) isquemia como resultado da obstrução que cria um ciclo de feedback de piora da ativação endotelial.

3.2 Acidente Vascular Encefálico

O Acidente Vascular Encefálico (AVE) é uma complicação frequente em pacientes com doença falciforme. Até os 20 anos de idade, cerca de 11% dos indivíduos com a doença apresentam esta complicação. Apesar da baixa mortalidade, o AVE pode levar a sequelas limitadoras, como sequelas motoras, neurocognitivas e psicológicas⁸. O pico de prevalência ocorre dos 2 aos 5 anos e dos 40 aos 49 anos de idade. AVE isquêmico (AVEi) ocorre em 54% dos casos, AVE hemorrágico em 34% e o AVE transitório em 8% dos casos.

O espessamento da camada miointimal é o principal mecanismo responsável pelo AVEi na AF. Além da hemólise crônica, a anemia crônica gera hipóxia, aumentando a angiogênese. Esses comprometimentos somados à inflamação resultam em uma maior predisposição a infartos isquêmicos e em menor proporção hemorrágicos. A polimerização na hemoglobina S pode levar a formação de cristais

na microcirculação que pode vir a obstruir vasos, produzindo o fenômeno da isquemia. Ainda há a expressão maior de moléculas de adesão que além de contribuir diretamente para a obstrução, ainda desencadeia fenômenos inflamatórios com o recrutamento de plaquetas e neutrófilos que agredem o endotélio vascular, através da H_2O_2 . Os neutrófilos ativados expressam a P-selectina (leucócito-plaquetas) que aumenta a afinidades dos receptores do endotélio ao fibrinogênio. Esse processo se retroalimenta, tornando o AVE uma complicação frequente e de alta morbimortalidade nessa população e com uma alta taxa de recidiva⁶.

Na doença falciforme alguns fatores de risco para AVE foram identificados: baixa concentração de hemoglobina em estado estacionário, AVE isquêmico transitório anterior, recorrência de síndrome torácica aguda e pressão arterial sistólica elevada. A avaliação da velocidade do sangue na artéria cerebral média através do doppler transcraniano (DTC) é o marcador mais utilizado para avaliar risco de AVE em portadores de Doença Falciforme. O exame é realizado anualmente dos 2 aos 16 anos, faixa etária na qual esse evento é mais prevalente⁹.

O Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP I) foi um estudo randomizado concebido para avaliar se a transfusão sanguínea crônica poderia prevenir o AVE inicial em crianças de 2 a 16 anos, com Hb SS, em alto risco para AVE conforme determinado pelo DTC (velocidade > 200 cm/seg). O estudo demonstrou um grande benefício da transfusão e foi interrompido precocemente. Pacientes em regime de transfusão foram mais propensos a ter resultados normais ao DTC ao longo do tempo, entretanto esta terapêutica resultou em sobrecarga de ferro, aloimunização e transmissão de patógenos infecciosos transmitidos pelo sangue, além de não estar isenta de custos. Alguns pacientes no grupo sem transfusão apresentaram redução nos resultados do DTC e este achado requer mais estudos⁹.

Um segundo ensaio clínico randomizado, STOP II (Otimizando a Prevenção do AVE na Anemia Falciforme), em 2005 foi realizado para determinar se a terapia transfusional poderia ser retirada com segurança após pelo menos 30 meses de transfusões em pacientes que normalizaram a velocidade sanguínea ao DTC⁵.

O estudo "TCD With Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWiTCH): a multicentre, randomised controlled trial" (TWiTCH), demonstrou que indivíduos que utilizaram pelo menos dois anos de transfusões sanguíneas (TS) com normalização

do DTC, sem alterações vasculares importantes na RM cerebral, boa adesão a HU, poderiam ser candidatos a substituição gradual das TS por esta droga.¹⁰

3.3 Hidroxiureia

A hidroxiureia ou hidroxycarbamida é uma droga que tem como mecanismo de ação o aumento da hemoglobina fetal em pacientes com a doença falciforme, bem como aumento de óxido nítrico e a diminuição da expressão de moléculas de adesão⁵.

O tratamento com a HU foi estabelecido no Brasil em 2010 e reformulado em 2018. Atualmente para iniciar o tratamento com HU o paciente deve ter apresentado pelo menos uma das complicações abaixo nos últimos 12 meses:

- Três ou mais episódios de crises vasclusivas com necessidade de atendimento médico
- Dois episódios de síndrome torácica aguda (definida como dor torácica aguda com infiltrado pulmonar novo, febre de 37,5°C ou superior, taquipneia, sibilos pulmonares ou tosse)
- Um episódio de priapismo grave ou priapismo recorrente
- Necrose isquêmica óssea
- Insuficiência renal
- Proteinúria de 24 h maior ou igual a 1 g
- Anemia grave e persistente (Hb menor que 6 g/dL em três dosagens no período de 3 meses)
- Desidrogenase láctica (DHL) elevada duas vezes acima do limite superior nas crianças ou adolescentes e acima de três vezes do limite superior no adulto
- Alterações no doppler transcraniano acima de 160 e até 200 cm/s;
- Retinopatia proliferativa
- Quaisquer outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgão (s).

Pacientes em uso desta medicação apresentam melhora dos níveis da hemoglobina, diminuição da concentração de plaquetas e da contagem de células brancas. Em um ensaio clínico randomizado a HU diminuiu a frequência de episódios dolorosos de síndrome torácica aguda, necessidade de transfusão sanguínea, e de internamento hospitalar em pacientes com anemia falciforme¹¹.

A HU pode produzir leucopenia, neutropenia, anemia, plaquetopenia, fadiga, cefaleia, tonturas, alucinações, náuseas, diarreia, dor abdominal, elevação de enzimas hepáticas, hepatite medicamentosa, infiltrado pulmonar, fibrose pulmonar, erupções na pele, queda de cabelo, neoplasia em pele, perda da função renal, por isso, durante o tratamento, recomenda-se monitorização com hemograma, contagem de reticulócitos, creatinina, transaminases e HbF, sendo este último um efeito benéfico². As medidas antropométricas também devem ser monitoradas, visto que em animais a HU foi relacionada a efeito deletério no crescimento e no desenvolvimento cerebral¹².

A droga apresentou em alguns estudos potencial teratogênico e por isto não deve ser utilizada na gestação. Encontra-se disponível apenas em cápsula de 500 mg, sendo necessário diluição para adequar a administração em crianças, já que a dose é proporcional ao peso².

Apesar dos efeitos adversos, a droga é considerada relativamente segura para a população em estudo e outros artigos já demonstraram a sua eficácia e segurança relativa na qualidade de vida, na redução da gravidade da doença e na redução de morbidades associadas. Como benefícios descritos na literatura, destaca-se o aumento da HbF, redução dos leucócitos, neutrófilos e plaquetas (o que melhora o estado inflamatório dos pacientes) e melhora níveis de hemoglobina¹³.

3.4 Doppler transcraniano

A Ultrassonografia Doppler Transcraniano (DTC) é capaz de medir de forma rápida e não invasiva a função cerebrovascular. Baseado no efeito Doppler, o aparelho é capaz de emitir ondas, que são refletidas pelos glóbulos vermelhos, e a diferença entre as ondas emitidas pelo transdutor e refletidas pelas hemácias é proporcional a velocidade do sangue. Como na doença falciforme o sangue apresenta maior viscosidade, a velocidade do sangue nas artérias tende a ser maior, de modo que se torna possível estratificar o risco a partir do resultado da DTC¹⁴.

O exame é feito com uma sonda de frequência de 2MHz, através de regiões mais espessas do crânio, chamadas de janelas. As quatro principais são: transtemporal, transorbital, submandibular e suboccipital¹⁴. O resultado de exame é considerado condicional baixo entre 170 e 184 cm/s (nesse caso, orienta-se que o exame seja repetido a cada 3 meses), entre 185 e 199 cm/s é considerado condicional alto e é indicado repetir após 1 mês e se for anormal, entre 200 e 219 cm/s é indicado que se repita em 1 mês e caso o resultado mantenha-se anormal, recomenda-se iniciar a transfusão sanguínea¹.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Estudo do tipo longitudinal, retrospectivo, analítico com grupo de comparação intragrupo e entre diferentes grupos.

4.2 Período do Estudo

Os dados foram coletados no período de 2010 a 2015.

4.3 População Alvo

Crianças e adolescentes de 2 a 16 anos, portadoras de hemoglobinopatia S (HbSS, HbSC e Hb S β tal) encaminhadas a um centro de referência em realização de Doppler Transcraniano (DTC). Serão formados 2 grupos: grupo não tratado com hidroxiuréia (HU) e grupo tratado com HU com pelo menos 2 aferições de DTC ao longo da observação (sendo que pelo menos uma destas medidas deve anteceder o uso do medicamento).

A faixa etária do estudo foi selecionada por razões técnicas relacionadas ao protocolo de acompanhamento de crianças com DF, que prevê a realização de DTC anual na faixa etária de 2 a 16 anos de idade.

4.4 População Acessível

Banco de dados de uma coorte de crianças e adolescentes com DF, encaminhadas de centros de referência no atendimento e tratamento de doenças hematológicas: Ambulatório de Hematologia do Ambulatório Magalhães Neto –

Complexo Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES) da Faculdade de Medicina da Bahia – UFBA; Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia (HEMOBA), para realização de DTC, procedentes de Salvador-BA e de cidades do interior do estado.

4.5 Amostra

4.5.1 Técnica de Amostragem

Foi obtida amostra de conveniência de crianças e adolescentes do Banco de dados e que preenchiam os critérios de elegibilidade.

4.6 Critérios de elegibilidade

4.6.1 Critérios de inclusão

- Faixa etária de 2 a 16 anos de idade
- Hemoglobinopatia S comprovada através de eletroforese de hemoglobina e/ou cromatografia líquida de alta performance

4.6.2 Critérios de exclusão

- Tratamento com transfusões mensais
- AVE prévio
- Ter menos de 2 exames no banco de dados descrito

4.7 Definições e Operacionalização das Variáveis

4.7.1 Variáveis Dependentes

Velocidade de fluxo sanguíneo na artéria cerebral média direita e esquerda através DTC. Classificação do DTC descrita como categórica. Utilizado critério de Adams *et al* que definiu os seguintes valores para classificar o DTC: abaixo de 70 (baixo); entre 70 e 170 cm/s (normal); de 170 a 200cm/s (condicional); e maiores que 200cm/s (crítico/anormal).

4.7.2.1 Variáveis clínicas e sociodemográficas

Idade (a), sexo (feminino, masculino), uso ou não de hidroxiuréia (HU), genótipos (HbSS, HbSC, Hb S beta-talassemia), procedência (Salvador ou interior do Estado)

4.7.3 Definição de eventos clínicos

Acidente Vascular Encefálico: Alterações de consciência, déficits neurológicos focais, convulsões, paresias, afasia, confusão mental e cefaleia de grande intensidade ou duração associada a lesões de isquemia ou hemorragia na Ressonância magnética do crânio.

4.7.4 Variável Preditora

Tratamento ou não com Hidroxiuréia, variável dicotômica

4.8 Protocolo de coleta de dados

Os dados foram colhidos através do Doppler transcraniano realizado por médico comprovadamente treinado e com experiência na técnica e na interpretação do exame. O DTC é um método não-invasivo que através da técnica de ultrassom é capaz de medir a velocidade aproximada do fluxo nas porções proximais de artérias intracranianas.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

5.1 Hipótese nula

Não existe diferença no DTC de crianças e adolescentes com DF antes e após o tratamento com HU.

5.2 Hipóteses alternativa

O tratamento precoce com HU é capaz de evitar a progressão da vasculopatia cerebral e AVC demonstrável através da redução dos valores da velocidade média nas artérias cerebrais médias esquerda e direita aferidas por DTC

Os genótipos HbSS e HbS β tal são fenótipos de maior gravidade e por isso apresentam vasculopatia precoce e maior velocidade no DTC.

5.3 Estatística Descritiva

Para a análise descritiva, as variáveis quantitativas foram representadas por suas médias e desvios-padrão quando suas distribuições foram normais e por medianas e intervalos interquartis quando não normais. As variáveis categóricas

foram representadas através de frequências simples e porcentagens. Para testar a hipótese de que os dados apresentavam uma distribuição normal foram aplicados os testes de normalidade: *Kolmogorov-Smirnov* e o *Shapiro Wilk*.

Todas as variáveis colhidas dos pacientes foram transferidas para o banco de dados do programa *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS), versão 20.0, ano 2012 e analisados pelo mesmo pacote estatístico.

5.4 Análise Bivariada e Multivariada

Para comparação de variáveis categóricas foi utilizado, através de análise bivariada o teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando necessário. Para comparação das médias foi utilizado o teste t de Student para amostras independentes e Mann Whitney para comparar medianas de variáveis numéricas com distribuição não paramétrica. Para comparar médias dentro de um único grupo antes e após a intervenção (tratamento com HU) será realizado o teste T Pareado se variável paramétrica ou Wilcoxon Sign-Rank se variável não paramétrica. Para comparar médias de variáveis numéricas com mais de dois grupos categorizados foi utilizado ANOVA com correção de Bonferroni ou Kruskal Wallis, para comparação de ranks, se distribuição não paramétrica.

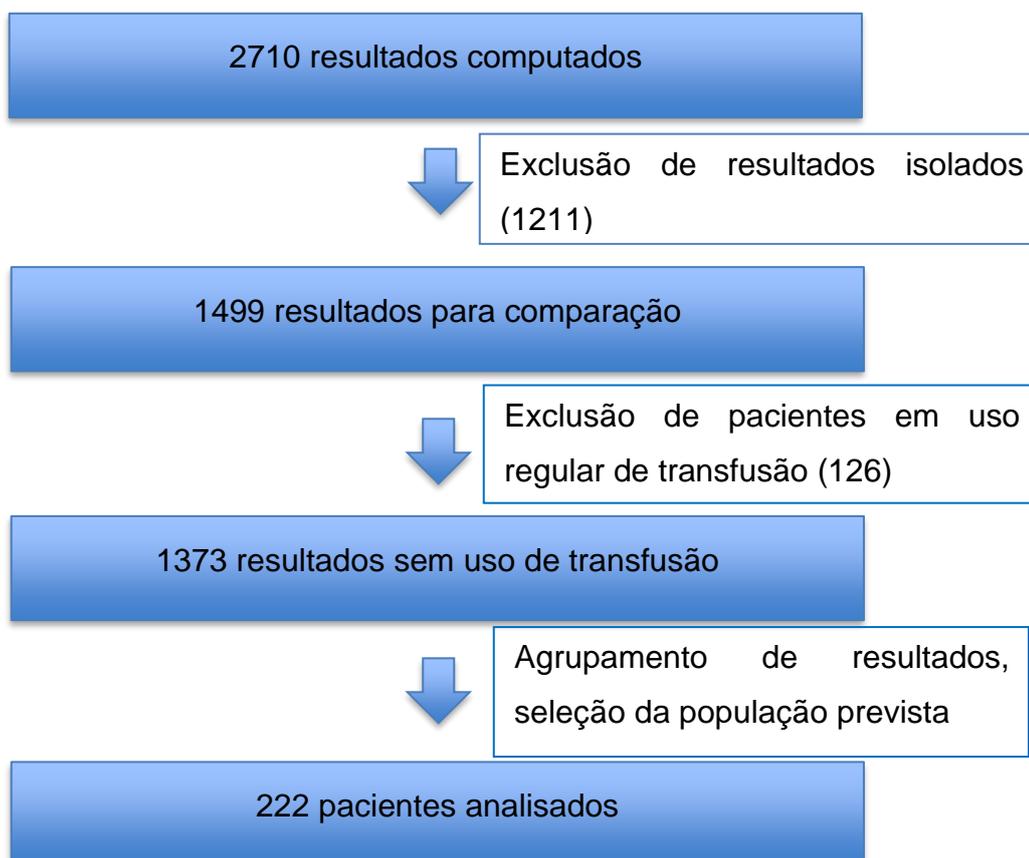
Será considerado estatisticamente significativo se o valor de p for menor que 0,05.

5.5 Aspectos Éticos

A pesquisa original foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP), número do CAAE 11491713.2.0000.0049. Os pacientes, cujos dados encontram-se no Banco avaliado, assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) e os adolescentes assinaram o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE).

6 RESULTADOS

O banco analisado apresentava 2710 resultados de doppler transcraniano (DTC) em crianças com DF, aferidos ao longo de 5 anos. Inicialmente foram excluídos pacientes com uma única aferição de DTC (1211 resultados). Em seguida, foram excluídos pacientes em uso regular de transfusão sanguínea (126 resultados). Posteriormente, foram selecionados pacientes com 2 resultados de DTC realizados com intervalo maior que 6 meses (378 pacientes). Excluídos aqueles sem informação sobre o uso ou não de HU no primeiro exame (120), sem informação sobre uso de hidroxiuréia no segundo exame (18) e pacientes que no primeiro resultado de doppler já fazia uso da HU (12). Por último foram excluídos 6 pacientes fora da idade delimitada pelo estudo. **(Fluxograma 1)**



Fluxograma 1: Fluxograma descreve o processo de agrupamento dos dados disponíveis no banco e exclusão a partir das informações descritas nos métodos

O estudo avaliou 222 pacientes, que foram agrupados em HU sim (30 pacientes que no primeiro exame não fazia uso de hidroxiureia e posteriormente iniciou o uso) e HU não (192 pacientes que permaneceram sem usar a hidroxiureia).

Os grupos foram semelhantes quanto a média de idade ($p=0,526$), distribuição de sexo ($p=0,357$), procedência (Salvador e interior do estado) $p=0,481$ e genótipos ($p=0,858$). Houve diferença apenas no intervalo em meses entre o primeiro e segundo DTC, sendo maior no grupo HU sim ($p = 0,01$). As médias \pm DP das velocidades de fluxo nas ACM foram semelhantes em ambos os grupos HU não e HU sim (ACMD $122,47 \pm 31,47$ vs $126,83 \pm 22,32$ cm/s $p=0,466$; ACME $122,49 \pm 30,87$ vs $126,23 \pm 22,94$ $p=0,525$ respectivamente). **Tabela 1.**

Tabela 1: Características sociodemográficas, genótipo e velocidade média das artérias cerebrais médias dos grupos DF tratados com HU e não tratados com HU

Características	Grupo não HU (192)	Grupo HU (30)	Valor de p
Idade em anos (média \pm DP)	4,99 \pm 3,54	5,43 \pm 3,40	0,526*
Sexo n(%)			
Feminino	88 (45,83%)	43,33%	0,357**
Masculino	104 (54,16%)	56,67%	
Procedência			
Salvador	40,1%	40%	0,481**
Interior da Bahia	58,3%	60%	
Intervalo em meses entre 1^o e 2^o			
DTC (média \pm DP)	15,52 \pm 8,6	20,1 \pm 7,4	0,01*
Genótipo (%)			
SS	60,9%	67%	0,858***
SC	37%	33%	
Beta talassemia	2,1%	0%	
Velocidade média inicial do sangue (cm/s)			
ACME (média \pm DP)	122,49 \pm 30,87	126,23 \pm 22,94	0,525*
ACMD (média \pm DP)	122,47 \pm 31,47	126,83 \pm 22,32	0,466*

DP – Desvio padrão, A – Anos, M – Média , ACME – Artéria Cerebral Média Esquerda, ACMD – Artéria Cerebral Média Direita, * Teste T de Student ** Teste do quiquadrado *** Teste exato de Fisher
Velocidade em centímetro por segundo

Os gráficos abaixo representam a comparação do DTC entre os grupos tratados e não tratados com HU.

Gráfico 3 Boxplot comparando a velocidade na ACMD após uso de HU e sem uso de HU

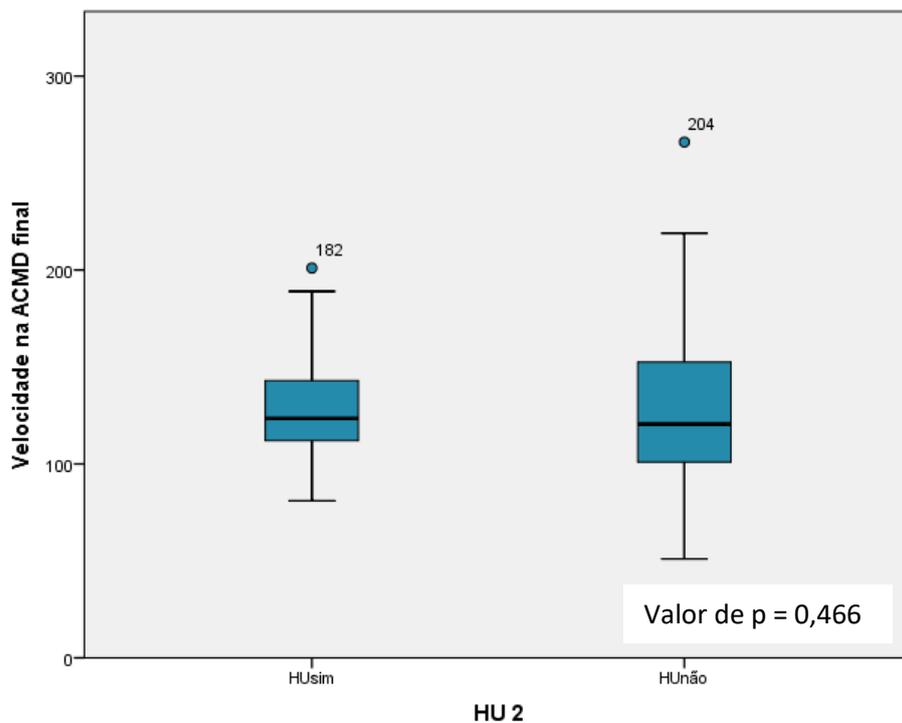
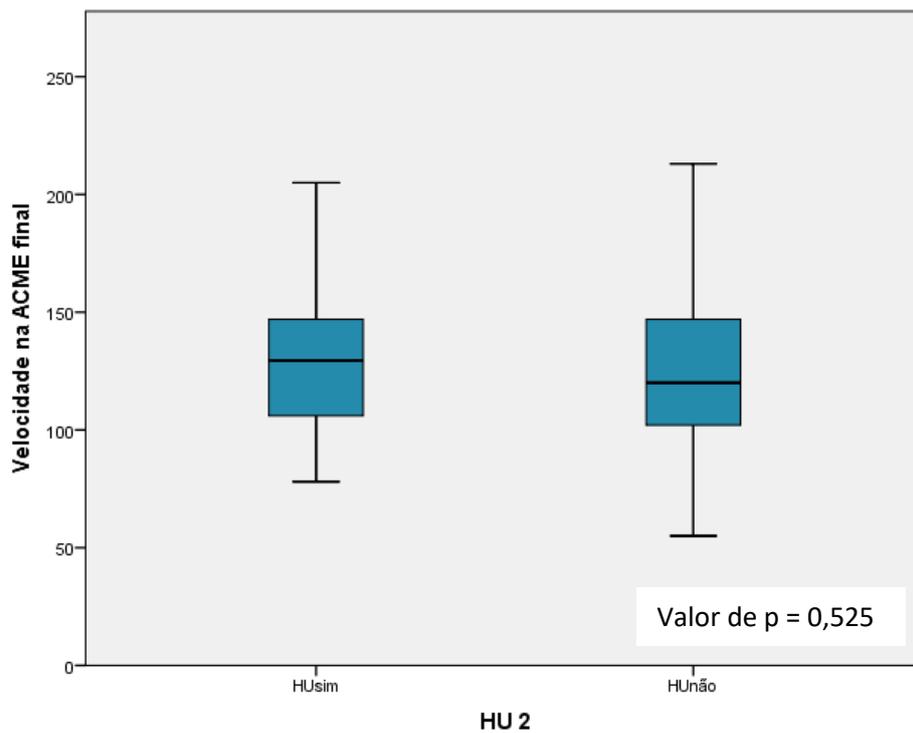


Gráfico 4 Boxplot comparando a velocidade na ACME após uso de HU e sem uso de HU



Ao ser comparado as medias da velocidade de fluxo do primeiro e segundo exame em cada grupo foi observado que o grupo não tratado apresentou uma diferença de media negativa significativa para ACMD(-5,5 ± 19,68 p< 0,001) e para ACME (-4,95±20,39 p= 0,002). No grupo tratado não houve diferença de média significativa.

A tabela 3 compara os resultados do doppler transcraniano através do teste de T pareado em paciente em uso de HU e os pacientes não tratados.

Tabela 3 Comparação entre doppler iniciais e finais entre os grupos HU sim e HU não

Doppler Transcraniano (cm/s)	HU sim			HU não		
	Média ± DP	Diferença de média	<i>p</i>	Média ± DP	Diferença da média	<i>p</i>
ACMDi	126,83 ± 22,32	0,10 ± 25,94	0,983*	122,47 ± 31,47	-5,5 ± 19,68	0,000*
ACMDf	126,73 ± 28,41			127,97 ± 35,56		
ACMEi	126,23 ± 22,94	-3,93 ± 22,21	0,340*	122,49 ± 30,87	-4,55 ± 20,39	0,002*
ACMEf	130,17 ± 30,76			127,04 ± 33,79		

ACMDi – Artéria Cerebral Média Direita inicial (primeiro exame); ACMDf – Artéria Cerebral Média Direita final (segundo exame); ACMDi – Artéria Cerebral Média Esquerda inicial; ACMDi – Artéria Cerebral Média Esquerda final

* teste T pareado

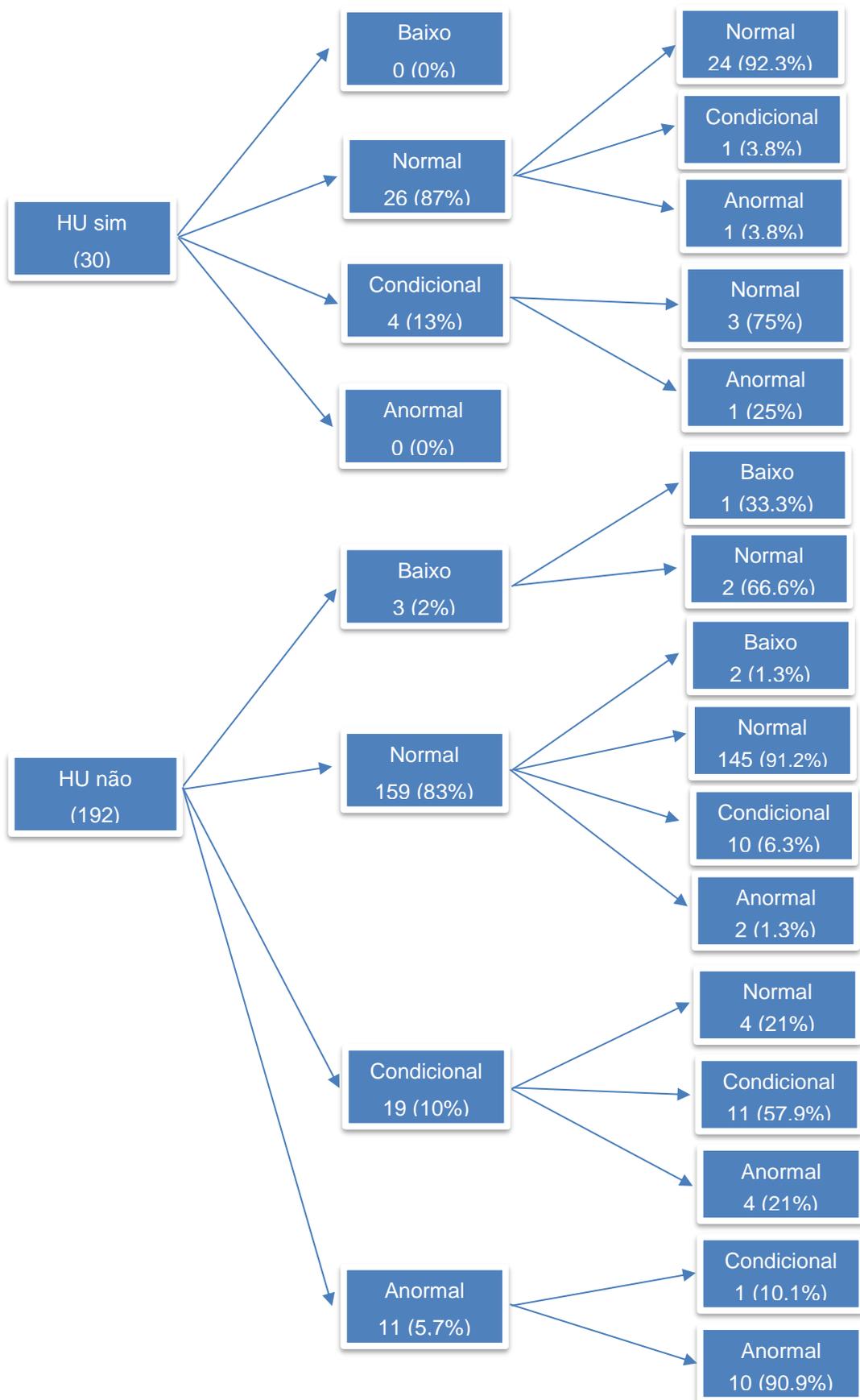
Na tabela 4 estão representados a classificação do DTC. No Grupo HU sim, após filtro para este grupo, foi avaliado a proporção de DTC baixo 0(0%), normal 26 (87%), condicional 4(13%), anormal 0(0%) no primeiro exame. No segundo exame 27(90%) foi normal, 1 condicional (3,3%) e 2 anormais (6,6%). No grupo HU não, após seleção deste grupo, o primeiro exame apresentou, 159(83%) normais, 19 (10%) condicional, 11 (5%) anormal, 3 (2%) baixo. No segundo exame, 151 (79%) normal, 22 (11%) condicional, 16(8%) anormal e 3(2%) baixo.

Tabela 4 Classificação das velocidades das artérias cerebrais médias nos grupos tratado e não tratado com hidroxiuréia, quanto ao primeiro e segundo Doppler Transcraniano.

Classificação do DTC	Grupo HU sim n (%)	Grupo HU não, n (%)
Velocidade média inicial (primeiro exame)		
Baixo	0 (0%)	3 (2%)
Normal	26 (87%)	159 (83%)
Condicional	4 (13%)	19 (10%)
Anormal	0 (0%)	11 (5%)
Velocidade média final (segundo exame)		
Baixo	0	3 (2%)
Normal	27 (90%)	151 (79%)
Condicional	1 (3,3%)	22 (11%)
Anormal	2 (6,6%)	16 (8%)

DTC – Doppler Transcraniano

Ao ser avaliado a evolução de cada categoria de DTC, do primeiro para o segundo exame observa-se que no Grupo HU Sim, dos 13% condicionais, 75% tornaram-se normais e 25% evoluíram para anormal. No Grupo HU Não, dos 10% condicionais no primeiro exame, 57,9% evoluíram para condicional, 21% para normal e 21% para anormal. **Fluxograma 2 abaixo.**



Fluxograma 2: Fluxograma descreve a mudança de categorias entre os pacientes que usaram e que não usaram a HU.

A tabela 5 descreve os resultados do Doppler Transcraniano entre os diferentes genótipos presentes nos grupos estudados. Observa-se que o genótipo HbSS apresentou os valores mais altos no DTC, apresentando diferença significativa em relação ao genótipo HbSC.

Tabela 5 Comparação da velocidade de fluxo das artérias cerebrais médias, entre os diferentes genótipos nos grupos tratado (HU sim) e não tratado com HU (HU não)

DTC (M ± DP) cm/s	HU sim				HU não			
	SS (20)	SC (10)	Sβ (0)	P	SS (123)	SC (71)	Sβ (4)	P
VACMDi	132,1 ± 20,3	116,3 ± 23,5	-	0,07*	131,5 ± 33,5	104,9 ± 21,4	106,2 ± 9,6	0,00**
VACMDf	130,15 ± 30,3	119,9 ± 24,2	-	0,36*	168,0 ± 20,7	108,5 ± 23,0	107,0 ± 11,2	0,005**
VACMEi	132,15 ± 23,2	114,4 ± 18,0	-	0,04*	132,3 ± 31,9	104,2 ± 19,3	116,5 ± 16,7	0,00**
VACMEf	137,6 ± 32,3	115,3 ± 22,0	-	0,06*	168,2 ± 18,4	106,3 ± 17,6	116,2 ± 18,3	0,00**

*- Teste t de amostras independentes **ANOVA teste

A diferença observada foi entre os genótipos SS e SC

DTC: Doppler Transcraniano

VACMDi – Média da velocidade máxima na artéria cerebral média direita inicial ;VACMDf – Média da velocidade máxima na artéria cerebral média direita final ;VACMEi – Média da velocidade máxima na artéria cerebral média esquerda inicial; VACMEf – Média da velocidade máxima na artéria cerebral média esquerda final

7. DISCUSSÃO

O AVE é uma complicação frequente na anemia falciforme e apresenta recorrência após um primeiro episódio, de modo a representar uma complicação de alta morbimortalidade. Apesar de eficazes, as transfusões apresentam alto custo ao sistema de saúde (internamentos, custos com o armazenamento e coleta de sangue) e aos pacientes (falta às aulas por conta de internamentos, deslocamento no caso de pacientes que moram em cidades pequenas e outros). A hidroxiureia apresenta-se como alternativa para a prevenção de acidentes vasculares primários, principalmente em pacientes classificados como condicionais, que ainda não apresentam critério para a transfusão, mas já apresentam risco para um desfecho desfavorável.

Nesse estudo, tivemos como objetivo avaliar se a HU modificaria a velocidade de fluxo nas artérias cerebrais médias, avaliando uma coorte retrospectivamente de crianças e adolescentes encaminhadas a um centro de referência para avaliação de DTC. No primeiro exame tivemos uma amostra de 222 pacientes com os principais

genótipos da hemoglobinopatia S, não usuários de HU e no segundo exame 30 delas haviam iniciado tratamento com HU. Observamos que não houve diferença estatística do DTC entre estes grupos. Ao avaliarmos a diferença de média da velocidade de fluxo entre o primeiro e o segundo exames em cada grupo, observamos que os pacientes que não fizeram uso da HU apresentaram diferença negativa significativa entre os exames, ou seja, houve um aumento significativo do DTC no segundo exame, sugerindo que crianças e adolescentes sem intervenção com HU apresentam progressão da velocidade de fluxo das artérias cerebrais médias, progressão de vasculopatia e possibilidade de maior risco de AVC. Não conseguimos demonstrar, nesta amostra, efeito positivo da HU, diminuindo a velocidade de fluxo após a introdução desta medicação, entretanto não houve deterioração nos resultados deste exame nos pacientes que utilizaram a medicação. Ademais, entre os pacientes em uso da HU que tinham velocidade na categoria condicional, 75% reduziram a velocidade para a categoria normal, enquanto os pacientes que não a utilizaram, 21% reduziu para velocidade dentro da normalidade e 21% aumentaram para categoria de velocidade anormal. Como essa variável está associada ao risco de desenvolvimento de acidentes vasculares cerebrais, pode-se dizer que os dois grupos estariam sujeitos a riscos diferentes para AVE primário, sendo maior no grupo não tratado com HU.

No ano de 2017, o artigo “Changes in Transcranial Doppler Flow Velocities in Children with Sickle Cell Disease: The Impact of Hydroxyurea Therapy” demonstrou que o uso da HU modificou favoravelmente o DTC no grupo estudado. O estudo foi retrospectivo, envolvendo 100 crianças, sendo que 51 delas estavam em uso de hidroxiureia. Os critérios de exclusão foram velocidades anormais e uso regular de transfusão. Nesse estudo, o tempo de uso da droga e a dose utilizada foram avaliados¹⁵. O principal benefício quanto ao uso da HU foi na velocidade nas artérias cerebrais médias classificada como condicional (170 a 199 cm/s), quando, dos 13 pacientes com esta classificação, 9 evoluíram para normal, 4 permaneceram em condicional e nenhum evoluiu para anormal¹⁵.

Quando foi comparado a velocidade de fluxo nas artérias cerebrais médias entre os vários genótipos observou-se que o genótipo HbSS apresentou valores mais elevados e houve diferença significativa em relação ao genótipo SC, demonstrando o que está relatado na literatura: maior gravidade do genótipo SS e maior risco de AVC.

O presente trabalho apresentou algumas limitações, como o pequeno número de pacientes que iniciaram o uso de HU, quando comparados aos que permaneceram sem tratamento, o que pode ter contribuído para não demonstrarmos a mudança na velocidade de fluxo após o tratamento com HU. No Banco de Dados utilizado não havia descrição do tempo de uso desta droga e da adesão ao tratamento. Apesar do Banco ser extenso, informações incompletas, relacionados aos critérios de inclusão e variáveis estudadas, impuseram a exclusão de vários pacientes da amostra.

Por ser um estudo longitudinal, o acompanhamento dos pacientes por mais tempo também seria importante para verificar a continuidade do efeito do medicamento, a necessidade do reajuste de dose ou da mudança do tratamento para transfusão. A dose da HU foi documentada, porém não havia o registro do peso da criança o que não permite a interpretação da informação (dose terapêutica ou dose inicial).

8 CONCLUSÃO

Crianças e adolescentes com DF, não tratados com HU tendem a evoluir com aumento da velocidade do Doppler Transcraniano ao longo do tempo, o que significa maior dano vascular e maior risco para AVE. O tratamento com HU provavelmente permite mudar a categoria condicional do DTC para a categoria normal. Pacientes com genótipo SS apresentam piores médias de velocidade o que significa maior gravidade.

9 REFERÊNCIAS

1. Insumos TE. Diário oficial da união. 2021;(55):21–2.
2. Ministério da Saúde. ATENÇÃO E CUIDADO : a experiência brasileira [Internet]. 2014. 79 p. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_atencao_cuidado_experiencia.pdf
3. Ware RE, Davis BR, Schultz WH, Brown C, Aygun B, Sarnaik S, et al. HHS Public Access. 2017;387(10019):661–70.
4. Ware RE, Helms RW. Stroke With Transfusions Changing to Hydroxyurea (SWITCH). Blood. 2012;119(17):3925–32.
5. Rabinstein AA, Schor NF, Verma A. Discontinuing Prophylactic Transfusions Used to Prevent Stroke in Sickle Cell Disease. Yearb Neurol Neurosurg. 2007;2007:59–61.
6. Parise CK, Pinto F, Aravéquia JA, Ribeiro BZ, Dutra LMM, Loureiro RNA, et al.

- No 主観的健康感を中心とした在宅高齢者における健康関連指標に関する共分散構造分析Title. Rev Bras Geogr Física [Internet]. 2016;11(9):141–56. Available from: [http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS - RJ/RBG/RBG 1995 v57_n1.pdf%0Ahttps://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/234295](http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/monografias/GEBIS-RJ/RBG/RBG-1995-v57_n1.pdf%0Ahttps://periodicos.ufpe.br/revistas/rbgfe/article/view/234295)
7. Manwani D, Frenette PS. Vaso-occlusion in sickle cell disease: pathophysiology and novel targeted therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013(24):362–9.
 8. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, Miller ST, Embury S, Moohr JW, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: Rates and risk factors. *Blood*. 1998;91(1):288–94.
 9. Lee MT, Piomelli S, Granger S, Miller ST, Harkness S, Brambilla DJ, et al. Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP): Extended follow-up and final results. Vol. 108, *Blood*. 2006. 847–852 p.
 10. Ware RE, Davis BR, Schultz WH, Brown RC, Aygun B, Sarnaik S, et al. Hydroxycarbamide versus chronic transfusion for maintenance of transcranial doppler flow velocities in children with sickle cell anaemia - TCD with Transfusions Changing to Hydroxyurea (TWITCH): A multicentre, open-label, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet [Internet]*. 2016;387(10019):661–70. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(15\)01041-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(15)01041-7)
 11. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert S V., et al. Effect of Hydroxyurea on the Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med*. 1995;332(20):1317–22.
 12. Thompson BW, Miller ST, Rogers ZR, Rees RC, Ware RE, Waclawiw MA, et al. The pediatric hydroxyurea phase III clinical trial (BABY HUG): Challenges of study design. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54(2):250–5.
 13. Ware RE, Aygun B. Advances in the use of hydroxyurea. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009;62–9.
 14. Purkayastha S, Sorond F. Transcranial doppler ultrasound: Technique and application. *Semin Neurol*. 2012;32(4):411–20.
 15. Adegoke SA, Macedo-campos RDS, Aparecida J, Braga P, Figueiredo MS, Silva GS. Changes in Transcranial Doppler Flow Velocities in Children with Sickle Cell Disease: The Impact of Hydroxyurea Therapy. *J Stroke Cerebrovasc Dis [Internet]*. 2017; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2017.09.020>