**Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**

Carolina Freitas Lins

**Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com
Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica**

**Ribeirão Preto- SP
2020**

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto**

Carolina Freitas Lins

**Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com
Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica**

Versão corrigida

A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD)

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa

**Ribeirão Preto- SP
2020**

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Lins, Carolina Freitas

Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica, 2020. 143p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor. Área de concentração: Diagnóstico por Imagem) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Orientador: Nogueira-Barbosa, Marcello Henrique.

1. Doença falciforme; 2. Ressonância magnética; 3. Hemólise; 4. Gravidade da Doença; 5. Medula óssea; 6. Adiposidade; 7. Hematopoiese.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Lins, Carolina Freitas

Título: Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Aplicadas ao Aparelho Locomotor da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Hildeberto Lins e Doraci Lins, exemplos de caráter, amor, humildade e determinação. Eles me ensinaram desde a infância que tudo vem do esforço, dedicação e amor. Durante toda minha trajetória, eles que sempre estiveram ao meu lado, nos momentos felizes e nos obstáculos da vida, sem eles nada seria possível! Eles são os maiores presentes de Deus em minha vida!

Dedico também aos meus alunos, fonte de incentivo e apoio. Sempre solícitos, com palavras de estímulo e cheios de disponibilidade para flexibilizar os horários de forma a permitir minhas idas a Ribeirão Preto. A cada “Prozinha, vai dar tudo certo!”, eles não imaginam como me impulsionaram a chegar neste momento tão sonhado! Estar com eles é sempre o melhor momento da minha semana, troca de conhecimentos e de muito amor, são filhos que Deus me deu!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao meu orientador, Professor Dr. Marcello Henrique Nogueira-Barbosa, a quem serei eternamente grata pelos ensinamentos, paciência, apoio constante e por confiar tanto em mim e no meu potencial. O seu incentivo ao meu crescimento profissional é notório e marcante: desde o dia que me falou sobre fazer doutorado na USP, passando pela vibração com a ideia para o projeto da tese e com a conclusão de cada etapa deste trabalho e, principalmente, por ficar feliz com cada passo desta minha trajetória, só um Professor nato age assim!

Muito obrigada, Professor!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por estar presente em todos os momentos da minha vida e na realização deste trabalho, sempre me iluminando nas decisões e concedendo a sabedoria necessária para concretizar este sonho.

Aos meus pais por me darem amor incondicional, força nos momentos de fraqueza e por serem exemplos de vida. Devo tudo a eles!

À minha família, especialmente à minha afilhada Maria Clara, por serem fonte de amor e torcida constante, além de terem a compreensão necessária para os momentos da minha ausência.

Agradeço de forma especial a todos os pacientes e voluntários nesta pesquisa. Sem a participação de vocês, nada seria possível! Obrigada pelo carinho, atenção e colaboração na concretização deste sonho!

À Clínica Delfin Medicina Diagnóstica e todo o Grupo Aliar, em nome de Dra. Thais Dias Gonzalez e Dra. Fernanda Dias Gonzalez Guindalini, minha eterna gratidão por me apoiarem e acolherem esta pesquisa, disponibilizando a estrutura física e operacional da Clínica para realização deste estudo e por sempre incentivarem meu crescimento como profissional e pesquisadora.

À Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, em nome da Professora Doutora Maria Luisa Carvalho Soliani (reitora) e da Professora Doutora Ana Verônica Mascarenhas Batista (Coordenadora do curso de Medicina), agradeço por me acolherem e incentivarem desde a época de estudante e, agora, como docente da Instituição. O apoio da Bahiana foi fundamental para estar onde estou, foi nela que tudo começou 20 anos atrás, na primeira pesquisa que participei como discente e, hoje, como docente afirmo que não poderia ter feito melhor escolha.

À ABADFAL (Associação Baiana das Pessoas com Doença Falciforme), pelo acolhimento, confiança e carinho com que me ajudaram e incentivaram nesta pesquisa. Aprendi demais com vocês! Muito obrigada!

Ao professor e amigo, Dr. Marcos Antonio Almeida Matos, meus sinceros e mais profundos agradecimentos pelo apoio e constante disponibilidade desde a concepção do projeto deste trabalho e durante toda a sua execução.

Ao Professor Carlos Ernesto Garrido Salmon, agradeço pela paciência em compartilhar comigo seus conhecimentos, em me ajudar na realização das análises da espectroscopia, na confecção dos artigos, mas também, e principalmente, pelo acolhimento, simpatia e disponibilidade em todos os momentos desta pesquisa.

Ao amigo Eduardo Figueiredo, um anjo que Deus colocou em meu caminho! Sem ele não iria conseguir realizar esta pesquisa. Ele foi fundamental na construção dos protocolos da RM, mas também, para me tranquilizar e dizer que estava no caminho certo em vários momentos.

À Professora Dra. Ana Cristina Silva-Pinto, ser de luz, pessoa admirável! Sua humildade, incentivo e apoio sem nem me conhecer profundamente serão características sempre lembradas por mim! Obrigada por toda a sua disponibilidade e valiosa contribuição neste trabalho.

À Rita Cossalter, presente de Deus! Suas dicas preciosas desde as orientações para a realização do processo seletivo, o apoio na matrícula, no cumprimento dos créditos, na qualificação, na defesa e, principalmente, suas palavras de carinho e acolhimento na pós-graduação. Obrigada de coração!

Às minhas alunas e amigas, Luana Amorim de Souza e Raquel Cristina Saldanha Quesado, palavras são poucas para expressar minha gratidão ao apoio que me deram durante a coleta e execução da pesquisa. Tenho muito orgulho de ver o crescimento profissional de vocês e de tê-las ao meu lado neste momento tão importante!

À amiga Roberta Moraes, meu mais sincero e profundo agradecimento por sua amizade, apoio, incentivo e entrega durante a coleta desta pesquisa. Foram vários domingos que você abdicou de estar com sua família, para me ajudar neste sonho. Deus te abençoe, amiga!

À Comunidade da Igreja Batista Monte Gerizim, serei eternamente agradecida pela contribuição nesta pesquisa, ganhei amigos para a vida. Sem o apoio de vocês, nada seria possível!

Aos amigos, Francisco Abaeté, Gustavo Simões e Adriano Rocha, obrigada por me apresentarem a Professor Marcello e me incentivarem na realização deste sonho!

A Dr. Delfin Gonzalez exemplo de médico e ser humano! Obrigada por me permitir participar do seu corpo clínico e pelas oportunidades profissionais a mim concedidas.

À Dra. Isabela Muller, minha sincera admiração e gratidão por sempre me incentivar e vibrar com cada conquista! Obrigada por sua disponibilidade em me dar conselhos e compartilhar seus conhecimentos! Sou sua fã!

A Dr. Mittermayer Santiago, profissional humano e amigo que a Ciência me deu, tudo começou com seus ensinamentos e com seu exemplo.

A Rodrigo Pessine, Natália Chiari, João Paulo Hollanda e Jefferson Araujo, pessoas iluminadas e disponíveis que me apoiaram durante este trabalho. Rodrigo com toda a paciência realizando o processamento e me enviando os gráficos da espectroscopia; Natália com seus conhecimentos de informática, dicas valiosas e palavras de incentivo; João Paulo e Jefferson com o apoio de informática na Clínica Delfin, enviando as imagens brutas da espectroscopia semanalmente para mim, vocês foram fundamentais. Muito obrigada!

Ao Serviço de Bioestatística da FMRP-USP, pelo apoio no cálculo amostral e na análise estatística.

Ao Instituto de Perinatologia da Bahia, em nome de Dra. Dolores Fernandez e Dra. Andrea Henrique, pelo apoio e flexibilidade em minha escala, permitindo minhas idas à Ribeirão Preto.

Aos amigos Joelly, Diógenes e Luan pela disponibilidade, companheirismo e ajuda com as informações clínicas e ortopédicas para o banco de dados.

Aos funcionários e amigos da Clínica Delfin Medicina Diagnóstica, em nome de Sherly, Iris, Anne, Bete, Marcinha, Dani, Juliana, Emisson, Valmir, Renatinha que direta ou indiretamente participaram deste trabalho.

Às amigas que foram presentes que a USP me deu pra vida, Juliana Sella e Julianne Machado, vocês foram tão importantes para minha adaptação nas idas à Ribeirão Preto! Como vocês falavam, eu caí de paraquedas e vocês me ajudaram a levantar e encontrar o rumo no Campus. Obrigada amigas!

Aos amigos e colegas da Pós-Graduação e do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto, em nome de Paulo Agnollitto, Hélcio Mendonça, Eliane Santos Damasceno e Maria Cecilia Onofre, pelo apoio em vários momentos.

Aos meus alunos e monitores por serem fonte inesgotável de estímulo, torcida e inspiração. Amo vocês!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

“Habitue-se a ouvir a voz do seu coração. É através dele que Deus fala conosco e nos dá a força que necessitamos para seguirmos em frente, vencendo os obstáculos que surgem na nossa estrada.

Sempre que puder, fale de amor e com amor para alguém. Faz bem aos ouvidos de quem ouve e à alma de quem fala”.

Santa Dulce dos Pobres - Irmã Dulce

RESUMO

Lins, Carolina Freitas. Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica. 2020. [Tese]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Ribeirão Preto, 2020.

A doença falciforme (DF) cursa com múltiplas complicações clínicas, destacando-se manifestações crônicas na medula óssea secundárias à hemólise, com persistência da medula hematopoiética nas crianças e reconversão medular nos adultos, além de eventos ósseos vaso-oclusivos. A ressonância magnética (RM) permite boa avaliação destas alterações, destacando-se o estudo da medula óssea, com análise qualitativa e recursos quantitativos. Dentre eles, ressalta-se a técnica DIXON pela rapidez de execução e facilidade de processamento. Assim, diante da necessidade de investigar potenciais parâmetros que permitam aferir a gravidade da DF, o presente estudo pretende avaliar a medida da fração de gordura na medula óssea pela técnica DIXON de seis pontos como potencial biomarcador de gravidade clínica. Trata-se de estudo de corte transversal com grupos de comparação (DF e controle) em que todos os participantes realizaram RM da coluna lombar e da bacia com imagens na sequência IDEAL-IQ (técnica DIXON de seis pontos) para quantificação da fração de gordura (FGdix). Utilizamos regiões de interesse nos corpos vertebrais lombares e na primeira vértebra sacral, bem como nos íliacos, cabeças femorais, trocanteres maiores dos fêmures e colos femorais. Os pacientes com DF preencheram questionário clínico-demográfico e realizaram alguns exames laboratoriais. A ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” foi utilizada para o cálculo dos escores de gravidade da DF. As alterações ósseas secundárias a fenômenos vaso-oclusivos foram agrupadas na variável complicações ósseas e os dados de dosagem de hemoglobina sérica $Hb \leq 9,5$ g/dl e LDH > 300 U/L permitiram a criação da variável hemólise. Foram 96 participantes, pareados por sexo, peso e idade, sendo 48 com DF, destes, 26 eram do subtipo HbSS e 22 HbSC. Os achados mais frequentes nos pacientes do grupo DF, em ordem decrescente, foram necrose avascular da cabeça femoral (75%), infartos ósseos (58,3%), vértebras com morfologia em “H” (58,3%) e necrose da medula óssea (8,3%). Além disso, foi observada uma maior espessura da cortical óssea nos pacientes com DF em relação

ao grupo controle e identificamos frequência não desprezível de necrose da medula óssea no grupo DF. A espessura da cortical óssea nas porções proximais das diáfises femorais nos pacientes com DF apresentou moderada correlação negativa com a medida da FGdix nas vértebras lombares, ilíacos, colos femorais e na primeira vértebra sacral. Além disso, a FGdix foi menor nos pacientes com DF em relação ao grupo controle, apresentando valores ainda mais baixos no subtipo HbSS (mais graves) e nos pacientes com maior grau de hemólise, bem como nos que apresentaram mais complicações ósseas por eventos vaso-oclusivos. Assim, a FGdix demonstrou ser um parâmetro com potencial utilidade no acompanhamento do tratamento, bem como na avaliação da gravidade da DF, destacando-se os ilíacos e as cabeças femorais como melhores locais para aferição da FGdix.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Ressonância magnética. Hemólise. Gravidade da Doença. Medula óssea. Adiposidade. Hematopoiese. Osteonecrose.

ABSTRACT

Lins, Carolina Freitas. Evaluation of Bone Marrow by Magnetic Resonance in Patients with Sick Cell Disease and its Association with Clinical Severity. 2020. [Thesis]. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Ribeirão Preto, 2020.

Sickle cell disease (SCD) is associated with multiple clinical complications, especially chronic manifestations in the bone marrow secondary to hemolysis, with persistence of the hematopoietic marrow in children and bone marrow reconversion in adults, in addition to vaso-occlusive bone events. Magnetic resonance imaging (MRI) allows a good evaluation of these changes, with emphasis on the study of bone marrow, with qualitative analysis and quantitative resources. Among them, the DIXON technique stands out for its speed of execution and ease of processing. Thus, in view of the need to investigate potential parameters to assess the severity of SCD, the present study intends to evaluate the measurement of the fat fraction in the bone marrow by the six-point DIXON technique as a potential biomarker of clinical severity. This is a cross-sectional study with comparison groups (SCD and control) in which all participants underwent MRI of the lumbar spine and pelvis with images in the IDEAL-IQ sequence (six-point DIXON technique) to quantify the fat fraction (FFdix). We used regions of interest in the lumbar vertebral bodies and the first sacral vertebra, as well as in the iliacs, femoral heads, greater trochanters of the femurs and femoral necks. SCD patients completed a clinical-demographic questionnaire and underwent some laboratory tests. The tool "Sickle Cell Disease Severity Calculator" was used to calculate the severity scores of SCD. Bone changes secondary to vaso-occlusive phenomena were grouped into the variable named bone complications; the serum hemoglobin dosage data ≤ 9.5 g/dl and lactate dehydrogenase > 300 U/L allowed the creation of the hemolysis variable. There were 96 participants, matched for sex, weight and age, 48 with SCD, of these, 26 were of the HbSS subtype and 22 were HbSC subtype. The most frequent findings in patients of SCD group, in decreasing order, were avascular necrosis of the femoral head (75%), bone infarctions (58.3%), H-shaped vertebra (58.3%) and necrosis of the bone marrow (8.3%). In addition, a greater thickness of the cortical bone was observed in patients with SCD compared to the control group and we identified a non-negligible frequency of bone marrow necrosis

in the SCD group. The thickness of the cortical bone in the proximal portions of the femoral diaphysis in patients with SCD presented a moderate negative correlation with the measurement of FGdix in the lumbar, iliac, femoral necks and in the first sacral vertebrae. In addition, FFdix was lower in patients with SCD compared to the control group, showing even lower values in the HbSS subtype (more severe) and in patients with a higher degree of hemolysis, as well as in those who had more bone complications due to vaso-occlusive events. Thus, FFdix proved to be a parameter with potential usefulness in monitoring treatment, as well as in assessing the severity of SCD, highlighting the iliac and femoral heads as the best places for measuring FFdix.

Keywords: Sick cell anemias. Magnetic resonance imaging. Hemolysis. Illness Index Severity. Bone marrow. Adiposity. Hematopoiesis. Osteonecrosis.

LISTA DE ABREVIACÕES

2,3-DPG – 2,3-difosfoglicerato

3D – Tridimensional

AVE – Acidente vascular encefálico

B0 – Campo magnético estático

BT – Bilirrubina total

CV – Coeficiente de variância

DDP – DIXON de dois pontos

DF – Doença falciforme

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DP – Densidade de prótons

DP – Desvio-padrão

DTP – DIXON de três pontos

EF – Em fase

FATSAT – Fat saturation (saturação de gordura)

FF – Fora de fase

FG – Fração de gordura

FGdix – Fração de gordura obtida pela técnica DIXON modificada de seis pontos

fl – Fentolitros

g/dl – Grama por decilitro

G6PD – Glicose-6-fosfato desidrogenase

Hb – Hemoglobina

Hb A – Hemoglobina A

HbA1 – Hemoglobina A1

HbA2 – Hemoglobina A2

HbAS – Traço falciforme

HbC – Hemoglobina C

HbF – Hemoglobina Fetal

HbS – Hemoglobina S

HbSC – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C

HbSD – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e D

HbSE – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e E

HbSS – Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme)

HbS β^+ – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobina S e talassemia β^+
HbS β^0 – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobina S e talassemia β^0
Ht – Hematócrito
Hz – Hertz
IC 95% – Intervalo de Confiança a 95%
ICAM1 – Molécula de adesão intercelular 1
ICC – Coeficiente de correlação intraclasse
IDEAL – Iterative Decomposition of Water and Fat with Echo Asymmetry and Least-squares Estimation
IDEAL-IQ – Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation quantitation sequence
IgG – Imunoglobulina G
IL-1 β – Interleucina 1 β
IL-6 - Interleucina 6
Kg – Quilogramas
LDH – Desidrogenase láctica
Máx – Máximo
Mg – Miligramas
mg/dl – Miligrama por decilitro
Mín – Mínimo
mm - Milímetro
mm³ - Milímetro cúbico
ms – Milissegundo
N – Número total
ng/dl – Nanograma por decilitro
OMS – Organização Mundial da Saúde
OR – Odds Ratio
p.p.m – partes por milhão
PDFF – Proton density fat fraction
r – Coeficiente de correlação de Pearson
RM – Ressonância magnética
ROI – Região de interesse
RSR – Relação sinal ruído
s – Segundo

SIDA – Síndrome da imunodeficiência adquirida
SPGR – Spoiled gradient-recalled echo
SPSS – Statistical Package for the Social Science
SSFP – Balanced steady-state free precession
STA – Síndrome torácica aguda
STIR – Short tau inversion recovery
T – Tesla
TC – Tomografia computadorizada
TNF – Fator de necrose tumoral
U – Unidades de bolsa de sangue
U/L – Unidade por litro
US – Ultrassonografia
VCAM1 – Proteína de adesão vascular 1
VCM – Volume corpuscular médio
WBC – Leucócitos totais

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Incidência dos nascidos vivos com Doença Falciforme e traço falcêmico.	36
Tabela 2 – Características laboratoriais das principais hemoglobinopatias.	41
Tabela 3 – Dados demográficos dos pacientes com DF e do grupo controle.	89
Tabela 4 – Dados clínicos referidos pelos pacientes com DF (HbSS e HbSC).	89
Tabela 5 – Número de bolsas de sangue de acordo com o subtipo de DF.	90
Tabela 6 – Resumo dos resultados de exames laboratoriais nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.	90
Tabela 7 – Valores do escore de gravidade pela ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.	91
Tabela 8 – Achados de RM nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.	92
Tabela 9 – Comparação da espessura da cortical óssea na porção proximal das diáfises femorais entre os grupos DF e controle, bem como entre os subtipos de DF.	92
Tabela 10 – Comparação da FGdix entre os pacientes com DF e os controles, bem como entre os subtipos de DF (HbSS e HbSC).	93
Tabela 11 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC detecção de pacientes com DF através da FGdix.	94
Tabela 12 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC detecção de pacientes subtipo HbSS através da FGdix.	95
Tabela 13 – Comparação entre dados clínicos e FGdix nos pacientes com DF.	96
Tabela 14 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF.	97
Tabela 15 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF de acordo com o subtipo HbSS.	98
Tabela 16 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF de acordo com o subtipo HbSC.	98
Tabela 17 – Valores da FGdix nos pacientes com ou sem hemólise.	101
Tabela 18 – Valores da FGdix nos pacientes com ou sem complicações ósseas.	101
Tabela 19 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC para detecção dos pacientes com hemólise através do desempenho das medidas de FGdix nos diversos locais de aferição.	101

Tabela 20 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC para detecção dos pacientes com complicações ósseas através do desempenho das medidas de FGdix nos diversos locais de aferição.....	102
Tabela 21 – Odds ratio das FGdix em relação à hemólise aferida indiretamente pela dosagem de Hb ($\leq 9,5$) entre os subtipos HbSS e HbSC.	103
Tabela 22 – Odds ratio das FGdix em relação às complicações ósseas entre pacientes com DF e grupo controles.....	103
Tabela 23 – Coeficientes de correlação intraclasse nas médias de FG nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC para análise intraobservador.	104
Tabela 24 – Coeficientes de correlação intraclasse nas médias de FGdix nos participantes (DF x controle) e nos subtipos HbSS e HbSC para análise interobservadores.	104

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Esquemas de moléculas de hemoglobina (normal, com traço falciforme e na DF), bem como do polímero formado no processo de desoxigenação da hemoglobina S.	38
Figura 2 – Cópia da tela da calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator”, demonstrando os itens contabilizados para o cálculo do risco de morte.....	47
Figura 3 – Classificação de gravidade de acordo com idade e valor da calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator”.	47
Figura 4 – Resumo esquemático das complicações musculoesqueléticas na DF.	52
Figura 5 – Radiografia do ombro de paciente feminina com 40 anos, demonstrando irregularidade cortical com colapso ósseo, secundário a osteonecrose na cabeça umeral.	54
Figura 6 – A e B – RM de bacia de paciente feminina 31 anos, subtipo HbSS, demonstrando infarto ósseo na região proximal do fêmur esquerdo. C e D – RM do quadril de paciente feminina com 28 anos, demonstrando área de osteonecrose com sinal da dupla linha, ainda percebendo-se manutenção da esfericidade da cabeça femoral.	55
Figura 7 – Radiografia e RM da coluna lombar de paciente masculino, 41 anos, mostrando vértebras em “H”.....	56
Figura 8 – RM da bacia de paciente feminina com 40 anos, ilustrando reconversão da medula óssea poupando apenas parte dos trocanteres maiores dos fêmures (T1 à esquerda e T2 com supressão de gordura à direita).....	58
Figura 9 – Representação dos vetores de magnetização transversal da água e da gordura em aquisições com diferentes tempos de eco (indicados em ms), tomando como referência a frequência da água em uma máquina de 1,5T.	62
Figura 10 – Imagens fornecidas em uma única aquisição pela técnica DIXON modificada (DSP) de uma paciente feminina de 33 anos, para obtenção de imagens que permitem quantificar diretamente a fração de gordura e estimativa do conteúdo de ferro. Em A, Fração de gordura (FG); em B, water-only; em C, fat-only; em D, R2*; em E, in-phase; em F, out-of-phase. Pode-se ilustrar a avaliação quantitativa com regiões de interesse (ROI) demarcadas, demonstrando percentual de gordura (A) e estimativa do conteúdo de ferro (D).	66

Figura 11 – Paciente feminina, com 45 anos, apresentando aspecto típico pela RM de necrose da medula óssea, caracterizado por padrão de edema na medula óssea, envolvendo vértebras lombares e estruturas ósseas da bacia, sem progressão para colapso ósseo.....	81
Figura 12 – Demonstração da medida da espessura da cortical óssea, realizada no plano coronal na sequência T1.....	82
Figura 13 – Demonstração das imagens obtidas em uma única aquisição com a técnica DIXON modificada de seis pontos.....	83
Figura 14 – Demonstração dos locais de medida da FGdix na bacia (ilíacos, cabeças femorais, trocanteres maiores dos fêmures e colos femorais), bem como nas vértebras lombares e no sacro.	84
Figura 15 – Curva ROC demonstrando a detecção dos pacientes com DF dentre os participantes do estudo, através da FGdix nos diversos locais de aferição.....	94
Figura 16 – Curva ROC demonstrando a detecção dos indivíduos subtipo HbSS dentre os pacientes com DF, através da FGdix nos diversos locais de aferição.	95
Figura 17 – Correlação de Pearson entre espessura da cortical óssea e as medidas de FGdix nos pacientes do subtipo HbSC.	99
Figura 18 – Curvas ROC avaliando a espessura da cortical óssea no fêmur proximal para detectar complicações ósseas nos participantes do estudo (A) e nos pacientes do subtipo HbSC (B).	100
Figura 19 – Curva ROC para análise da FGdix em pacientes com DF e presença de hemólise.	102
Figura 20 – Curva ROC para análise da FGdix em indivíduos com complicação óssea da DF.....	102

SUMÁRIO

1. Introdução	31
2. Fundamentação Teórica.....	35
2.1. Doença Falciforme	35
2.1.1. Definição.....	35
2.1.2. Epidemiologia	35
2.1.3. Fisiopatologia.....	37
2.1.4. Diagnóstico e tipos de DF.....	40
2.1.5. Manifestações clínicas.....	41
2.1.6. Gravidade da DF	44
2.1.7. Tratamento e condutas	48
2.1.8. Exames laboratoriais na DF	49
2.1.9. Exames complementares de imagem no sistema musculoesquelético em pacientes com DF	51
2.2. Técnica DIXON de RM e Espectroscopia na avaliação da medula óssea ...	59
2.2.1. Técnica DIXON.....	60
3. Justificativa	71
4. Objetivos	75
4.1. Geral	75
4.2. Específicos.....	75
5. Metodologia.....	79
5.1. Desenho do Estudo.....	79
5.2. Cálculo Amostral	79
5.3. Seleção da população, critérios de inclusão e exclusão	79
5.4. Aspectos clínicos	80
5.5. RM da coluna lombar e da bacia.....	81

5.6. Calculadora online para estimativa do risco de morte na DF	84
5.7. Análise estatística.....	85
6. Resultados	89
6.1. Descrição dos dados demográficos e achados clínicos	89
6.2. Descrição dos achados laboratoriais	90
6.3. Calculadora online para estimativa do risco de morte na DF	91
6.4. Descrição dos achados de RM.....	91
6.4.1. Avaliação pelas sequências convencionais	91
6.4.2. Avaliação Quantitativa pela Técnica DIXON	92
6.4.3. FGdix x Dados Clínicos.....	95
6.4.4. FGdix x Exames Laboratoriais	97
6.4.5. FGdix x Calculadora on-line	98
6.4.6. FGdix x Achados Qualitativos de Imagem na RM.....	99
6.4.7. FGdix x Complicações ósseas e hemólise.....	100
6.5. Análises intra e interobservadores.....	103
7. Discussão	107
8. Conclusão	117
9. Referências Bibliográficas	121
ANEXOS.....	139
Anexo A – Parecer Consubstanciado com aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública.....	139
Anexo B – Publicação da pesquisa na Revista Radiologia Brasileira.....	145
Anexo C – Trabalho intitulado “Fat Quantification of Bone Marrow by Magnetic Resonance Imaging in Patients with Sickle Cell Disease and its Association with Clinical Severity” com resultados da tese aceito para apresentação no RSNA 2020 Anual Meeting.....	146
Anexo D – Artigo intitulado “Six-point DIXON and Magnetic Resonance Spectroscopy Techniques in Quantifying Bone Marrow Fat in Sickle Cell Disease”	

(com parte dos resultados desta tese) submetido para publicação na revista Radiology	147
APÊNDICES	151
Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	151
Apêndice B – Termo de Assentimento	153
Apêndice C – Questionário sócio demográfico	155

1. Introdução

1. Introdução

A doença falciforme (DF) é um termo genérico atribuído ao grupo das alterações genéticas com domínio da hemoglobina S (HbS) (Arduini *et al.*, 2017). Dentre elas, destaca-se a anemia falciforme por ser a mais frequente doença monogênica, apresentando acometimento multissistêmico, caracterizado por danos crônicos progressivos em vários órgãos, bem como crises agudas (Rees *et al.*, 2010; Azar e Wong, 2017). Esta enfermidade predomina em afrodescendentes, apesar de não ser exclusiva desta população (Roberti *et al.*, 2010). A incidência de DF no Brasil encontra-se em torno de 1-3/ 1000 nascidos vivos (Arduini *et al.*, 2017). Na Bahia, onde a descendência africana predomina, a taxa de incidência alcança 1/650 recém nascidos em indivíduos com DF, e 1/ 17 naqueles com traço falciforme (Ministério da Saúde., 2012).

Existem múltiplas complicações clínicas relacionadas à DF, sendo as mais frequentes: crises álgicas, acidente vascular encefálico (AVE), síndrome torácica aguda (STA), infecções, priapismo, úlceras nas pernas, osteonecrose, além de problemas cardíacos e renais (Fernandes *et al.*, 2015; Piel *et al.*, 2017). Destacam-se ainda, manifestações crônicas na medula óssea secundárias à hemólise, promovendo persistência da medula vermelha nas crianças e reconversão medular nos adultos, caracterizando hiperplasia da medula hematopoiética (Ejindu *et al.*, 2007; Kosaraju *et al.*, 2017). Este processo inicia-se no esqueleto axial, notadamente na coluna vertebral e na bacia (Hanrahan e Shah, 2011; Sachan *et al.*, 2015). Pode ocorrer ainda, aumento do volume medular ósseo, com acúmulo de trabéculas e afilamento cortical, tornando o osso osteopênico e susceptível a fraturas (Ejindu *et al.*, 2007; Kosaraju *et al.*, 2017).

Os métodos de imagem podem contribuir para detecção de algumas complicações da DF, destacando-se o papel da ressonância magnética (RM) na avaliação da medula óssea (Kosaraju *et al.*, 2017). As imagens adquiridas em um exame convencional de RM podem ser utilizadas no estudo da conversão normal de medula vermelha para amarela ao longo do tempo em indivíduos saudáveis, permitindo uma análise qualitativa, inclusive detectando reconversão medular. No entanto, recursos que permitam quantificar mais precisamente as alterações celulares podem ajudar a expandir o conhecimento sobre doenças sistêmicas envolvendo a medula óssea (Loevner *et al.*, 2002; Karampinos *et al.*, 2017).

Dentre os recursos de quantificação em RM, estão incluídos relaxometria, perfil lipídico determinado por espectroscopia e a técnica DIXON. A relaxometria permite a criação de histogramas para quantificação da gordura, tendo sido extrapolada para a análise da medula óssea (Suzuki *et al.*, 2006; Elias *et al.*, 2013; Liao *et al.*, 2013). A espectroscopia, por sua vez, permite a quantificação lipídica na medula óssea (Maciel *et al.*, 2017), fornecendo informações indiretas a respeito da reconversão medular. Já a técnica DIXON modificada de seis pontos disponibiliza seis tipos de imagem em apenas uma aquisição, tendo rápida execução e processamento (Ozgen, 2017; Lins *et al.*, 2020). Assim, a quantificação da fração de gordura (FG), tem sido utilizada com o intuito de fornecer medidas sobre a celularidade medular.

Fatores ambientais e relacionados ao próprio indivíduo com DF podem ser considerados na tentativa de predizer a gravidade da doença. No entanto, a despeito de várias propostas de classificações da gravidade na DF, não existem marcadores validados para esse intuito, representando uma lacuna que dificulta o desenvolvimento de novas terapias (Quinn *et al.*, 2010; Belini Junior *et al.*, 2015; Pace e Goodman, 2016). Assim, a necessidade de investigar potenciais recursos que permitam aferir a gravidade, somada à habitual reconversão medular na DF, identificamos a possibilidade de utilizar a FG na medula óssea como potencial biomarcador para monitorar a gravidade da DF, bem como analisar sua progressão e eficácia do tratamento.

2. Fundamentação Teórica

2. Fundamentação Teórica

2.1. Doença Falciforme

2.1.1. Definição

Doença falciforme (DF) é um termo abrangente para definição de um grupo de enfermidades hereditárias (Kato *et al.*, 2018). Corresponde a doença autossômica recessiva que afeta a produção, a longevidade e a função da hemoglobina (Hb) através de uma mutação no gene que codifica a subunidade beta desta molécula (Azar e Wong, 2017). A condição é bem reconhecida em muitas tribos africanas por nomes distintos que refletem os sintomas dolorosos ou sinais como esplenomegalia, no entanto, “drepanocitose” do grego drepane (foice) ou “anemia falciforme” do latim falcicula (foice ou forma falsa) é comum na Europa e usada em partes da África e da América (Ware *et al.*, 2017). Esta denominação para a doença origina-se do formato das hemácias em foice na presença da HbS (Hay e Atoyebi, 2016; Ware *et al.*, 2017).

2.1.2. Epidemiologia

Existe pouca informação sobre a história natural da DF. A primeira descrição de hemácias (eritrócitos) em forma de foice ocorreu em 1910 por Herrick (Herrick, 2001). Desde então, o entendimento sobre a DF aumentou gradualmente e, em 1949, Pauling *et al.* observaram alterações na eletroforese da HbS, caracterizando-a como uma doença molecular (Pauling *et al.*, 1949). Inicialmente, a DF era mais frequente entre os africanos, já as talassemias ocorria principalmente nos povos do Mediterrâneo, Ásia e China (Ministério da Saúde., 2018). No entanto, as migrações populacionais permitiram a difusão da DF além de suas origens (Piel *et al.*, 2017).

A prevalência da DF é alta em grandes áreas na África Subsaariana, bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia, pela proteção que a heterozigose para a mutação falciforme (traço falciforme) fornece contra a malária severa (Grosse *et al.*, 2011). O mecanismo exato deste efeito protetor ainda é desconhecido, mas sabe-se que existe um processo de seleção natural nestes indivíduos (Serjeant, 2013; Houwing *et al.*, 2019). Já as estimativas populacionais nos Estados Unidos sugerem que um total de aproximadamente 100.000 pessoas tenham a doença (Hassell, 2010).

No tocante à estimativa global em todas as faixas etárias para a prevalência da DF, observa-se uma deficiência nesta informação pela escassez de dados epidemiológicos, em particular sobre mortalidade nas áreas de alta prevalência (Piel *et al.*, 2017; Kato *et al.*, 2018).

Em relação à incidência de DF identifica-se grande variação, dependendo da localização e da etnia (Feuchtbaum *et al.*, 2012). Entre os afro-americanos, aproximadamente 1 em cada 360 recém-nascidos possuem DF (Kato *et al.*, 2018). Por ano, para cada região da Organização Mundial da Saúde (OMS), as taxas de neonatos com DF são estimadas em 230.000 na Região Africana, 43.000 na Região Sudeste da Ásia, 13.000 na Região das Américas, 10.000 na Região do Mediterrâneo Oriental, 3500 na Região Europeia e quatro na região do Pacífico Ocidental. A incidência global de DF está aumentando e espera-se que continue crescendo no futuro, estimando-se que até 2050, esses números aumentarão em mais de 25%, com mais de 400.000 bebês nascidos anualmente com esta enfermidade (Pleasants, 2014; Azar e Wong, 2017).

O Brasil possui uma das populações com maior heterogeneidade genética do mundo, resultado de cinco séculos de cruzamentos interétnicos de povos de três continentes: europeus, africanos e índios americanos (Parra *et al.*, 2003). Como a DF tem relação com a descendência africana e o número de afrodescendentes no Brasil é considerável, a incidência de DF em recém-nascidos varia entre os estados na população brasileira (Kato *et al.*, 2018). Em 2012, a incidência de DF foi cerca de 1 em 650 recém-nascidos na Bahia, 1 em 1.300 no Rio de Janeiro e 1 em 11.000 no Rio Grande do Sul; já o número de novos indivíduos nascidos vivos com traço falciforme, neste mesmo período, foi aproximadamente 1 em cada 17 na Bahia, 1 para 20 no Rio de Janeiro e 1 para 65 na região Sul do país (Ministério da Saúde., 2012) (Tabela 1).

Tabela 1 – Incidência dos nascidos vivos com Doença Falciforme e traço falcêmico.

	Doença Falciforme	Traço Falciforme
Bahia	1:650	1:17
Rio de Janeiro	1:300	1:20
Espírito Santo	1:1.800	1:28
Minas Gerais		1:30
São Paulo	1:4.000	1:35
Rio Grande do Sul	1:11.000	
Santa Catarina e Paraná	1:13.500	
Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná		1:65

FONTE: Adaptado de Brasil. Doença falciforme: condutas básicas para tratamento. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde; 2012.

Nos últimos 60 anos, vários estudos de coorte foram realizados, tanto em países de alta quanto de média renda financeira, envolvendo adultos e crianças com DF, mostrando uma tendência ao aumento da sobrevida destes pacientes (Quinn *et al.*, 2010; Gardner *et al.*, 2016). Contudo, os dados disponíveis sobre DF na África Subsaariana e na Índia são limitados, com alguns estudos africanos indicando mortalidade por DF durante a infância (até cinco anos de idade) variando entre 50 a 90% (Grosse *et al.*, 2011). No Brasil, dados de 2012 mostram que a vida média dos indivíduos com DF alcançou a faixa dos 48 anos e a tendência é aumentar com a implantação do Programa de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme (MINISTÉRIO DA SAÚDE., 2012).

2.1.3. Fisiopatologia

Um bom conhecimento sobre a molécula de Hb é necessário para que se tenha um adequado entendimento sobre a fisiopatologia da DF. Vários genes codificam diferentes tipos de globinas, destacando-se que suas várias combinações tetraméricas podem gerar múltiplos tipos de Hb (Kato *et al.*, 2018). A hemoglobina A (HbA) é a forma mais abundante no adulto (> 90%), correspondendo a um tetrâmero composto de duas subunidades alfa-globina e duas subunidades beta-globina (Figura 1), cada uma delas liga-se a um cofator heme que contém, por sua vez, um átomo de ferro em seu centro, o qual pode se ligar a um átomo de oxigênio, ou seja, cada molécula de Hb consegue transportar até quatro átomos de oxigênio (Pauling, 1952; Gell, 2018; Kato *et al.*, 2018). As principais funções da Hb são transportar oxigênio dos pulmões para os tecidos periféricos e dióxido de carbono destes tecidos para os pulmões (Thom *et al.*, 2013). Além disso, a Hb é responsável por fornecer pigmento ao sangue, tendo cor vermelha no sangue arterial e roxa no sangue venoso (Pauling, 1952).

Entretanto, é importante ter conhecimento de algumas mutações que podem ocorrer nos genes da globina (alfa ou beta), as quais podem afetar até cerca de 7% da população mundial (Thom *et al.*, 2013). Essas mutações darão origem à alfa-talassemia e à DF, sendo subdivididas naquelas que prejudicam a produção de subunidades da proteína globina e aquelas que produzem proteínas globina estruturalmente anormais, ou seja, variantes da Hb (Schechter, 2008; Thom *et al.*, 2013). As talassemias alfa são causadas por alterações (deleções, mutações

pontuais, inserções, etc.) nos genes da cadeia alfa-globina, já as variantes de cadeia beta-globina mais comumente vistas estão relacionadas à DF (Thom *et al.*, 2013).

Figura 1 – Esquemas de moléculas de hemoglobina (normal, com traço falciforme e na DF), bem como do polímero formado no processo de desoxigenação da hemoglobina S.

Fonte: Adaptado de Kato GJ, et al. Nature reviews Disease primers, 2018.

A anemia falciforme (AF) é um tipo de DF causada por uma única mutação no gene da beta-globina, gerando HbS de forma homozigótica (HbSS) (Figura 1) (Houwing *et al.*, 2019). Ocorre uma substituição de um único nucleotídeo no códon do aminoácido 6, ou seja, a mudança converte um códon de ácido glutâmico em um códon de valina (Houwing *et al.*, 2019; Piccin *et al.*, 2019). No entanto, por ser um aminoácido hidrofóbico, durante a desoxigenação, a valina atrai regiões hidrofóbicas de cadeias beta adjacentes, facilitando a polimerização das moléculas de Hb (Renaudier, 2014; Piccin *et al.*, 2019). Como consequência, as moléculas de HbS aderem em grandes quantidades, formando polímeros de Hb na hemácia, rompendo sua arquitetura, promovendo desidratação celular e deformidade da mesma, processo conhecido como afoiçamento (Rees *et al.*, 2010; Houwing *et al.*, 2019). A taxa e a extensão da polimerização da HbS coincidem com a duração da desoxigenação da Hb, da concentração de HbS intracelular, bem como pH, temperatura, concentração

salina, de 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG) e de monóxido de carbono (Houwing *et al.*, 2019; Piccin *et al.*, 2019).

A polimerização da HbS (Figura 1), a anemia hemolítica e o fenômeno de vaso-oclusão são os eventos centrais para o entendimento da fisiopatologia da DF (Piel *et al.*, 2017; Piccin *et al.*, 2019). No entanto, eles atuam juntamente com alguns outros processos: disfunção endotelial vascular, deficiência funcional de óxido nítrico, inflamação, estresse oxidativo/ lesão de reperfusão, hipercoagulabilidade, aumento da adesividade dos neutrófilos e ativação plaquetária (Piel *et al.*, 2017). Como a HbS possui menor afinidade pelo oxigênio em comparação com a HbA, este fato aumenta a polimerização da HbS, gerando um ciclo vicioso com repetição destes episódios e afoiçamento das hemácias, promovendo alterações estruturais na membrana celular (Kato *et al.*, 2018; Piccin *et al.*, 2019). Por sua vez, a lesão na membrana celular eritrocitária pode provocar disfunção de vários dos seus canais iônicos, culminando com desidratação da célula, interações anormais com outras células sanguíneas e apoptose precoce das hemácias (vida útil dos eritrócitos falciformes é pelo menos seis vezes menor que os normais) (Houwing *et al.*, 2019; Piccin *et al.*, 2019).

A hemólise persistente promove vasoconstrição, hipercoagulabilidade e desenvolvimento de vasculopatia na DF (Houwing *et al.*, 2019). A hemólise intravascular decorre de fragmentação da membrana celular do eritrócito deformado ao passar pela microvasculatura e do acúmulo anormal de imunoglobulina G (IgG) e complemento na superfície da hemácia, levando à destruição mediada por complemento. Já a hemólise extravascular é mediada por macrófagos (esplênicos e teciduais), além de monócitos que reconhecem hemácias danificadas e as removem da circulação (Azar e Wong, 2017). A Hb livre, então, liga-se ao óxido nítrico, impedindo que ele promova vasodilatação e iniba as moléculas de adesão, bem como a ativação plaquetária (Houwing *et al.*, 2019). Além disso, na presença da hemólise ocorre liberação das micropartículas da Hb, do cofator heme e de arginase-1 do eritrócito para o plasma, culminando com maior redução da biodisponibilidade do óxido nítrico, intensificação do dano endotelial e do estímulo aos estresses oxidativo e inflamatório (Azar e Wong, 2017; Kato *et al.*, 2018; Houwing *et al.*, 2019).

Por fim, ocorrem os eventos vaso-oclusivos, originados de forma complexa e multifatorial, ressaltando-se na sua gênese, as interações entre eritrócitos e células endoteliais, bem como a presença de leucócitos e plaquetas (Kato *et al.*, 2018). O contato direto das hemácias falcêmicas (que são mais aderentes que os eritrócitos

normais) com o endotélio, o grupo heme livre, a hipóxia e a depleção de óxido nítrico são responsáveis pela ativação das células endoteliais; o que aliados à expressão aumentada de moléculas de adesão endotelial, como a proteína de adesão vascular 1 (VCAM1), molécula de adesão intercelular 1 (ICAM1), integrina $\alpha V\beta 3$, além de proteoglicanos de heparina sulfato expostos e fosfatidilserina são responsáveis pela adesão de eritrócitos e leucócitos (Kato *et al.*, 2018; Piccin *et al.*, 2019).

Por outro lado, as células endoteliais ativadas produzem mediadores inflamatórios, como interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF), que levam a um estado inflamatório crônico (Piccin *et al.*, 2019). Assim, o endotélio lesado expõe o fator tecidual, que desencadeia a cascata da coagulação e libera multímeros de Fator de von Willebrand, perpetuando o dano endotelial juntamente com a produção prejudicada ou aumento do consumo de moduladores de proteção, como proteína C, proteína S e o próprio óxido nítrico (Azar e Wong, 2017; Kato *et al.*, 2018; Houwing *et al.*, 2019; Piccin *et al.*, 2019). Assim, os pilares fisiopatogênicos da DF são a polimerização da HbS, dano endotelial, leucócitos e plaquetas, vasculopatia proliferativa, estado inflamatório crônico e hipercoagulabilidade (Ministério da Saúde., 2018).

2.1.4. Diagnóstico e tipos de DF

O diagnóstico da DF baseia-se na análise da Hb, envolvendo geralmente eletroforese de proteínas ou cromatografia, técnicas disponíveis e financeiramente viáveis (Rees *et al.*, 2010). Os testes químicos e de solubilidade que identificam a HbS são propensos a erros e não devem ser usados isoladamente para estabelecer o diagnóstico da DF; por outro lado, métodos mais recentes, incluindo testes baseados em DNA ou baseados em anticorpos, oferecem a possibilidade de diagnósticos precisos e com alto rendimento (Ware *et al.*, 2017). Os métodos de diagnóstico da DF podem ser aplicados em diversas faixas etárias do paciente (pré-concepção, pré-natal, neonatal e pós-neonatal) (Kato *et al.*, 2018).

A técnica mais eficaz é a eletroforese de Hb em acetato de celulose ou em agarose com pH alcalino que vai detectar bandas de cada tipo de Hb presente na amostra de sangue analisada (Saúde., 2012; Ministério Da Saúde. Secretaria De Atenção À Saúde E Secretaria De Ciência, 2018). Importante enfatizar que a forma mais incentivada para o diagnóstico de DF é mediante a triagem neonatal obtido na

primeira semana de vida pelo teste do pezinho, por eletroforese de Hb, associado a realização do hemograma (Saúde., 2012).

O termo DF é usado para se referir a todos os diferentes genótipos que causam a síndrome clínica, enquanto AF corresponde à homozigose para o alelo da HbS (HbSS) (Rees *et al.*, 2010). Indivíduos heterozigotos simples para o alelo da HbS carregam o traço falciforme (HbAS), mas não apresentam AF (Kato *et al.*, 2018). As variações das hemoglobinopatias com mutação falciforme no gene da beta-globina são herdadas em combinação com outra mutação do gene da beta-globina, denominada doença falciforme heterozigótica composta, como a hemoglobina C (HbSC), hemoglobina D (HbSD), hemoglobina E (HbSE), ou ainda várias formas com mutação beta-talassêmica (HbS β^0 ou HbS β^+) (Houwing *et al.*, 2019). Ver tabela 2.

Tabela 2 – Características laboratoriais das principais hemoglobinopatias.

Diagnóstico	Gravidade clínica	Hb (g/dl)	Ht (%)	VCM (μ 3)	Reticulócito (%)	Eletroforese Hb (%)
HbSS	Moderada a Severa	7,5 (6,0- 9,0)	22 (18- 30)	93	11 (4- 30)	HbS: 80- 90 HbF: 2- 20 HbA2: < 3,5
HbSC	Leve a moderada	11,0 (9,0 – 14,1)	30 (26- 40)	80	3 (1,5- 6)	HbS: 45- 55 HbC: 45- 55 HbF: 0,2- 8
HbSβ^+	Leve a moderada	11,0 (8,0 – 13,0)	32 (25- 40)	76	3 (1,5- 6)	HbS: 55- 75 HbA1: 15- 30 HbF: 01- 20 HbA2: > 3,6
HbSβ^0	Leve a severa	8,0 (7,0- 10,0)	25 (20- 36)	69	8 (3- 18)	HbS: 50 -85 HbF: 02- 30 HbA2: > 3,6
HbAS	Assintomática	Normal	Normal	Normal	Normal	HbS: 38-45 HbA1: 55-60 HbA2: 01-03

FONTE: Adaptado de Brasil. Doença falciforme: condutas básicas para tratamento. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde; 2012.

Legenda: HbSS – Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; HbSD – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e D; HbSE – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e E; HbS β^0 – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobina S e β^0 talassemia; HbS β^+ – Genótipo heterozigoto composto para hemoglobina S e talassemia β^+ ; HbAS – Traço falciforme; Ht – Hematócrito; VCM – Volume corpuscular médio; HbS – Hemoglobina S; HbF – Hemoglobina F; HbA2 – Hemoglobina A2; HbC – Hemoglobina C; HbA1 – Hemoglobina A1.

2.1.5. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas na DF são bastante variáveis, dependendo da gravidade da doença, podendo aparecer desde sintomas leves e autolimitados a

alterações graves e fatais (Ngo e Steinberg, 2014). Elas podem ser divididas em dois grupos: 1) aquelas relacionadas à doença hemolítica e deficiência de óxido nítrico (doença cerebrovascular, hipertensão pulmonar, nefropatia, priapismo e úlceras nas pernas) e 2) aquelas relacionadas aos eventos isquêmicos vaso-oclusivos (hipoesplenismo, osteonecrose, infartos ósseos, retinopatia e danos hepáticos) (Houwing *et al.*, 2019). Além disso, essas alterações clínicas podem ser agrupadas em agudas ou crônicas, estas geralmente secundárias a episódios repetidos de fenômenos vaso-oclusivos ou hemólise (Ware *et al.*, 2017).

A característica clínica marcante da DF é a dor aguda, devido ao dano tissular isquêmico secundário à vaso-oclusão pelas hemácias falcizadas (Ministério da Saúde., 2012; Ware *et al.*, 2017). As crises de dor geralmente duram de quatro a seis dias, podendo persistir por semanas, tendo como fatores desencadeantes comuns: hipóxia, infecção, febre, acidose, desidratação, estresse e exposição ao frio extremo (Ministério da Saúde., 2012). Os eventos de dor aguda, tanto nas crianças quanto nos adultos, comumente acometem as extremidades, tórax e dorso, sendo causas frequentes de internação nestes pacientes (Kato *et al.*, 2018; Houwing *et al.*, 2019).

As doenças infecciosas, principalmente bacterianas, são um fator significativo para a morbidade e mortalidade na DF (Ware *et al.*, 2017). Devido ao quadro de asplenia funcional presente desde a infância e também pelo fato de terem uma fixação deficiente do complemento, estes pacientes possuem maior susceptibilidade a infecções bacterianas. Importante ressaltar que os pacientes com DF estão predispostos à osteomielite, secundária ao aumento da hematopoiese com alta demanda de oxigênio na presença de hiperviscosidade sanguínea, o que por sua vez, promove eventos vaso-oclusivos e infarto, cujas áreas necróticas predisõem a focos infecciosos (Houwing *et al.*, 2019).

Outra situação clínica importante relacionada à DF é o AVE (Kato *et al.*, 2018). O evento isquêmico ocorre principalmente na infância, já a hemorragia cerebral ocorre predominantemente em adultos (Ware *et al.*, 2017). Os mecanismos fisiopatológicos subjacentes para o AVE permanecem incertos, mas a maioria dos casos está associada à vasculopatia que afeta as artérias cerebrais, tendo como fatores contribuintes: anemia, leucocitose, hipoxemia, disfunção endotelial, deficiência funcional de óxido nítrico, diminuição da reserva vascular cerebral e regulação prejudicada do fluxo sanguíneo, causando hiperemia (Schnog *et al.*, 2004; Houwing *et al.*, 2019).

A STA é a segunda causa mais comum de internações hospitalares em pacientes com DF (Houwing *et al.*, 2019). Ela é definida como uma nova opacidade pulmonar na radiografia de tórax acompanhada de febre e/ ou sintomas respiratórios, como dor torácica, taquipneia, sibilância ou tosse (Ministério da Saúde., 2012; Houwing *et al.*, 2019). A etiologia da STA ainda não é bem definida, mas acredita-se que seja uma combinação que envolve quadro infeccioso, episódio de embolia gordurosa, hipoventilação e vaso-oclusão pulmonar, sendo os principais fatores de risco clínicos: leucocitose e menor teor de HbF (Schnog *et al.*, 2004; Hay e Atoyebi, 2016; Houwing *et al.*, 2019).

Outra manifestação clínica que pode ocorrer, mas em pacientes masculinos, é o priapismo, caracterizado por um estado doloroso ou indolor, indesejável e persistente de ereção peniana, na ausência de um estímulo sexual, podendo acontecer na forma de episódios breves e recorrentes ou de episódios longos, com risco de impotência sexual (Ministério da Saúde., 2012; Houwing *et al.*, 2019). A fisiopatologia exata do priapismo não é clara, podendo haver relação com a biodisponibilidade reduzida do óxido nítrico, bem como pela redução ou ausência de fluxo sanguíneo nos corpos cavernosos, promovendo rigidez dolorosa pela estagnação do sangue dentro dessas estruturas, levando à hipóxia e isquemia tecidual, que podem culminar com fibrose cavernosa e disfunção erétil permanente (Houwing *et al.*, 2019).

Além das complicações agudas descritas acima, os pacientes com DF também cursam com afoçamento subclínico crônico das hemácias, promovendo uma deterioração gradual da função dos órgãos vitais (Hay e Atoyebi, 2016). Dentre as manifestações crônicas da DF destacam-se hipertensão pulmonar, úlceras nas pernas, envolvimento oftalmológico, necrose avascular e dores crônicas (Houwing *et al.*, 2019).

A hipertensão pulmonar é uma complicação cada vez mais reconhecida da DF em adolescentes e adultos, sendo definida como uma pressão arterial pulmonar média ≥ 25 mmHg, com pressão diastólica final do ventrículo esquerdo ≤ 15 mmHg, medidas durante cateterismo cardíaco direito (Rees *et al.*, 2010; Houwing *et al.*, 2019). A fisiopatologia da hipertensão pulmonar é multifatorial, com um papel proeminente para a hemólise intravascular, induzindo disfunção vascular pulmonar, bem como hipertensão pulmonar através da diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico e vasoconstrição (Houwing *et al.*, 2019).

As úlceras de pele estão presentes em 8% a 10% das pessoas com DF, principalmente na forma homozigótica e em adolescentes ou adultos jovens, acometendo principalmente áreas com menor espessura do plano subcutâneo e com diminuição do fluxo sanguíneo, como nas laterais do tornozelo (Schnog *et al.*, 2004; Ministério da Saúde., 2012; Houwing *et al.*, 2019). A patogênese das úlceras crônicas na DF é complexa, mas ressalta-se o papel da alta taxa hemolítica e das baixas concentrações de Hb como fatores de risco (Houwing *et al.*, 2019).

Por fim, mas não menos importante, deve-se mencionar como manifestação crônica da DF, a necrose avascular ou osteonecrose que corresponde a uma das alterações musculoesqueléticas mais devastadoras nesta enfermidade (Houwing *et al.*, 2019). Embora a fisiopatologia exata dessa condição em pacientes com DF seja desconhecida, sugere-se que a vaso-oclusão repetitiva possa estar associada à hipóxia tecidual, gerando lesão por reperfusão, inflamação e necrose óssea, com subsequente colapso (Choi *et al.*, 2015). Esta condição clínica ocorre geralmente nas extremidades proximais do fêmur e do úmero, podendo acometer também joelho e pequenas articulações das mãos e pés (Ministério da Saúde., 2012).

2.1.6. Gravidade da DF

A DF possui um curso clínico variável entre os diversos fenótipos da enfermidade, podendo ter desde expectativa de vida normal com relativamente poucas complicações, até manifestações graves, como hipertensão pulmonar, priapismo, AVE, STA e necrose avascular óssea (Belini Junior *et al.*, 2015; Quinn, 2016). Essa variabilidade dificulta no manejo dos pacientes, pois deve ser individualizado, mas por outro lado, é complicado classificar a gravidade da doença, visto que existe limitação em quantificar e identificar quais eventos são significativos e devem ser levados em consideração para esta categorização (Quinn, 2016).

Os principais fatores que interferem na gravidade da DF são de natureza genética (níveis séricos de HbF, co-hereditariedade para alfa-talassemia, outros modificadores genéticos) e natureza ambiental (climáticos/ meteorológicos, qualidade do ar, uso de medicações, doenças infecciosas) (Belini Junior *et al.*, 2015; Piel *et al.*, 2017). Assim, para prever a gravidade da DF e o risco de morte, seria interessante avaliar informações clínicas e laboratoriais, bem como variáveis genéticas,

comportamentais e ambientais que afetem as manifestações da doença (Sebastiani *et al.*, 2007).

A HbF atua interrompendo a polimerização da HbS desoxigenada e, dependendo de sua concentração sanguínea e distribuição nos eritrócitos, ela pode melhorar ou prevenir quase todas as complicações da DF (Quinn, 2016; Piel *et al.*, 2017). Ao nascimento, essa Hb apresenta níveis elevados em todos os pacientes, no entanto, a persistência desses valores depende da área geográfica e de características próprias do indivíduo (Serjeant, 2013). Dessa forma, a HbF é o mais importante modificador da gravidade na DF, particularmente nos genótipos HbSS e HbS β^0 (Quinn, 2016).

A co-hereditariedade para alfa-talassemia também pode atuar modificando a DF tipo HbSS, visto que a concentração de HbS estará reduzida nestes casos, o que predispõe a retardo e menor polimerização da Hb, com consequente menor taxa de hemólise (Quinn, 2016). No entanto, quando a alfa-talassemia é homozigótica (deleção de ambos os genes ligados à talassemia alfa) pode ocorrer aumento do hematócrito, prejudicando o fluxo sanguíneo (Serjeant, 2013). Assim, há evidências de que a talassemia pode aumentar a frequência de episódios dolorosos e necrose avascular no osso, provavelmente pela relação com fenômenos vaso-oclusivos (Quinn, 2016; Piel *et al.*, 2017). Portanto, a co-hereditariedade com alfa-talassemia pode ser positiva ou negativa, sendo difícil atribuir um valor prognóstico (Quinn, 2016).

Outro modificador genético associado a gravidade da DF é a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) que corresponde a um distúrbio ligado ao X, cuja manifestação mais comum é a hemólise aguda com estresse oxidativo (Quinn, 2016). Assim, em pacientes com DF, a deficiência de G6PD pode aumentar a gravidade da doença por aumento de crises hemolíticas, sepse, hemoglobinúria e insuficiência renal, principalmente após consumo de determinadas medicações ou alimentos que podem provocar estresse oxidativo nas hemácias (Antwi-Baffour *et al.*, 2019).

A dosagem sérica de Hb pode estar associada a eventos favoráveis ou desfavoráveis (Quinn, 2016). Assim, ressalta-se a importância das informações fornecidas com os exames laboratoriais no que se refere à gravidade da DF. Neste caso da Hb, quando ela apresenta concentração reduzida, principalmente quando associada à leucocitose, predispõe à doença mais grave (com desfechos como AVE

ou óbito); já quando possui níveis séricos elevados, torna o indivíduo mais propenso a crises de dor e necrose avascular (Milner *et al.*, 1991; Quinn, 2016)

Os fatores não genéticos podem explicar grande parte da variabilidade clínica na DF, sendo inquestionável sua participação no desfecho de algumas situações desta enfermidade (Serjeant, 2013; Piel *et al.*, 2017). Dentre os principais fatores não genéticos estão incluídos a qualidade do ar, as condições meteorológicas e a situação socioeconômica (nutrição, acesso a informação pelas famílias, medicações, exposição a infecções, transfusões sanguíneas). Os fatores climáticos são importantes, principalmente em relação às baixas temperaturas que resfriam a pele e podem precipitar crises de dor, enquanto poluentes no ar podem interferir na polimerização da Hb. Assim, a influência ambiental possui grande potencial para melhorar a compreensão sobre o prognóstico da DF (Piel *et al.*, 2017).

2.1.6.1. Formas de classificar a gravidade e Calculadora on-line

Conforme mencionado anteriormente, a DF corresponde a uma situação clínica com interferência de fatores genéticos e ambientais, promovendo acentuada heterogeneidade clínica (Coelho *et al.*, 2012). Daí decorre o desafio em combinar essas variáveis para estabelecer possíveis preditores de gravidade da DF (Sebastiani *et al.*, 2007; Belini Junior *et al.*, 2015). Com isso, alguns escores de gravidade têm sido propostos, visando a integração de dados clínicos e laboratoriais que possam ser sintetizados em uma única variável referente a morbidade e / ou risco de morte para os pacientes com DF (Coelho *et al.*, 2012).

Dentre as formas de categorizar a gravidade da DF, destaca-se a ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” (em português, “Calculadora de Gravidade da Doença Falciforme”) que foi desenvolvida por Sebastiani e colaboradores, estando disponibilizada no site <http://www.bu.edu/sicklecell/downloads/Projects> (Figura 2). Esta calculadora foi criada através de uma modelagem bayesiana de redes com 25 variáveis clínicas e laboratoriais de 3380 pacientes com DF, com o intuito de estipular escores de gravidade, calculando o risco de morte em cinco anos e permitindo classificar os pacientes em categorias por fenótipo (leve, moderado, grave), variando de zero (menos grave) a um (mais grave), ver figura 3. Este modelo foi validado em dois conjuntos de pacientes não relacionados, mostrando alta especificidade e sensibilidade (Sebastiani *et al.*, 2007).

Figura 2 – Cópia da tela da calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator”, demonstrando os itens contabilizados para o cálculo do risco de morte.

Sickle Cell Disease severity Calculator

ACS	no
Age	below 18
Bilirubin	below 1.3
Blood Transfusion	no
LDH	below 300
MCV	below 80
Pain	no
Priapism	no (male)
Retic	below 4.8
Sepsis	no
Gender	male
Stroke	no
Systolic BP	below 80
WBC	below 10.8
Hemoglobin genotype	SC
AVN	no

Estimate
Death Risk

Fonte: <http://bios.ugr.es/dss-calculator/>

Figura 3 – Classificação de gravidade de acordo com idade e valor da calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator”.

Fonte: Adaptado de Belini Junior E, Silva DG, Torres L de S, Okumura JV, Lobo CL, Bonini-Domingos CR. Blood cells, molecules & diseases. 2015.

As variáveis utilizadas pela calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator” são: idade, STA, bilirrubina total (BT), transfusão sanguínea, desidrogenase láctica (LDH), VCM, crises de dor, priapismo, contagem de reticulócitos, gênero, AVE, leucócitos totais (WBC), genótipo da DF, necrose avascular óssea, sepse e pressão arterial sistólica. Importante ressaltar que as crises dolorosas são consideradas presentes quando ocorrem mais de três episódios no último ano. Além disso, na ausência de qualquer variável (clínica ou laboratorial), a calculadora permite que o pesquisador insira “não disponível” e mesmo assim, ocorre o cálculo, pois é fixado um valor de referência e as mudanças no risco de morte mudam de acordo com as outras variáveis preenchidas (Sebastiani *et al.*, 2007).

Como o trabalho de Sebastiani *et al.* foi realizado com pacientes dos Estados Unidos, em 2015, Belini Junior *et al.* (Belini Junior *et al.*, 2015) realizaram estudo similar no Brasil, cuja análise de correlação das manifestações clínicas em diferentes grupos com base em idade, genótipo, fenótipo e uso de hidroxiureia, ajudou a avaliar a viabilidade da calculadora como ferramenta, demonstrando tratar-se de recurso com alta sensibilidade e valor preditivo positivo. No entanto, em 2018, Rosart *et al.* (Rosart, 2018) avaliou a utilização da calculadora acima descrita em uma população com DF tipo HbSC, não conseguindo validá-la para estes pacientes, podendo ter sido atribuído à diferença na população analisada.

2.1.7. Tratamento e condutas

Os gastos com saúde entre os pacientes com DF são elevados, alcançando mais de um bilhão de dólares por ano apenas nos Estados Unidos, onde estes indivíduos apresentam uma expectativa de vida média entre 45 e 58 anos (no restante da população este dado é cerca de 78 anos em média) (Telen *et al.*, 2019). Não existem dados bem estabelecidos com relação aos custos financeiros dos pacientes com DF no Brasil, mas sabe-se que a expectativa de vida destes indivíduos fica em torno de 53,3 anos ao nascimento, enquanto a dos demais brasileiros gira em cerca de 74,6 anos (Lobo *et al.*, 2018). Assim, investir em tratamentos e condutas preventivas é uma atitude de suma importância, visando prolongar e melhorar a qualidade de vida destes pacientes.

Um bom entendimento da fisiopatologia da DF é fundamental para compreensão dos recursos terapêuticos, bem como na escolha da melhor conduta para cada

paciente. Várias estratégias têm sido aplicadas para intervir terapêuticamente na DF, incluindo agentes que aumentam os níveis séricos da HbF, agentes anti-inflamatórios, terapias antitrombóticas, drogas que reduzem ou inibem a adesão celular, o estresse oxidativo, danos à membrana e hemólise; além de recursos mais recentes como terapia gênica, incluindo transplante alogênico de células-tronco hematopoiéticas (Telen *et al.*, 2019). Atualmente, a hidroxiureia e o tratamento com transfusões sanguíneas são as únicas terapias modificadoras da doença disponíveis para prevenir e tratar as complicações agudas e crônicas da DF (Kapoor *et al.*, 2018).

A hidroxiureia atua aumentando a produção de HbF em eritrócitos falciformes, bem como reduzindo a polimerização intracelular da HbS, prevenindo as crises e as complicações da DF (Silva-Pinto *et al.*, 2013; Kapoor *et al.*, 2018). A melhora clínica ocorre antes da elevação da HbF, sugerindo presença de outros mecanismos associados, como diminuição do número de leucócitos, plaquetas e reticulócitos; redução da adesividade da célula falciforme e indução na produção de óxido nítrico (Silva-Pinto *et al.*, 2013). Estes efeitos são sustentados com seu uso em longo prazo, mas reversível na descontinuação do medicamento (Kapoor *et al.*, 2018). Assim, o uso prolongado da hidroxiureia demonstrou produzir reduções importantes na mortalidade e morbidade dos pacientes com DF (De Franceschi, 2009).

As transfusões de hemácias continuam a ser uma opção de tratamento para complicações agudas e crônicas na DF. Estima-se que aproximadamente 90% dos adultos com DF tipo HbSS terão recebido pelo menos uma transfusão de hemácias durante a vida (Chou, 2013). Os principais motivos para indicação de transfusão sanguínea em longo prazo são: crise de dor recorrente (entre 16% e 54%); prevenção do AVE (entre 8% e 66%) e úlceras na perna (entre 0% e 16%) (Howard, 2016). No entanto, os benefícios da terapia transfusional devem ser equilibrados com seus riscos inerentes (Chou, 2013). Além de em muitas partes do mundo os pacientes não terem acesso a sangue de origem segura, existem os riscos associados à própria transfusão, tais como aloimunização, infecção e sobrecarga de ferro (Howard, 2016).

2.1.8. Exames laboratoriais na DF

Os exames laboratoriais podem atuar como biomarcadores com importante papel no manejo dos pacientes com DF. Existem vários tipos de biomarcadores relacionados a mecanismos fisiopatológicos específicos da DF: hemólise,

hipercoagulabilidade, inflamação, estresse oxidativo, adesão celular, vasculopatia, disfunção endotelial (Damanhour *et al.*, 2015). Este trabalho, dará maior enfoque aos exames laboratoriais utilizados pela calculadora on-line que avalia gravidade da doença, bem como aqueles relacionados à hemólise: VCM, WBC, Hb, contagem de reticulócitos, BT e LDH. A ênfase na hemólise pode ser explicada por dois motivos: 1) este fenômeno incentiva hematopoiese, com consequente alteração do conteúdo de gordura na medula óssea (Steer *et al.*, 2017); 2) atribui-se maior gravidade de alguns tipos de DF à hemólise do que a eventos vaso-oclusivos (Kato *et al.*, 2017).

Dessa forma, o VCM corresponde ao volume médio das hemácias, obtido pela divisão do Ht pelo número de hemácias e sendo importante para definir se a anemia é microcítica, normocítica ou macrocítica (Ribeiro-Alves e Gordan, 2014). No caso da DF, geralmente, o VCM é alto devido à crescente necessidade de eritropoiese provocada pela hemólise crônica, levando à macrocitose, mas também, podendo estar relacionado a uma deficiência de ácido fólico (Rao *et al.*, 2012).

Já em relação à contagem de leucócitos totais (WBC), observa-se um valor aumentado nos pacientes com DF em comparação com indivíduos sem esta enfermidade, podendo ser secundário a quadros inflamatórios, hipoesplenismo ou relacionado a reação medicamentosa (Ahmed *et al.*, 2017). Uma contagem anormalmente alta de células brancas na DF pode ser prognóstica de condições de gravidade clínica, como aumentos das crises de dor, AVE hemorrágico, STA e morte precoce (Rees e Gibson, 2012; Damanhour *et al.*, 2015).

A Hb fornece informações diretas sobre a gravidade da anemia hemolítica (Barcellini e Fattizzo, 2015). Na DF, dois terços da hemólise é extravascular e um terço intravascular, destacando-se que esta última relaciona-se com o mecanismo proposto para eliminar o óxido nítrico, não devendo ocorrer confusão entre os dois tipos de hemólise (Kato *et al.*, 2006; Kato *et al.*, 2017). Os pacientes que apresentam níveis mais altos de Hb, estão associados a menor taxa de hemólise, apresentando maior incidência de crises de dor, STA e osteonecrose. Por outro lado, aqueles com maiores taxas de hemólise, apresentam valores mais baixos de Hb total, com maiores valores de Hb plasmática, culminando em biodisponibilidade reduzida de óxido nítrico e aumentando a prevalência de hipertensão pulmonar, úlceras nas pernas, priapismo e AVE (Kato *et al.*, 2006; Kato e Gladwin, 2009; Dubert *et al.*, 2017).

Os reticulócitos são precursores diretos não-nucleados das hemácias, geralmente, aumentando na hemólise intra e extravascular (Barcellini e Fattizzo, 2015;

Carden *et al.*, 2020). A contagem de reticulócitos se correlaciona bem com a vida útil das hemácias, sendo realizada através dos contadores automáticos de células sanguíneas. No entanto, ainda não é certo que seus valores forneçam informações adicionais sobre os valores totais de Hb (Damanhour *et al.*, 2015). O reticulócito falciforme pode desempenhar importante papel na fisiopatologia da DF, além de ser útil como biomarcador (Carden *et al.*, 2020).

A BT é um bom marcador para hemólise extravascular e, em menor grau, para hemólise intravascular. Os níveis aumentados de bilirrubina podem ocorrer por aumento do catabolismo da Hb ou pela diminuição da depuração hepática, sendo considerada um marcador precoce de resposta à terapia, visto que tende a normalizar cerca de quatro horas após a interrupção da hemólise (Barcellini e Fattizzo, 2015).

A LDH é uma enzima que catalisa a conversão de lactato em ácido pirúvico, sendo encontrada no citoplasma e distribuída em vários órgãos (coração, músculo, fígado e cérebro) (Barcellini e Fattizzo, 2015). Apesar da LDH estar presente em todo o organismo, algumas isoenzimas são liberadas pelas hemácias durante a hemólise intravascular, sendo responsáveis por grande parte da atividade sérica da LDH nos pacientes com DF (Stankovic Stojanovic e Lionnet, 2016). Assim, altos níveis séricos de LDH e Hb plasmática podem ser utilizados como marcadores padrões da hemólise intravascular durante as crises vaso-oclusivas de dor. A LDH pode inclusive ser considerada um marcador substituto da Hb plasmática (Kato *et al.*, 2006; Stankovic Stojanovic e Lionnet, 2016).

Com isso, percebe-se que a DF é caracterizada por vários biomarcadores, alguns relacionados a condições patológicas específicas, mas poucos conseguem fornecer informações prognósticas sobre o manejo da doença (Damanhour *et al.*, 2015). Dentre os marcadores descritos acima, destaca-se a associação de níveis séricos elevados de LDH com baixos níveis de Hb e altos níveis de reticulócitos e BT tendendo a indicar hemólise intravascular (Kato *et al.*, 2006). Mas, ainda é necessário aprofundar mais os conhecimentos em relação aos biomarcadores na DF.

2.1.9. Exames complementares de imagem no sistema musculoesquelético em pacientes com DF

O papel dos métodos de imagem na avaliação da DF está relacionado, principalmente, ao diagnóstico e acompanhamento das complicações agudas ou

crônicas que podem surgir durante a vida do paciente (Yanaguizawa *et al.*, 2008). O envolvimento do sistema musculoesquelético é um dos mais frequentes nos indivíduos com DF, incluindo desde hiperplasia medular reativa com efeitos intramedulares e extramedulares do aumento da hematopoiese até complicações como infartos ósseos, anormalidades resultantes no crescimento do osso e infecções (Ejindu *et al.*, 2007; Agha *et al.*, 2013).

Como já explicado, as complicações decorrentes da DF estão relacionadas principalmente à hemólise e às crises vaso-oclusivas. A destruição das hemácias promove um estado de anemia que estimula a hematopoiese, tanto extramedular, quanto intramedular; esta, por sua vez, propicia expansão óssea, osteoporose e possibilidade de fraturas patológicas (Kosaraju *et al.*, 2017). Alguns autores ainda sugerem que a hiperplasia medular está relacionada ao aumento da celularidade, o que levaria a fluxo sanguíneo prejudicado, e consequente, hipóxia tecidual, podendo ser um dos motivos para a vulnerabilidade da medula óssea à oclusão microvascular na DF (Lonergan *et al.*, 2001; Almeida e Roberts, 2005).

Consequentemente, ocorrem isquemia com necrose avascular, infartos ósseos, fechamento prematuro de placas epifisárias e interrupção do crescimento de ossos longos, bem como desenvolvimento de vértebras em forma de “H” e dactilite. Cabe ressaltar ainda, que a restrição do fluxo sanguíneo nos ossos ou nas partes moles promove isquemia com possibilidade de invasão e proliferação de patógenos, culminando com osteomielite e artrite séptica, além de necrose muscular, hematoma de partes moles e infecção secundária com formação de abscesso (Almeida e Roberts, 2005; Kosaraju *et al.*, 2017). Ver figura 4 para melhor entendimento do envolvimento musculoesquelético na DF.

Figura 4 – Resumo esquemático das complicações musculoesqueléticas na DF.

Fonte: Adaptado de Kosaraju V, et al. The British journal of radiology. 2017.

Todos os métodos de imagem disponíveis podem ter utilidade na avaliação do sistema musculoesquelético nos pacientes com DF. Os que mais se destacam são radiografia simples, tomografia computadorizada (TC) e RM. A radiografia simples e a TC permitem rápida aquisição de imagens e podem ser úteis em situações agudas ou crônicas, predominando nas últimas. Já a RM é uma modalidade superior na detecção de anormalidades agudas, especialmente no tocante às alterações que envolvem a medula óssea. A ultrassonografia (US) também pode ser empregada, ressaltando seu papel na avaliação das partes moles e articulações (Pathiraja *et al.*, 2014).

É importante separar as complicações musculoesqueléticas da DF entre agudas e crônicas, inclusive para a escolha do melhor método de imagem para avaliá-las. Dentre as manifestações agudas ressaltam-se infartos ósseos com crises vaso-oclusivas, dactilite, osteonecrose, osteomielite, artrite séptica, necrose muscular e abscessos em partes moles. No tocante ao envolvimento crônico da doença, podem-se citar, hematopoiese extra e intramedular, alterações morfológicas nas vértebras, osteopenia e retardo de crescimento/ imaturidade esquelética (Kosaraju *et al.*, 2017).

2.1.9.1. Manifestações Agudas

2.1.9.1.1. Infartos ósseos x Osteonecrose

O envolvimento ósseo pela redução ou restrição do suprimento sanguíneo secundário às crises vaso-oclusivas da DF pode resultar em infartos da medula óssea principalmente nas diáfises dos ossos longos ou em osteonecrose que ocorre nas regiões epifisárias, especialmente na cabeça femoral (Vanderhave *et al.*, 2018). Ambos os processos podem resultar em morbidade e crises de dor aguda para os pacientes com DF, embora eles também possam ser clinicamente silenciosos e descobertos incidentalmente em exames radiográficos (Ejindu *et al.*, 2007).

A maioria dos casos de infartos ósseos na DF possuem exames radiográficos iniciais com aparência normal (Kosaraju *et al.*, 2017). Entretanto, radiografias em fases tardias podem demonstrar área lucente irregular, possivelmente com reação periosteal e, à medida que a condição se torna mais crônica, desenvolve-se halo de esclerose óssea (Ganguly *et al.*, 2011). Quando o infarto acomete a cortical óssea,

novo osso subperiosteal pode se formar através da incorporação com a cortical existente, espessando-a ou através de depósitos em camadas ao longo da superfície interna do córtex (causando uma aparência laminada de “osso dentro de osso”) (Ejindu *et al.*, 2007; Agha *et al.*, 2013).

Na DF, toda a epífise do osso longo é uniformemente afetada pela osteonecrose ou necrose avascular. Inicialmente, ocorrem nas regiões subcondrais, onde a vascularização colateral é mínima; mas por receber nutrição do líquido sinovial, nas fases primordiais a cartilagem articular sobrejacente permanece viável (Vaishya *et al.*, 2015). As radiografias iniciais não demonstram alterações, mas com o tempo e a progressão da doença, começam a surgir área de lucência subcondral em forma de crescente e, eventualmente, depressão da superfície articular com colapso (Figura 5) e fragmentação óssea, bem como alterações degenerativas secundárias (Ejindu *et al.*, 2007).

Figura 5 – Radiografia do ombro de paciente feminina com 40 anos, demonstrando irregularidade cortical com colapso ósseo, secundário a osteonecrose na cabeça umeral.

Fonte: Acervo próprio.

Na verdade, os primeiros sinais de infarto ósseo e osteonecrose são vistos nas imagens de RM (Vaishya *et al.*, 2015). O achado precoce mais comumente identificado são áreas de edema (alto sinal) na sequência T2 com supressão de gordura. Mas, a característica típica dos infartos ósseos corresponde a lesão com contornos serpiginosos nas diáfises dos ossos longos; enquanto na osteonecrose destaca-se o sinal da dupla linha nas regiões epifisárias (Figura 6) que consiste em uma borda interna hiperintensa e periferia hipointensa na sequência T2 com

supressão de gordura. Este sinal resulta da resposta inflamatória no osso, onde o hipersinal corresponde ao tecido de granulação e a linha de hipossinal traduz o halo esclerótico (Ejindu *et al.*, 2007; Vaishya *et al.*, 2015; Lafforgue e Trijau, 2016; Kosaraju *et al.*, 2017).

Figura 6 – A e B – RM de bacia de paciente feminina 31 anos, subtipo HbSS, demonstrando infarto ósseo na região proximal do fêmur esquerdo. C e D – RM do quadril de paciente feminina com 28 anos, demonstrando área de osteonecrose com sinal da dupla linha, ainda percebendo-se manutenção da esfericidade da cabeça femoral.

Fonte: Acervo próprio.

Existem alguns sistemas para categorização da osteonecrose da cabeça femoral, sendo mais utilizadas as classificações de Ficat e Arlet, bem como de Steinberg. Ainda existem controvérsias em relação a estes sistemas, as quais dificultam a comparação e análise dos dados nos diferentes centros (Choi *et al.*, 2015). Enquanto a classificação de Ficat e Arlet utiliza radiografias simples para determinar o estágio e a progressão da doença, a de Steinberg combina radiografias e RM para a estratificação (Ghate *et al.*, 2018; Sultan *et al.*, 2019). Estas classificações servem para fornecer ao cirurgião ortopédico a capacidade de categorizar a osteonecrose da cabeça femoral, auxiliando na definição de gravidade, prognóstico e indicações terapêuticas (Choi *et al.*, 2015; Sultan *et al.*, 2019).

Cabe ainda mencionar sobre uma situação denominada necrose da medula óssea que pode ter características clínicas e de imagem similares à osteonecrose, no entanto, apresentando diferenças histopatológicas (Cabral *et al.*, 2016). A necrose da medula óssea acomete o tecido mieloide e o estroma medular com perda dos espaços adiposos, notando-se preservação do trabeculado ósseo, diferentemente do que ocorre na osteonecrose que altera a arquitetura óssea (trabeculado), por isso possibilita evolução para colapso ósseo (Tang *et al.*, 2007).

2.1.9.2. Manifestações Crônicas

2.1.9.2.1. Vértebra com morfologia em “H”

As vértebras em forma de “H” na coluna vertebral são outra importante manifestação de infarto ósseo na DF (Figura 7). Nesta alteração, os corpos vertebrais apresentam uma depressão na porção central do platô vertebral (placa de crescimento) devido a infarto crônico, com supercrescimento das porções adjacentes (Ejindu *et al.*, 2007; Yanaguizawa *et al.*, 2008). Esta alteração pode ser facilmente identificada em radiografias, TC e RM (Yanaguizawa *et al.*, 2008).

Figura 7 – Radiografia e RM da coluna lombar de paciente masculino, 41 anos, mostrando vértebras em “H”.

Fonte: Acervo próprio.

2.1.9.2.2. Hematopoiese Intra e Extramedular

A medula óssea é um dos maiores órgãos do corpo humano, cuja principal função é a hematopoiese. Neste sentido, atua diretamente no suprimento contínuo de hemácias, auxilia na excreção de resíduos/ material tóxico, participando em vários mecanismos de defesa, bem como contribui na manutenção do equilíbrio da cascata de coagulação (Lin *et al.*, 2016). Existem dois tipos principais de medula óssea: vermelha (hematopoiética) e amarela (adiposa), caracterizadas por composição e vascularização distintas. A medula óssea amarela é composta principalmente por células de gordura (adipócitos) e sua composição química é 80% de gordura, 15% de água e 5% de proteína, tendo vascularização escassa. Já a medula óssea vermelha é constituída de células hematopoiéticas e gordurosas, com composição química de 40 a 60% de lipídios, 30 a 40% de água e 10 a 20% de proteína, sendo responsável pela produção de células sanguíneas do corpo, contendo rica vascularização (Hanrahan e Shah, 2011; Karampinos *et al.*, 2017).

Em indivíduos saudáveis, a medula hematopoiética inicia a conversão para medula gordurosa durante a infância, começando nas regiões distais do esqueleto apendicular e estendendo-se para as porções proximais. Por volta da segunda década de vida, a medula vermelha residual pode persistir na bacia, no esterno, nas costelas e nos corpos vertebrais (Ejindu *et al.*, 2007; Yanaguizawa *et al.*, 2008). Já nos pacientes com DF, o espaço medular tende a preservar a medula vermelha, podendo sofrer expansão devido ao aumento da demanda hematopoiética (hiperplasia medular) causado pela hemólise e consequente anemia. O incentivo à produção de hemácias na DF interrompe a conversão para medula adiposa no esqueleto periférico e leva à persistência da medula hematopoiética apendicular ao longo da vida (Ejindu *et al.*, 2007; Ganguly *et al.*, 2011).

Assim, o constante estímulo à produção de eritrócitos leva ao alargamento dos espaços medulares e afinamento do osso cortical, que pode resultar em fraturas patológicas, sendo ambas as situações possíveis de serem identificadas em exames de radiografia simples. Além desses achados, podem também ser observados proeminência do trabeculado ósseo e osteopenia (Ejindu *et al.*, 2007; Agha *et al.*, 2013). Apesar da radiografia e da TC ajudarem a identificar e caracterizar anormalidades ósseas, bem como distúrbios do crescimento esquelético; o método de imagem de escolha para complementar a avaliação clínica e laboratorial da

constituição da medula óssea é a RM (Martinoli *et al.*, 2011). O aspecto da medula óssea amarela na RM é bem característico, demonstrando alto sinal em T1 e alto/intermediário sinal em T2; já a medula vermelha (hematopoiética) aparece com baixo sinal em T1 e alto/intermediário sinal em T2 (Figura 8). Dessa forma, a sequência T1 adquire importância na avaliação do conteúdo da medula óssea pela RM (Ejindu *et al.*, 2007).

Figura 8 – RM da bacia de paciente feminina com 40 anos, ilustrando reconversão da medula óssea poupando apenas parte dos trocanteres maiores dos fêmures (T1 à esquerda e T2 com supressão de gordura à direita).

Fonte: Acervo próprio.

Outra forma de hiperplasia medular é a hematopoiese extramedular (embora seja relativamente incomum na DF tipo HbSS, sendo mais comumente associada a talassemia) (Ganguly *et al.*, 2011). Pode envolver fígado, baço ou espaços paravertebrais, menos provavelmente rins, glândulas adrenais, espaço epidural no canal vertebral e pele. Exames de imagens seccionais como TC e RM são úteis no diagnóstico, evidenciando facilmente essas massas com isodensidade na TC e com intensidade de sinal intermediária em imagens de RM ponderadas em T1 e T2, com nenhum ou mínimo realce pós-contraste endovenoso (Ganguly *et al.*, 2011; Agha *et al.*, 2013).

Além disso, como os pacientes com DF podem ter necessidade de múltiplas transfusões sanguíneas, possuem risco de desenvolver hemossiderose secundária, devido ao excesso de ferro no sistema reticuloendotelial. Esta situação clínica pode ter repercussão com depósito de ferro no fígado, no baço, mas também na medula óssea. A RM consegue avaliar a carga de ferro através de avaliação não invasiva de

forma qualitativa ao identificar intenso baixo sinal difuso em T1 e T2 nas estruturas analisadas, mas também de forma quantitativa por meio de sequências especiais (Ganguly *et al.*, 2011; Ware, 2017).

2.2. Técnica DIXON de RM e Espectroscopia na avaliação da medula óssea

A medula óssea pode ser avaliada através de exames de sangue e biópsia, mas recursos não invasivos como métodos de imagem também estão disponíveis para seu estudo, destacando-se o papel da RM por permitir melhor diferenciação dos tecidos de partes moles e ter maior resolução espacial (Lin *et al.*, 2016). A composição de gordura na medula óssea contribui para esta análise pela RM, visto que conforme já mencionado, a medula óssea sofre conversão de hematopoiética para adiposa a partir do nascimento, ocorrendo em diferentes graus dependendo da localização no esqueleto (Schwartz, 2015; Lin *et al.*, 2016). As mudanças de adiposidade na medula óssea relacionadas à idade ou promovidas por patologias específicas são reconhecidas há anos, mas a compreensão de sua importância clínica é relativamente recente (Li *et al.*, 2011; Schwartz, 2015).

Então, dependendo do mecanismo patológico, pode ocorrer aumento ou redução da adiposidade medular óssea, modificando seu padrão habitual de composição. Níveis mais elevados de gordura medular podem ser encontrados em quadros de osteoporose, alcoolismo, imobilização prolongada e uso de medicações (Schwartz, 2015). Por outro lado, a diminuição da adiposidade medular pode ocorrer por diversas causas: reconversão, infiltração ou depleção da medula óssea, alterações secundárias a displasia óssea, bem como por distúrbios metabólicos (Lin *et al.*, 2016).

A medula óssea é um dos poucos tecidos onde tanto água quanto gordura podem estar igualmente presentes, permitindo que a composição água-gordura possa ser quantificada pela RM através da medida da FG (Karampinos *et al.*, 2017). Assim, a aparência da medula óssea na RM dependerá da sequência de pulso avaliada, bem como de sua composição relativa (proporção de proteínas, água, gordura e células, ou seja, a proporção de medula vermelha e amarela) (Lin *et al.*, 2016). As sequências convencionais de RM mais comumente usadas para avaliação de distúrbios da medula óssea são T1 e T2, no entanto, a quantificação da adiposidade da medula óssea vem ganhando crescente atenção como um potencial biomarcador em diversas

situações clínicas, destacando-se o papel da técnica DIXON e da espectroscopia (Li *et al.*, 2011; Shen *et al.*, 2013).

2.2.1. Técnica DIXON

A aquisição de imagens com supressão do sinal da gordura é um recurso de grande utilidade diagnóstica, possível de ser executado em virtude da diferença nas frequências de ressonância e dos valores de T1 da água e da gordura (Berglund, 2011; Pezeshk *et al.*, 2017). Existem várias sequências capazes de realizar a supressão do sinal da gordura na prática médica. Como exemplos das técnicas de supressão de gordura nas imagens de RM temos a sequências com pulso de saturação em uma frequência seletiva, recuperação inversão, técnicas híbridas ou mesmo aquelas baseadas no deslocamento químico, dentre estas encontra-se a técnica DIXON (Brandao *et al.*, 2013; Pezeshk *et al.*, 2017).

A técnica DIXON permite suprimir a contribuição do sinal de gordura no pós-processamento e não durante a aquisição, além de proporcionar a visualização de mapas com a distribuição da água e da gordura (Guerini *et al.*, 2015). Vários estudos recentes vêm demonstrando aplicação da técnica DIXON para avaliação quantitativa da FG, celularidade da medula óssea, análise da cartilagem articular, avaliação de sacroilíte inflamatória e redução de artefato de susceptibilidade magnética na presença de implantes metálicos (Bredella *et al.*, 2001; Burakiewicz *et al.*, 2017; Ozgen, 2017; Pezeshk *et al.*, 2017).

No início da década de 80, o recurso disponível para realização de medidas da fração gordura/água era a espectroscopia de prótons, que apresenta resolução espacial limitada em comparação com técnicas de imagem propriamente ditas. Em 1984, DIXON combinou recursos da espectroscopia e das imagens por RM, obtendo a separação do sinal da gordura e da água, de forma a gerar, após processamento, imagens apenas com o sinal da água ou da gordura, tudo isso em apenas uma aquisição (Dixon, 1984; Ozgen, 2017). A técnica DIXON obtida com diferentes tempos de eco possibilita adquirir várias imagens, com base no recurso do deslocamento químico (Berglund *et al.*, 2011). Diferentes variantes desta sequência encontram-se disponíveis na maioria dos fabricantes de equipamentos de RM, sob diferentes acrônimos: mDixon na Philips Medical Systems, Dixon na Siemens Healthcare, FatSep na Hitachi e IDEAL na GE Healthcare (Noble *et al.*, 2014).

2.2.1.1. Princípios físicos básicos

Uma informação essencial para o entendimento das técnicas do tipo DIXON é que a água e a gordura são os principais componentes do organismo humano a contribuírem para a formação da imagem por RM (Ma, 2008). Os hidrogênios nas moléculas de água e gordura possuem frequências de ressonância diferentes, isto é, deslocamentos químicos diferentes, sendo a dos lipídios menor em relação à água. Na presença de um campo perfeitamente homogêneo, a diferença em frequência entre o principal pico das moléculas lipídicas e da água é de 3.4 p.p.m. (partes por milhão). Desta forma, esta diferença de frequência relativa mudará segundo a intensidade do equipamento, sendo aproximadamente 217,6 Hz para 1,5T e 435 Hz para 3T.

Em uma sequência gradiente eco, a magnetização transversal da água e da gordura iniciam em fase imediatamente após o pulso de excitação inicial, esta condição é conhecida como em fase (EF) ou em inglês *in-phase* (Esquema 1). Após cerca de 2,3 ms $[= \pi / (2 \cdot \pi \cdot 217,6) \text{ s}]$ no aparelho de 1,5 T e 1,15 ms $[= \pi / (2 \cdot \pi \cdot 435) \text{ s}]$ no de 3,0 T, estas magnetizações estarão em lados opostos (oposição ou fora de fase - 180°, FF). Caso seja feita a aquisição da imagem com esses valores de tempo de eco (TE), os sinais de ambos os componentes são subtraídos entre si, podendo ser cancelados caso exista a mesma quantidade de água e de gordura no voxel (esquema 1). A condição antes mencionada é conhecida em inglês como *out-of-phase*. Para aquisições com tempos de eco maiores, os sinais da água e da gordura podem passar a se somar, pois voltariam a ficar em fase, e assim sucessivamente é um fenômeno cíclico (Guerini *et al.*, 2015; Burakiewicz *et al.*, 2017).

Como seria tecnicamente impossível adquirir com um TE nulo, é feita uma aquisição no dobro do TE da situação *out-of-phase*, contendo o sinal a soma de ambas as contribuições ou condição em fase (Figura 9). Esse seria o princípio básico da técnica DIXON com aquisição em dois tempos de eco diferentes, denominada assim de DIXON de dois pontos (DDP) (Dixon, 1984). A técnica DDP é também implementada em uma sequência de pulso spin-eco modificada, na qual uma primeira imagem corresponde a um spin-eco convencional com água e gordura em fase, na qual o brilho do voxel reflete a magnetização transversal adicionada de ambos os componentes químicos; e a segunda seria adquirida com o gradiente de leitura

deslocado para produzir uma imagem com 180° de diferença de fase entre água e gordura, ou seja, com hidrogênios de água e gordura fora de fase.

Figura 9 – Representação dos vetores de magnetização transversal da água e da gordura em aquisições com diferentes tempos de eco (indicados em ms), tomando como referência a frequência da água em uma máquina de 1,5T.

Fonte: Adaptado de Lins, CF; Salmon, CEG; Nogueira-Barbosa, MH. Radiol. Bras. 2020.

A partir destas imagens (EF e FF), há uma etapa de pós-processamento para separação de água e gordura, de forma que a adição de ambas as imagens resulta em uma imagem isolada com o conteúdo da água; enquanto, a subtração da imagem FF da EF, resulta em uma imagem com gordura isolada (Berglund, 2011). Assim, a técnica DIXON possibilita a medida da fração gordura-água em uma região de interesse maior do que na espectroscopia e com maior resolução espacial (Berglund, 2011; Noble *et al.*, 2014; Yoo *et al.*, 2017; Grimm *et al.*, 2018). Em geral, esse conceito simples pode ser potencialmente usado para supressão de gordura ou quantificação de gordura em muitos tipos diferentes de sequências de pulso ou para outras aplicações clínicas (Ma, 2008).

No entanto, alguns obstáculos impediram inicialmente a utilização generalizada da sequência DDP. Em primeiro lugar, ao usar esta sequência se parte do pressuposto de que o campo magnético é homogêneo, o que na maioria das vezes não corresponde à realidade, especialmente em imagens extensas ou regiões com interfaces de osso/ ar. Assim, pode ocorrer erro de fase devido à heterogeneidade do campo magnético estático (B_0), promovendo supressão indesejada de sinais de água e gordura, podendo ocorrer em situações extremas uma troca local do sinal de gordura e água. Assim, se o campo magnético não for homogêneo, a abordagem de soma e subtração das imagens, como proposto originalmente por Dixon, resulta em

separação incompleta ou incorreta de água e gordura (Del Grande *et al.*, 2014; Guerini *et al.*, 2015; Burakiewicz *et al.*, 2017; Grimm *et al.*, 2018).

Com o intuito de resolver essas limitações da sequência DDP, a técnica DIXON sofreu modificações, passando a ser denominada de DIXON de três pontos (DTP). Na verdade, foi acrescentado um TE para formar um sistema com solução única de três equações (as três imagens) e três incógnitas (conteúdo de água, de gordura e a não homogeneidade) e tornar assim a técnica mais potente (Guerini *et al.*, 2015). A técnica DTP fornece supressão de gordura mais efetiva, apresentando melhor relação sinal-ruído (RSR), menor tempo de aquisição e ótima resolução espacial (Del Grande *et al.*, 2014; Guerini *et al.*, 2015).

O sinal dos lipídeos não é somente um pico e sim uma combinação de diferentes grupos químicos com diferentes deslocamentos químicos, isto é, a gordura possui uma representação multiespectral. Para contornar esta dificuldade adicional vem sendo utilizada uma combinação de técnicas de aquisição e processamento de imagens com múltiplos tempos de eco (Noble *et al.*, 2014). No entanto, para isso, foi necessário um algoritmo específico de decomposição de sinal de gordura e água, mais complexo que as simples subtrações ou adições realizadas na sequência DDP, permitindo o aumento da eficácia na separação do sinal entre os tecidos (Del Grande *et al.*, 2014; Guerini *et al.*, 2015).

Muitas variantes da técnica DIXON foram desenvolvidas, proporcionando a cada avanço tecnológico, uma separação mais consistente dos sinais de gordura e água, bem como permitindo a correção de muitos fatores de confusão (Yoo *et al.*, 2017). Atualmente, a técnica desenvolveu-se ainda mais, demonstrando que ecos adquiridos simetricamente podem produzir artefatos passíveis de degradar a qualidade da imagem. Com isso, a técnica DIXON tornou-se responsável por combinar ecos adquiridos assimetricamente com um algoritmo iterativo para maximizar o desempenho do ruído, recebendo diferentes nomenclaturas dependendo da marca do fabricante: na GE foi denominada de sequência IDEAL - Iterative Decomposition of Water and Fat with Echo Asymmetry and Least-squares Estimation; na SIEMENS chama-se DIXON e na Philips mDIXON (Takasu *et al.*, 2015).

Esta nova versão da técnica DIXON usando ecos adquiridos assimetricamente corresponde a uma sequência de RM altamente versátil, visto que pode ser obtida nas ponderações T1, T2 ou DP (densidade de prótons), bem como pode ser combinada com sucesso às técnicas spin-eco, fast spin-eco, balanced steady-state free

precession (SSFP) e spoiled gradient-recalled echo (SPGR) para suprimir a gordura e produzir imagens de RM de alta qualidade com menor duração do exame (Gerdes *et al.*, 2007; Westbrook *et al.*, 2013). Além disso, permite a realização de quantificação de gordura, mas não tão fidedigna devido a persistência de alguns fatores de confusão e necessitando de um pós-processamento manual das imagens para aquisição da FG (Reeder *et al.*, 2005; Burakiewicz *et al.*, 2017).

Recentemente, outros avanços tecnológicos foram incorporados na técnica DIXON, e ela passou a disponibilizar recursos quantitativos para avaliação do conteúdo de gordura e ferro, sendo denominada IDEAL-IQ (iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation quantitation sequence), pela GE; LiverLab, pela SIEMENS e mDixon Quant, pela Philips. Estes recursos quantitativos usam uma abordagem mais sofisticada de quantificação de gordura codificada por deslocamento químico, onde as imagens são adquiridas em múltiplos tempos de eco para aquisição simultânea dos mapas: FG e $R2^*$ (Eskreis-Winkler *et al.*, 2018).

Em algumas situações clínicas ocorre sobreposição de depósito de gordura e ferro em determinados órgãos ou tecidos, sendo importante a realização da medida do tempo de relaxamento $T2^*$, ou seu inverso $R2^*$, para permitir a quantificação do ferro. Nos órgãos ou tecidos com sobrecarga de ferro ocorre uma interação entre este elemento químico e as moléculas de água, promovendo uma perda de coerência de fase mais rápida, reduzindo mais rapidamente a magnetização transversal, com queda significativa no sinal de RM pela redução do $T2^*$. Já com os mapas $R2^*$, consegue-se uma correlação direta com o teor de ferro da estrutura analisada (Wood *et al.*, 2005; Chavhan *et al.*, 2009; Verlhac *et al.*, 2015).

A técnica DIXON quantitativa é um método de geração de imagens gradiente eco 3D (tridimensional) que utiliza informações de magnitude e fase de em média seis ecos, apropriados para a separação de sinais de água e de gordura multiespectral. Ainda, a aquisição multieco proporciona vigorosa separação de água e gordura com correção do efeito $T2^*$, além disso, o efeito $T1$ consegue ser evitado ao utilizar tempos de repetição longos. Com isso, a complexidade espectral da gordura, assim como o ruído, podem ser bem tolerados (Eskreis-Winkler *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2019). Ao incorporar um mapa $R2^*$ no algoritmo, a técnica DIXON considera os efeitos de $T2^*$ e heterogeneidade do campo, produzindo uma FG em DP também denominada em inglês PDFF (próton density fat fraction), a qual não predispõe a mensuração errada

decorrente do potencial fator de confusão na presença de sobrecarga de ferro (Eskreis-Winkler *et al.*, 2018).

2.2.1.2. Técnica DIXON Quantitativa no sistema musculoesquelético

A técnica DIXON pode ser adquirida nas ponderações T1, T2 e DP, permitindo a obtenção de quatro tipos de imagem, conforme já mencionado: fat-only, water-only, in-phase e out-of-phase, como pode ser observado na figura 11. Dentre as aplicações clínicas desta técnica, destacam-se: supressão da gordura de forma homogênea, redução dos artefatos de susceptibilidade magnética na presença de materiais metálicos, pode ser utilizada após administração endovenosa do meio de contraste paramagnético, bem como permite quantificação de gordura (Aoki *et al.*, 2013; Guerini *et al.*, 2015; Kirchgesner *et al.*, 2018).

No passado, antes da introdução da técnica DIXON, a quantificação de gordura era sistematicamente feita por meio da espectroscopia. No entanto, a espectroscopia de voxel único possui uma limitação intrínseca na sua resolução espacial e adicionalmente demanda um pós-processamento de dados mais complexo. Diferentemente, a técnica DIXON vem ganhando importância, por permitir obtenção de medidas precisas da FG, com menor duração do exame para cobrir uma grande região de interesse. Ressalta-se, entretanto, cuidado com alguns fatores de confusão: efeito T1, viés de ruído, decaimento T2*, complexidade espectral da gordura e heterogeneidade do campo B0 (Shen *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014).

A quantificação do tecido adiposo por imagens de RM vem crescendo nos últimos anos, tornando-se assunto de grande interesse e pesquisas (Gee *et al.*, 2015; Grimm *et al.*, 2018). A quantificação de gordura é bem consolidada na avaliação hepática. Em relação ao sistema musculoesquelético, vários trabalhos abordam a utilização da quantificação de gordura pela técnica DIXON combinada com gradiente-eco ou spin-eco para avaliação muscular, por exemplo na distrofia muscular de Duchenne (Noble *et al.*, 2014; Guerini *et al.*, 2015; Burakiewicz *et al.*, 2017; Grimm *et al.*, 2018). Além disso, pode ser empregada também para avaliação de infiltração da medula óssea em alguns distúrbios hematológicos, doenças metastáticas ou em casos de osteoporose (Maas *et al.*, 2003; Shen *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014; Takasu *et al.*, 2015; Yoo *et al.*, 2017). No entanto, são necessários mais estudos para padronizar

e validar a quantificação para a prática clínica no sistema musculoesquelético (Grimm *et al.*, 2018).

O recurso DIXON quantitativo (IDEAL-IQ, LiverLab, mDixon Quant) corresponde a uma sequência promissora, pelo fato de fornecer uma supressão e quantificação da gordura de forma mais fidedigna. Através do processamento automático das imagens, obtém além das imagens fat-only, water-only, in-phase e out-of-phase; imagens de FG e R2* que permitem, respectivamente, quantificação de gordura e estimativa de ferro (Wang *et al.*, 2019), como pode ser observado na figura 10.

Figura 10 – Imagens fornecidas em uma única aquisição pela técnica DIXON modificada (DSP) de uma paciente feminina de 33 anos, para obtenção de imagens que permitem quantificar diretamente a fração de gordura e estimativa do conteúdo de ferro. Em A, Fração de gordura (FG); em B, water-only; em C, fat-only; em D, R2*; em E, in-phase; em F, out-of-phase. Pode-se ilustrar a avaliação quantitativa com regiões de interesse (ROI) demarcadas, demonstrando percentual de gordura (A) e estimativa do conteúdo de ferro (D).

Fonte: Acervo próprio.

Infelizmente ainda não existem dados validados sobre os melhores parâmetros para aquisição da técnica DIXON quantitativa no sistema musculoesquelético. Por isso, ocorrem divergências e falta de padronização para obtenção de valores de normalidade aceitos universalmente para as medidas efetuadas por esta sequência

(Noble *et al.*, 2014; Grimm *et al.*, 2018). No entanto, pode-se extrapolar a aplicação dos recursos IDEAL-IQ, LiverLab ou mDixon Quant na análise óssea, especialmente em doenças hematológicas, pois estas sequências permitem além da quantificação de gordura, a mensuração da deposição de ferro, que pode ser acumulado no organismo em pacientes com histórico de transfusões sanguíneas repetitivas (Burakiewicz *et al.*, 2017). Na doença de Gaucher, por exemplo, a redução da FG, pode refletir a infiltração da medula óssea, com maior risco de complicações ósseas, conforme sugerido por Maas e colaboradores (Maas *et al.*, 2003).

As sequências com técnica DIXON quantitativas vêm se tornando disponíveis nas diversas marcas de aparelho de RM. O tempo de obtenção é variável, sendo maior no IDEAL da GE, DIXON da SIEMENS ou mDixon da Philips, com variação de quatro a cinco minutos em média. Nos recursos IDEAL-IQ, LiverLab ou mDixon Quant o tempo de duração é curto, variando entre 16 a 100s, podendo ser realizada em apneia ou em respiração livre, dependendo da região anatômica a ser analisada (ex: para avaliação hepática possui menor duração e preferencialmente é obtida em apneia, já para avaliação da medula óssea, apresenta maior duração, podendo ser realizada em respiração livre). É importante ressaltar também que as imagens obtidas na sequência IDEAL (GE), DIXON (SIEMENS) ou mDixon (Philips) possuem uma resolução espacial maior, permitindo identificação mais adequada das estruturas anatômicas. Os recursos IDEAL-IQ, LiverLab ou mDixon Quant por tratarem-se de sequências cujo objetivo é quantificação, perdem um pouco em termos de resolução anatômica.

Na prática, para a realização da quantificação de gordura e ferro por meio dos recursos IDEAL-IQ, LiverLab ou mDixon Quant, o procedimento é simples. A própria máquina de RM faz o processamento das imagens, fornecendo todos os pacotes necessários para mensuração direta. O avaliador apenas terá que acessar a workstation e selecionar os mapas FG ou R2* através de um visualizador. Em seguida, deverá selecionar o recurso da região de interesse (ROI) com o formato e o tamanho apropriados à região anatômica estudada e, com isso, já aparece o valor médio do percentual de gordura e estimativa de ferro daquela área, como ilustrado na figura 10 (Yoo *et al.*, 2017; Eskreis-Winkler *et al.*, 2018). Importante mencionar que o R2* corresponde ao inverso do T2*. O T2* é usado para medir a quantidade de ferro, de forma que um valor baixo de T2*, reflete um alto teor de ferro, causando uma alta taxa de relaxamento dos prótons. Assim, quanto maior o valor do R2*, menor o T2* e maior

a quantidade de ferro depositada na região de interesse analisada (Chavhan *et al.*, 2009).

3. Justificativa

3. Justificativa

A DF corresponde a uma patologia altamente prevalente no Brasil, notadamente na Bahia, responsável por promover alterações na produção, longevidade e função da molécula de Hb. As formas de acometimento da doença podem ser aguda ou crônica em diversos órgãos, isolada ou simultaneamente, gerando grande impacto na morbimortalidade. No entanto, necessita-se entender um pouco mais a respeito dos casos mais complexos de DF, bem como de possíveis biomarcadores de gravidade da doença. Com isso, como já é conhecido que os pacientes com DF cursam com reconversão e aumento da celularidade da medular óssea, propõe-se utilizar técnicas quantitativas pela RM, buscando realizar medida da FG na medula óssea, para avaliar, indiretamente, a infiltração ou reconversão medular, visando correlacionar com a gravidade da doença.

4. Objetivos

4. Objetivos

4.1. Geral

- Estudar os principais achados nas sequências convencionais em exames de RM da coluna lombar e da bacia com recursos de quantificação de gordura da medula óssea em pacientes com DF, investigando a sua relação com alguns marcadores clínicos e laboratoriais de gravidade da doença.

4.2. Específicos

- Descrever e comparar os achados das sequências convencionais de RM da coluna lombar e da bacia com as medidas da quantificação de gordura da medula óssea em pacientes com DF e indivíduos saudáveis;
- Estudar a associação entre hemólise, grau de gravidade da DF pela calculadora online e as medidas de quantificação de gordura na medula óssea pela RM;
- Analisar a associação entre as alterações de imagem relacionadas às complicações ósseas por fenômenos vaso-oclusivos com grau de gravidade da DF pela calculadora online e as medidas de quantificação de gordura na medula óssea pela RM;
- Comparar os achados das sequências convencionais e os dados de quantificação de gordura na medula óssea pela RM nos pacientes com DF em relação ao histórico de transfusões sanguíneas e ao tratamento com hidroxiureia;
- Realizar avaliação intraobservador e interobservadores das medidas de quantificação de gordura na medula óssea pela RM, nos diversos locais estudados.

5. Metodologia

5. Metodologia

5.1. Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo do tipo corte transversal, com grupos de comparação, realizado no período entre novembro/ 2018 a dezembro/ 2019, na Clínica Delfin Medicina Diagnóstica, com pacientes oriundos do Ambulatório de Ortopedia do Hospital Santa Izabel, em Salvador-Bahia. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, através do CAAE 79624017.9.0000.5544 (Anexo A) e todos os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE – Apêndice A) e, nos casos necessários, termo de assentimento (Apêndice B).

5.2. Cálculo Amostral

O cálculo amostral foi baseado numa amostra piloto com 35 indivíduos, considerando a variável principal “Fração de Gordura”, desvio-padrão de 8,74 e diferença entre os grupos em 45%, obtendo-se tamanho amostral de 48 pacientes em cada grupo, com nível de significância $\alpha=0,05$, $\beta=0,10$ e poder de teste $(1-\beta)$ de 90%.

5.3. Seleção da população, critérios de inclusão e exclusão

Os participantes deste estudo foram divididos em dois grupos principais: DF e controle. O primeiro grupo era formado por pacientes com DF e o último por indivíduos assintomáticos. Critérios de inclusão para o grupo DF: diagnóstico de DF baseado no exame de eletroforese da hemoglobina em agarose com pH alcalino (Ministério da Saúde., 2012) ou teste genômico de leucócitos do sangue periférico (Liao *et al.*, 2013). Todos os indivíduos foram acompanhados ambulatorialmente, e esse grupo foi posteriormente dividido em pacientes homozigotos (SS) ou heterozigotos compostos (SC) para avaliar possíveis diferenças. Os pacientes precisavam ter idade superior e/ ou igual a seis anos (não necessitar de sedação para realização do exame de RM), além do que não poderiam estar em uso de corticosteroide, nem apresentarem manifestações clínicas ou outras patologias capazes de envolver a medula óssea (exemplo: outras anemias, doenças linfoproliferativas, síndrome da imunodeficiência

adquirida – SIDA, metástases ósseas), no momento da admissão no estudo. O grupo controle foi composto por voluntários, selecionados da seguinte forma: após a coleta de dados clínicos, realização de exame físico e análise do histórico de exames laboratoriais pela pesquisadora responsável, todos os indivíduos considerados assintomáticos e saudáveis foram admitidos no estudo. Assim, os indivíduos sem doenças hematológicas ou uso de medicamentos que pudessem interferir no teor de gordura da medula óssea foram selecionados para compor o grupo controle. Esses indivíduos foram pareados por idade, peso e sexo com os pacientes com DF. Foi excluída uma paciente da pesquisa por ter apresentado claustrofobia no momento do exame.

5.4. Aspectos clínicos

Foi realizada revisão dos prontuários dos pacientes com DF, bem como os pacientes responderam a um questionário de avaliação clínica (Apêndice C) para obtenção de dados demográficos (idade, gênero, peso, tabagismo, etilismo), informações relacionadas a eventos clínicos prévios (crises álgicas, AVE, STA, infecções, priapismo, úlceras nas pernas, osteonecrose). Além disso, foram registradas as medicações em uso e as correspondentes dosagens e duração do tratamento. Os dados relacionados a transfusões sanguíneas também foram obtidos, ressaltando-se a frequência das mesmas e o volume sanguíneo administrado em cada momento. Com isso, pôde-se classificar os indivíduos com DF em três categorias de acordo com a quantidade de unidades de glóbulos vermelhos recebidos: leve de 0-2 U (unidade); moderado de 3-20 U e grave > 20 U (Elias *et al.*, 2013).

Os pacientes com DF também foram avaliados laboratorialmente no momento da admissão no estudo. Foram realizados os seguintes exames laboratoriais: hemograma completo (contendo VCM e WBC), contagem de reticulócitos, BT e LDH. Estes exames constam na relação dos exames de rotina obtidos no acompanhamento habitual destes pacientes.

Além disso, como a hemólise é um achado importante nos pacientes com DF e por não existir um parâmetro direcionado para sua aferição, foi criada uma variável com base nos valores de Hb e LDH (por serem os principais dados laboratoriais que auxiliam no entendimento da hemólise) com o intuito de classificar de forma indireta os pacientes com DF para presença ou ausência desta alteração (Kato *et al.*, 2006).

Para classificar como presença de hemólise foram reunidos dados de $Hb \leq 9,5$ g/dl e $LDH > 300$ U/L (Sebastiani *et al.*, 2007).

5.5. RM da coluna lombar e da bacia

Todos os participantes do estudo (pacientes com DF e indivíduos do grupo controle) realizaram RM da coluna lombar e da bacia, em aparelho de 1.5 Tesla (Optima MR450W, GE Healthcare, Milwaukee, WI, USA), em posição supina, utilizando-se bobina de corpo.

Os exames de RM da coluna lombar foram compostos por imagens convencionais no plano sagital nas sequências T1, T2 e IDEAL T2 (Water-only), bem como no plano axial na ponderação T2. Já os estudos de RM da bacia foram compostos por imagens convencionais no plano coronal nas sequências T1 e STIR (Short tau inversion recovery), bem como no plano axial nas ponderações T1 e T2 FATSAT. De acordo com essas sequências convencionais de RM, os pacientes com DF foram analisados para avaliar os seguintes achados: presença/ persistência de medula vermelha (hematopoiética), necrose avascular da cabeça femoral, infartos ósseos, vértebras com morfologia em “H”, aspecto por imagem de necrose da medula óssea (padrão de alteração no sinal da medula óssea semelhante à necrose avascular e aos infartos ósseos; no entanto, sendo mais extenso, envolvendo a coluna e a pelve, sem progressão para colapso ósseo, conforme demonstrado na figura 11) (Tang *et al.*, 2007), espessamento da medula óssea e hematopoiese extramedular.

Figura 11 – Paciente feminina, com 45 anos, apresentando aspecto típico pela RM de necrose da medula óssea, caracterizado por padrão de edema na medular óssea, envolvendo vértebras lombares e estruturas ósseas da bacia, sem progressão para colapso ósseo.

Fonte: Acervo próprio.

Foram consideradas complicações ósseas relacionadas a fenômenos vaso-oclusivos: vértebras em “H”, necrose avascular da cabeça femoral, aspecto por imagem de necrose da medula óssea e infartos ósseos. Assim, foi criada uma variável, relacionada à presença ou não de qualquer dessas complicações ósseas secundárias aos fenômenos vaso-oclusivos.

Além disso, a espessura da diáfise proximal do fêmur foi medida bilateralmente nos pacientes com DF e no grupo controle no plano coronal T1, no corte que passava pelo meio do fêmur; a medida foi feita 2 cm abaixo do trocânter femoral menor na porção interna da cortical óssea, conforme demonstrado na figura 12.

Figura 12 – Demonstração da medida da espessura da cortical óssea, realizada no plano coronal na sequência T1.

Fonte: Acervo próprio.

A avaliação qualitativa da medula óssea foi baseada na sua intensidade de sinal. A medula isointensa à gordura subcutânea em todas as sequências foi identificada como predominantemente gordurosa. A medula vermelha, ou hematopoeticamente ativa, foi identificada pelas características de sinal nas imagens de RM, como isointensa ou hipointensa ao músculo nas imagens ponderadas em T1 e ligeiro alto sinal em relação ao músculo na sequência T2 com supressão de gordura. Em contraste, a medula isointensa ou hipointensa ao músculo em imagens ponderadas em T1 e muito hipertensa ao músculo em imagens ponderadas em T2 com supressão de gordura foi interpretada como padrão de edema. Por fim, a medula muito hipointensa ao músculo em todas as sequências foi interpretada como deposição de ferro (Alyas *et al.*, 2007; Nouh e Eid, 2015; Caranci *et al.*, 2018).

Além disso, foram obtidas imagens quantitativas com a técnica DIXON de seis pontos, utilizando-se a sequência IDEAL-IQ (Iterative decomposition of water and fat

with echo asymmetry and least-squares estimation quantitation). Dessa forma, as imagens na sequência IDEAL-IQ foram adquiridas para quantificação da fração de gordura (FGdix).

A sequência IDEAL-IQ foi realizada no plano sagital para a coluna lombar e no plano axial para a bacia, com os seguintes parâmetros: tempo de repetição = 10,2 ms; tempo de eco = 4,8 ms (variando entre 0,9 a 8,7 ms), espessura da fatia = 6 mm, nenhum intervalo entre fatias; flip-angle = 6°; campo de visão = 35 x 35 cm; tamanho da matriz = 110 x 110, tempo total de duração da sequência = 80 s. As imagens foram processadas automaticamente, produzindo mapas "somente água – Water only", "somente gordura – fat only", "em fase – in-phase", "fora de fase – out-of-phase", "fração de gordura – fat fraction" e "R2*" de cada fatia da imagem (Figura 13).

Figura 13 – Demonstração das imagens obtidas em uma única aquisição com a técnica DIXON modificada de seis pontos.

Fonte: Acervo próprio.

Para avaliação quantitativa, uma ROI foi selecionada em formato circular com uma área de 10 mm², colocada na porção mais anterior dos corpos vertebrais lombares, fora das estruturas vasculares do plexo venoso basivertebral, bem como em alguns pontos da bacia: nos ilíacos (posteriormente ao terço médio das articulações sacroilíacas), cabeças femorais (em sua região central); trocanteres maiores dos fêmures (região central); colos femorais (região central entre a cabeça e

o trocanter maior) e na porção mais anterior da primeira vértebra sacral, neste estudo denominada apenas de sacro (Figura 14).

Figura 14 – Demonstração dos locais de medida da FGdix na bacia (ilíacos, cabeças femorais, trocanteres maiores dos fêmures e colos femorais), bem como nas vértebras lombares e no sacro.

Fonte: Acervo próprio.

A ROI foi utilizada sistematicamente com as dimensões acima referidas, sendo colocada no mesmo local em todos os pacientes. Houve seleção manual da ROI por uma radiologista musculoesquelética com dez anos de experiência e por uma estudante da graduação em Medicina após treinamento com seis meses de duração. Os coeficientes de variância (CV) em cada local foram avaliados repetidamente duas vezes pela radiologista, com intervalo de seis meses entre as medidas, para obtenção da análise intraobservador, além de ter sido realizada análise interobservador.

5.6. Calculadora online para estimativa do risco de morte na DF

Foi utilizada a ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” (Sebastiani *et al.*, 2007; Belini Junior *et al.*, 2015), disponível em <http://www.bu.edu/sicklecell/downloads/Projects>, para o cálculo dos escores de gravidade e classificação dos pacientes em categorias por fenótipo (leve, moderado, grave). Para realização dos cálculos foram necessárias as seguintes informações: idade, gênero, BT, LDH, VCM, contagem de reticulócitos, WBC, genótipo da DF, histórico de transfusão sanguínea e informações sobre alguns eventos clínicos (STA, crises de dor, priapismo, AVE e necrose avascular óssea).

Para obtenção da estimativa do risco de morte (gravidade da doença) pela calculadora online: os níveis de BT, LDH, VCM, reticulócitos e WBC foram obtidos a partir dos dados coletados nas amostras para os testes laboratoriais de rotina; a transfusão de sangue foi atribuída aos pacientes com transfusão sanguínea regular por mais de um ano antes do início do estudo; priapismo e STA foram considerados presentes em pacientes com esses eventos perto da data de coleta das amostras de sangue; as crises dolorosas foram consideradas presentes em pacientes que tiveram mais de três episódios de crise/ pessoa/ ano no último ano antes da data da coleta, conforme recomendação dos autores (Sebastiani *et al.*, 2007). Importante ressaltar que mesmo na ausência de qualquer variável (clínica ou laboratorial), a calculadora permitiria que o pesquisador colocasse "não disponível" para a variável em falta.

5.7. Análise estatística

Todas as análises estatísticas foram realizadas com o software comercialmente disponível (Statistical Package for the Social Science - SPSS versão 20; IBM Corp., Armonk, NY, EUA e MedCalc versão 16.3.1; MedCalc Software, Ostend, Bélgica). As variáveis dependentes analisadas incluíram os dados clínicos e laboratoriais, os achados de imagem e a FGdix.

Os dados quantitativos foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. O teste t foi utilizado para comparar médias, após testar a normalidade das variáveis quantitativas. Para avaliar o grau de associação entre as variáveis estudadas, foi realizada a correlação de Pearson, tendo como referência: $r < 0,10$ – correlação desprezível; $r = 0,10$ a $0,39$ – correlação fraca; $r = 0,40$ a $0,69$ – correlação moderada; $r = 0,70$ a $0,89$ – correlação forte e $r > 0,9$ – correlação muito forte (Schober *et al.*, 2018). Os dados categóricos foram comparados pelo teste do qui-quadrado suplementado pelo teste exato de Fisher. As curvas ROC foram obtidas para comparar os métodos diagnósticos de um sistema classificador binário com base em cada variável, nos pacientes com DF e seus subtipos. Para obtenção das odds ratio foi utilizada regressão logística binária. Além disso, foram realizadas análises intra e interobservadores para as medidas de FGdix, utilizando coeficiente de correlação intra-classes, tendo como referência: $0,75$ a $1,0$ – excelente; $0,6$ a $0,74$ – bom; $0,4$ a $0,59$ – razoável e $< 0,4$ – pobre (Cicchetti, 1994). Para todos os testes estatísticos foi considerado significativo valor de $p < 0,05$.

6. Resultados

6. Resultados

6.1. Descrição dos dados demográficos e achados clínicos

Foram incluídos 96 participantes no estudo, 66 do sexo feminino (68,8%); a média de idade foi $34,3 \pm 12,8$ anos (variando de 10 - 57 anos) e a média de peso foi $63 \pm 13,4$ Kg (variando de 32 - 95,5 Kg). Em cada grupo existiam 48 indivíduos, sendo 33 do sexo feminino (68,8%), pareados por idade e peso (tabela 3).

Tabela 3 – Dados demográficos dos pacientes com DF e do grupo controle.

	DF	Controle	Valor de p*
Idade (anos)	$34,3 \pm 12,8$	$34,2 \pm 12,8$	0,981
Peso (Kg)	$63,1 \pm 13,8$	$62,9 \pm 13,1$	0,965

Legenda: DF = Doença Falciforme; Kg = Quilograma, * Realizado teste t de student.

Em relação aos subtipos de DF, dos 48 pacientes envolvidos na pesquisa, 26 foram do tipo HbSS e 22 do tipo HbSC. Na tabela 4, estão descritas algumas informações sobre dados clínicos referidos pelos pacientes com DF.

Tabela 4 – Dados clínicos referidos pelos pacientes com DF (HbSS e HbSC).

	DF N (%)	HbSS N (%)	HbSC N (%)	Valor de p*
Crises álgicas	46 (95,8)	25 (96,2)	21 (95,5)	0,904
Infecções	27 (56,3)	18 (69,2)	9 (40,9)	0,049
Osteonecrose	24 (50,0)	13 (50,0)	11 (50,0)	1,00
Síndrome torácica aguda	21 (43,8)	13 (50,0)	8 (36,4)	0,343
Úlceras nas pernas	8 (16,7)	6 (23,1)	2 (9,1)	0,195
Acidente vascular encefálico	3 (6,3)	1 (3,8)	2 (9,1)	0,454
Priapismo	3 (6,3)	3 (11,5)	0 (0)	0,102

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C, *Teste qui-quadrado.

Apenas dois participantes eram tabagistas, um no grupo DF e outro no grupo controle. Enquanto, 23 indivíduos (24%) tinham como hábito social a ingestão de bebida alcoólica leve (aos finais de semana), sendo 12 no grupo DF.

No tocante ao tratamento fornecido aos pacientes com DF, 22 (45,8%) utilizavam hidroxiureia, sendo 15 deles no grupo HbSS, sem diferença estatisticamente significativa entre os subtipos ($p = 0,073$). A dose média deste medicamento foi de $12,8 \pm 3,5$ mg/kg/dia, variando de 5,2 a 21,6 mg/kg/dia. Em relação ao passado de

transfusões sanguíneas, 34 (70,8%) dos pacientes já haviam feito, 22 no grupo HbSS e 12 no HbSC, tendo diferença estatisticamente significativa ($p=0,022$). O volume de bolsas de sangue administradas pode ser observado na tabela 5.

Tabela 5 – Número de bolsas de sangue de acordo com o subtipo de DF.

Unidades de bolsas de sangue (U)	Total N (%)	HbSS N	HbSC N
0-2	17 (35,4)	8	9
3-20	14 (29,2)	11	3
>20	3 (6,3)	3	0

Legenda: HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S; HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C.

6.2. Descrição dos achados laboratoriais

Os exames laboratoriais foram realizados em todos os pacientes com DF, exceto transferrina e ferritina (Tabela 6). Ressalta-se que os pacientes com subtipo HbSS apresentaram menores valores de Hb e níveis mais elevados de VCM, reticulócitos, LDH e BT.

Tabela 6 – Resumo dos resultados de exames laboratoriais nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.

	DF			HbSS			HbSC			Valor de p	
	N	Média ± DP	N	Mín	Máx	Média ± DP	N	Mín	Máx		Média ± DP
Hb (g/dl)	48	10,1 ± 1,8	26	6,3	12,6	9,1 ± 1,3	22	8,5	15,0	11,3 ± 1,5	< 0,001
Ht (%)	48	29,2 ± 5,2	26	18,8	34,7	26,1 ± 3,5	22	24,3	43,7	32,8 ± 4,7	< 0,001
VCM (fl)	48	87,9 ± 16,1	26	69,1	124,5	92,9 ± 12,9	22	67,3	111,7	81,9 ± 12,5	0,005
Retic (%)	48	4,9 ± 3,1	26	1,3	13,9	5,8 ± 2,8	22	0,8	6,7	3,9 ± 1,8	0,009
Leuco/mm³	48	9077,8 ± 3818,4	26	3620,0	18800,0	9492,8 ± 3240,0	22	3920,0	24,960,0	8587,3 ± 4434,9	0,432
LDH (U/L)	48	380,0 ± 147,1	26	252,0	872,0	450,8 ± 148,4	22	156,0	564,0	296,4 ± 93,4	< 0,001
BT (mg/dl)	48	1,59 ± 1,3	26	0,4	6,5	2,1 ± 1,5	22	04	1,9	0,9 ± 0,4	0,001

Legenda: DP = Desvio-padrão; Mín = Mínimo; Máx = Máximo; Hb = Hemoglobina; Ht = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; retic = Reticulócitos; Leuco = Leucócitos; LDH = lactato desidrogenase; BT = bilirrubinas totais; Transf. = Transferrina; Ferrit = Ferritina.

6.3. Calculadora online para estimativa do risco de morte na DF

De acordo com a ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator”, os pacientes com DF foram avaliados para a gravidade da doença. Dessa forma, 42 pacientes (87,5%) foram classificados como leve e 6 (12,5%) como moderado, nenhum foi classificado na categoria grave. Na tabela 7, podem ser observados os valores dos escores nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.

Tabela 7 – Valores do escore de gravidade pela ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.

Escore de gravidade pela ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator”	DF		HbSS		HbSC		HbSS x HbSC	
	Média ± DP	Mín	Máx	Média ± DP	Mín	Máx	Média ± DP	Valor de p
	0,19 ± 0,14	0,036	0,48	0,16 ± 0,12	0,02	0,518	0,22 ± 0,17	0,204

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C, DP = Desvio-padrão; Mín = Mínimo; Máx = Máximo. * Teste t de student.

Ao aplicar teste t de Student, não foi observada significância estatística entre o valor do escore de gravidade fornecido pela calculadora quando comparado com o uso de hidroxiureia ($p=0,595$), nem com a realização de transfusões sanguíneas ($p=0,453$).

As situações clínicas analisadas foram avaliadas através do teste do qui-quadrado com as categorias leve e moderada da calculadora, demonstrando as seguintes significâncias estatísticas: crises álgicas ($p=0,585$), AVE ($p = 0,003$); síndrome torácica aguda ($p=0,037$); infecções ($p = 0,741$); priapismo ($p = 0,328$); úlceras nas pernas ($p = 0,242$); osteonecrose ($p=0,413$).

6.4. Descrição dos achados de RM

6.4.1. Avaliação pelas sequências convencionais

Os achados mais frequentes, nos pacientes do grupo DF, em ordem decrescente foram: presença/ persistência de medula vermelha (hematopoiética), necrose avascular da cabeça femoral e infartos ósseos. A tabela 8 descreve todas as complicações ósseas identificadas nos pacientes com DF e em seus subtipos.

Tabela 8 – Achados de RM nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC.

Achados de RM	DF	HbSS	HbSC	Valor de p
	N = 48 N (%)	N = 26 N (%)	N = 22 N (%)	
Medula hematopoiética	41 (85,4)	25 (96,2)	16 (72,7)	0,022*
Necrose avascular da cabeça femoral	36 (75,0)	18 (69,2)	18 (81,8)	0,316*
Infarto ósseo	28 (58,3)	16 (61,5)	12 (54,5)	0,624*
Vértebra com morfologia em “H”	28 (58,3)	16 (61,5)	12 (54,5)	0,624*
Aspecto por imagem típico de necrose da medula óssea	4 (8,3)	4 (15,4)	0 (0)	0,114**
Hematopoiese extramedular	3 (6,3)	2 (7,7)	1 (4,5)	0,654*
Espessamento da medular óssea	2 (4,2)	1 (3,8)	1 (4,5)	0,904*

Legenda: RM = Ressonância Magnética; DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; *Teste do qui-quadrado. ** Teste exato de Fisher.

Além disso, a espessura da cortical óssea nas porções proximais das diáfises femorais nos pacientes com DF também merece destaque. Ao comparar este achado entre os participantes dos grupos DF e controle, foi observada uma diferença estatisticamente significativa, notando-se maiores valores de espessura no grupo DF, conforme demonstra a tabela 9 abaixo.

Tabela 9 – Comparação da espessura da cortical óssea na porção proximal das diáfises femorais entre os grupos DF e controle, bem como entre os subtipos de DF.

Espessura da cortical óssea (mm)	DF Média ± DP	Controle Média ± DP	Valor de p*	HbSS Média ± DP	HbSC Média ± DP	Valor de p*
Fêmur Proximal D	6,80 ± 3,69	3,81 ± 3,30	< 0,001	6,01 ± 3,77	7,77 ± 3,44	0,104
Fêmur Proximal E	6,87 ± 3,66	3,81 ± 3,27	< 0,001	6,00 ± 3,72	7,90 ± 3,39	0,073
Média (D/ E)	6,85 ± 3,65	3,81 ± 3,29	< 0,001	6,00 ± 3,74	7,86 ± 3,36	0,081

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; DP = Desvio-padrão; D = Direito; E = Esquerdo. * Teste t de student.

6.4.2. Avaliação Quantitativa pela Técnica DIXON

A FGdix foi avaliada em todos os participantes e em várias localizações (conforme descrito na metodologia), sendo obtidos os dados referidos na tabela 10.

Tabela 10 – Comparação da FGdix entre os pacientes com DF e os controles, bem como entre os subtipos de DF (HbSS e HbSC).

Região anatômica - FGdix (%)	DF Média ± DP	Controle Média ± DP	Valor de p*	HbSS Média ± DP	HbSC Média ± DP	Valor de p*
L1	12,5 ± 9,3	30,6 ± 10,4	< 0,001	9,5 ± 7,9	16,1 ± 9,7	0,012
L2	13,4 ± 10,4	33,4 ± 11,6	< 0,001	10,7 ± 10,7	16,6 ± 9,4	0,049
L3	14,5 ± 11,3	37,3 ± 11,6	< 0,001	11,0 ± 10,4	18,7 ± 11,2	0,018
L4	14,0 ± 11,5	36,9 ±11,5	< 0,001	10,2 ± 10,1	18,6 ± 11,6	0,011
L5	15,5 ± 11,9	38,7 ± 13,1	< 0,001	12,1 ± 11,0	19,4 ± 12,0	0,033
Média nos corpos vertebrais lombares	14,0 ± 10,2	35,4 ± 11,0	< 0,001	10,7 ± 9,2	17,9 ± 10,1	0,013
Sacro	18,1 ± 12,6	40,7 ± 13,0	< 0,001	13,9 ± 10,9	22,9 ± 13,0	0,012
Íliaco direito	17,5 ± 14,5	50,7 ± 13,3	< 0,001	11,1 ± 10,8	25,2 ± 14,8	< 0,001
Íliaco esquerdo	18,4 ± 14,3	50,8 ± 14,1	< 0,001	11,9 ± 11,1	26,1 ± 14,1	< 0,001
Média nos íliacos	18,0 ± 14,2	50,8 ± 13,3	< 0,001	11,5 ± 10,7	25,6 ± 14,2	< 0,001
Cabeça femoral direita	43,2 ± 21,6	86,9 ± 8,6	< 0,001	34,8 ± 22,1	54,2 ± 15,2	0,002
Cabeça femoral esquerda	45,2 ± 23,7	87,2 ± 9,4	< 0,001	40,5 ± 26,0	52,1 ± 19,3	0,081
Média nas cabeças femorais	43,6 ± 20,8	87,1 ± 8,6	< 0,001	37,6 ± 22,4	50,7 ± 16,5	0,028
Trocanter maior do fêmur direito	60,3 ± 21,3	92,3 ± 7,5	< 0,001	55,2 ± 35,3	67,0 ± 24,2	0,197
Trocanter maior do fêmur esquerdo	62,3 ± 28,7	92,3 ± 6,6	< 0,001	58,1 ± 31,8	67,2 ± 24,4	0,292
Média nos trocanteres maiores dos fêmures	57,5 ± 30,6	92,3 ± 6,9	< 0,001	54,5 ± 33,5	61,0 ± 27,3	0,469
Colo femoral direito	29,4 ± 18,1	67,9 ± 14,5	< 0,001	23,5 ± 17,1	37,1 ± 16,8	0,012
Colo femoral esquerdo	28,8 ± 16,8	67,5 ± 14,1	< 0,001	23,2 ± 17,3	35,4 ± 13,9	0,013
Média nos colos femorais	27,3 ± 17,6	67,7 ± 13,9	< 0,001	22,5 ± 16,8	32,9 ± 17,1	0,039

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S (Anemia Falciforme); HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON modificada de seis pontos; DP = Desvio-padrão; * Teste t de student.

A curva ROC para identificação de pacientes com DF de acordo com a FGdix nos diversos locais de aferição está demonstrada na figura 15 e tabela 11:

Figura 15 – Curva ROC demonstrando a detecção dos pacientes com DF dentre os participantes do estudo, através da FGdix nos diversos locais de aferição.

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos.

Tabela 11 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC detecção de pacientes com DF através da FGdix.

Local da FGdix	Área sob a curva	Valor de p	IC 95%
Vértebras lombares	0,931	< 0,001	0,878- 0,984
Sacro	0,895	< 0,001	0,832- 0,958
Ilíacos	0,952	< 0,001	0,908- 0,996
Cabeças femorais	0,983	< 0,001	0,965- 1,0
Trocanteres maiores dos fêmures	0,890	< 0,001	0,823- 0,956
Colos femorais	0,962	< 0,001	0,925- 1,0

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; IC = Intervalo de Confiança.

Com a divisão dos subtipos de DF, a FGdix apresentou maiores valores da área sob a curva na identificação do subtipo HbSS (Figura 16 e tabela 12):

Figura 16 – Curva ROC demonstrando a detecção dos indivíduos subtipo HbSS dentre os pacientes com DF, através da FGdix nos diversos locais de aferição.

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos.

Tabela 12 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC detecção de pacientes subtipo HbSS através da FGdix.

Local da FGdix	Área sob a curva	Valor de p	IC 95%
Vértebras lombares	0,706	0,015	0,553- 0,859
Sacro	0,718	0,010	0,569- 0,867
Íliacos	0,790	0,001	0,660- 0,92
Cabeças femorais	0,684	0,029	0,529- 0,84
Trocanteres maiores dos fêmures	0,558	0,495	0,393- 0,723
Colos femorais	0,684	0,030	0,531- 0,836

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; IC = Intervalo de Confiança.

6.4.3. FGdix x Dados Clínicos

A correlação linear de Pearson para idade e FGdix nas vértebras lombares e sacro apresentou fraca correlação positiva ($R = 0,218$; $p = 0,032$ e $R = 0,288$; $p = 0,004$, respectivamente). Ao realizar teste t de Student entre tabagismo e consumo de bebida alcoólica com a média de FGdix nas vértebras lombares, sacro, íliacos, cabeças femorais, trocanteres maiores dos fêmures e colos femorais entre os pacientes com DF e o grupo controle, não houve significância estatística.

O grupo HbSS apresentou moderada correlação negativa entre transfusão sanguínea prévia e FGdix nas vértebras lombares, íliacos e colos femorais,

respectivamente: $r = -0,401$, $p = 0,042$; $r = -0,402$, $p = 0,042$; $r = -0,547$, $p = 0,004$; enquanto em relação ao uso de hidroxureia foi observada fraca correlação positiva com a FGdix apenas nos colos femorais ($r = 0,39$, $p = 0,045$). Já no grupo HbSC, a transfusão sanguínea não apresentou significância estatística em nenhum dos locais de medida da FGdix; enquanto o uso de hidroxureia apresentou moderada correlação negativa com FGdix nas vértebras lombares, ilíacos e sacro, respectivamente: $r = -0,43$, $p = 0,04$; $r = -0,46$, $p = 0,03$; $r = -0,43$, $p = 0,04$.

A correlação entre os dados clínicos referidos pelos pacientes com DF e as medidas de FGdix nos sítios anatômicos estabelecidos demonstrou que apenas a média de FGdix nas cabeças femorais em relação à presença de síndrome torácica aguda demonstrou fraca correlação negativa ($r = -0,317$, $p = 0,028$), tabela 13.

Tabela 13 – Comparação entre dados clínicos e FGdix nos pacientes com DF.

Dados clínicos	(r/ valor de p)					
	VL	Sacro	Ilíacos	CF	TMF	Colos Femorais
Crises álgicas	-0,064 0,666	-0,092 0,532	-0,100 0,498	-0,023 0,875	-0,067 0,650	-0,018 0,906
Infecções	0,095 0,521	-0,072 0,628	-0,178 0,225	-0,109 0,462	0,025 0,865	0,006 0,970
Osteonecrose	0,088 0,558	-0,062 0,681	-0,019 0,899	0,022 0,885	-0,097 0,516	-0,026 0,864
STA	-0,190 0,197	-0,183 0,214	-0,208 0,156	-0,317 0,028	-0,075 0,614	-0,204 0,164
Úlceras nas pernas	-0,105 0,476	-0,162 0,272	-0,190 0,195	-0,143 0,333	-0,098 0,508	-0,033 0,825
AVE	0,161 0,275	0,047 0,753	0,098 0,507	-0,039 0,791	-0,105 0,478	0,031 0,753
Priapismo	-0,222 0,158	-0,230 0,143	-0,208 0,186	-0,213 0,176	-0,302 0,052	-0,137 0,385

Legenda: r = Coeficiente de correlação de Pearson; FGdix = fração de gordura pela técnica DIXON modificada de seis pontos; AVE= Acidente vascular encefálico; STA= Síndrome torácica aguda; VL = vértebras lombares; CF = cabeças femorais; TMF = trocanteres maiores dos fêmures.

Ao separar os pacientes com DF nos subtipos HbSS e HbSC, a correlação entre STA e as médias de FGdix nas vértebras lombares, cabeças e colos femorais mostraram moderada correlação negativa no grupo HbSS ($r = -0,432$, $p = 0,027$; $r = -0,426$, $p = 0,03$; $r = -0,412$, $p = 0,036$, respectivamente). No grupo HbSC, não foram observadas significâncias estatísticas entre as medidas de FGdix e os aspectos clínicos analisados.

6.4.4. FGdix x Exames Laboratoriais

Os resultados dos exames laboratoriais e a média da FGdix em todos os locais analisados pela correlação linear de Pearson, como está demonstrado na tabela 14.

Tabela 14 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF.

Correlação de Pearson (r/ valor de p) - DF							
ROI	Hb (g/dl)	Ht (%)	VCM (fl)	Retic (%)	Leuco/mm ³	LDH (U/L)	BT (mg/dl)
Vértebras lombares	0,460/0,001	0,446/0,002	-0,350/0,15	-0,142/0,335	-0,091/0,537	-0,507/<0,001	-0,324/0,024
Sacro	0,361/0,012	0,361/0,012	-0,373/0,009	-0,132/0,370	-0,137/0,353	-0,451/0,001	-0,331/0,022
Íliacos	0,503/<0,001	0,542/<0,001	-0,435/0,002	-0,261/0,073	-0,094/0,527	-0,594/<0,001	-0,477/0,001
Cabeças femorais	0,490/<0,001	0,547/<0,001	-0,109/0,459	-0,222/0,129	-0,208/0,157	-0,578/<0,001	-0,388/0,006
Trocanteres maiores dos fêmures	-0,058/0,654	0,011/0,941	-0,145/0,327	-0,048/0,748	-0,073/0,623	-0,332/0,021	-0,275/0,058
Colos femorais	0,213/0,146	0,227/0,121	-0,367/0,010	-0,188/0,202	-0,146/0,323	-0,468/0,001	-0,351/0,015

Legenda: FGdix = fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; DF = Doença falciforme; Hb = hemoglobina; Ht = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; retic = Reticulócitos; Leuco = Leucócitos; LDH = lactato desidrogenase; BT = bilirrubinas totais; Transf. = Transferrina; Ferrit = Ferritina.

Pode-se observar que em todos os locais de medidas da FGdix, a LDH apresentou correlação negativa moderada, atingindo significância estatística. A BT mostrou achados similares, exceto nos trocanteres maiores dos fêmures (local de maior valor de FGdix). Além disso, a Hb e o Ht tiveram moderada correlação positiva com a FGdix nas vértebras lombares, sacro, íliacos e cabeças femorais.

Em relação aos subtipos de DF, nos indivíduos HbSS, a LDH teve uma tendência de moderada correlação negativa com a FGdix, exceto nos trocanteres maiores dos fêmures. A BT só apresentou achado similar na medida da FGdix feita nos íliacos. Enquanto, Hb e Ht tiveram moderada correlação positiva com a FGdix nas vértebras lombares e cabeças femorais. Nos pacientes HbSC, a LDH mostrou correlação negativa moderada com a FGdix nas cabeças femorais, além de moderada correlação negativa entre VCM e FGdix nas vértebras lombares, sacro e íliacos (tabelas 15 e 16).

Tabela 15 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF de acordo com o subtipo HbSS.

Correlação de Pearson (r/ valor de p) - HbSS							
ROI	Hb (g/dl)	Ht (%)	VCM (fl)	Retic (%)	Leuco/ mm ³	LDH (U/L)	BT (mg/ dl)
Vértebras lombares	0,525/0,006	0,517/0,007	-0,026/0,901	0,126/0,540	-0,024/0,906	-0,487/0,012	-0,220/0,281
Sacro	0,235/0,249	0,246/0,226	-0,053/0,797	0,177/0,388	-0,099/0,630	-0,441/0,024	-0,219/0,283
Ilíacos	0,287/0,156	0,329/0,101	-0,110/0,592	0,064/0,755	-0,021/0,920	-0,530/0,005	-0,413/0,036
Cabeças femorais	0,500/0,009	0,526/0,006	0,181/0,377	-0,054/0,794	-0,193/0,345	-0,477/0,014	-0,305/0,129
Trocanteres maiores dos fêmures	-0,091/0,657	-0,028/0,893	-0,125/0,544	0,024/0,906	-0,040/0,846	-0,352/0,078	-0,308/0,126
Colos femorais	0,235/0,249	0,246/0,226	-0,053/0,797	0,177/0,388	-0,099/0,630	-0,441/0,024	-0,219/0,283

Legenda: FGdix = fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S; r = Correlação de Pearson; Hb = hemoglobina; Ht = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; retic = Reticulócitos; Leuco = Leucócitos; LDH = lactato desidrogenase; BT = bilirrubinas totais; Transf. = Transferrina; Ferrit = Ferritina.

Tabela 16 – Correlação linear de Pearson entre dados laboratoriais e FGdix nos pacientes com DF de acordo com o subtipo HbSC.

Correlação de Pearson (r/ valor de p) - HbSC							
ROI	Hb (g/dl)	Ht (%)	VCM (fl)	Retic (%)	Leuco/ mm ³	LDH (U/L)	BT (mg/ dl)
Vértebras lombares	0,150/0,506	0,141/0,532	-0,484/0,023	-0,264/0,234	-0,076/0,738	-0,298/0,178	-0,271/0,222
Sacro	0,150/0,506	0,144/0,524	-0,493/0,020	-0,296/0,181	-0,104/0,645	-0,194/0,388	-0,335/0,127
Ilíacos	0,279/0,208	0,343/0,118	-0,476/0,025	-0,356/0,104	-0,052/0,819	-0,408/0,059	-0,378/0,083
Cabeças femorais	0,279/0,208	0,455/0,033	-0,247/0,269	-0,302/0,173	-0,284/0,412	-0,599/0,003	-0,325/0,140
Trocanteres maiores dos fêmures	-0,251/0,260	-0,127/0,260	-0,093/0,681	-0,090/0,689	-0,087/0,699	-0,274/0,217	-0,113/0,617
Colos femorais	-0,130/0,565	-0,067/0,767	-0,410/0,058	-0,150/0,506	0,020/0,929	-0,194/0,387	-0,057/0,801

Legenda: FGdix = fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; r = Correlação de Pearson; Hb = hemoglobina; Ht = hematócrito; VCM = volume corpuscular médio; retic = Reticulócitos; Leuco = Leucócitos; LDH = lactato desidrogenase; BT = bilirrubinas totais; Transf. = Transferrina; Ferrit = Ferritina.

6.4.5. FGdix x Calculadora on-line

Não foi identificada significância estatística na correlação de Pearson entre os valores da ferramenta “Sickle Cell Disease Severity Calculator” com a FGdix, independentemente do local da medida e do subtipo de DF.

6.4.6. FGdix x Achados Qualitativos de Imagem na RM

A comparação entre os achados qualitativos da RM com os dados de FGdix, foi observada apenas fraca correlação negativa entre vértebras com morfologia em “H” e média de FGdix nas vértebras lombares e ilíacos, com $r = -0,323$, $p = 0,0025$ e $r = -0,319$, $p = 0,027$, respectivamente; bem como, entre medula hematopoiética e média de FGdix nas vértebras lombares e sacro ($r = -0,38$, $p = 0,008$ e $r = -0,363$, $p = 0,011$, respectivamente), sendo moderada nos ilíacos ($r = -0,498$, $p < 0,001$).

Com a separação dos subtipos de DF, no grupo HbSS nenhum dos achados de RM apresentou significância estatística com FGdix nos locais estudados. Já, no grupo HbSC, foi identificada moderada correlação negativa entre vértebras com morfologia em “H” e média de FGdix nas vértebras lombares e nos ilíacos ($r = -0,537$, $p = 0,010$ e $r = -0,567$, $p = 0,006$, respectivamente); bem como entre osteonecrose e média de FGdix nas cabeças femorais e no sacro ($r = -0,58$, $p = 0,005$ e $r = -0,435$, $p = 0,043$, respectivamente) e entre medula hematopoiética e FGdix nas vértebras lombares ($r = -0,555$, $p = 0,007$), ilíacos ($r = -0,583$, $p = 0,004$) e sacro ($r = -0,433$, $p = 0,044$).

A espessura da cortical óssea na diáfise femoral proximal apresentou correlação negativa em todos os locais de medida da FGdix, no entanto, foi considerada moderada apenas nas vértebras lombares, ilíacos, colos femorais e sacro (figura 17).

Figura 17 – Correlação de Pearson entre espessura da cortical óssea e as medidas de FGdix nos pacientes do subtipo HbSC.

A variável presença ou não de complicações ósseas relacionadas a fenômenos vaso-oclusivos (vértebras em “H”, necrose avascular da cabeça femoral, necrose da medula óssea ou infartos ósseos) foi descrita no tópico materiais e métodos. Após avaliação com curva ROC, a espessura média da cortical óssea no fêmur proximal atingiu uma área sob a curva de 0,723 com ponto de corte maior que 7,2 mm ($p < 0,001$; IC: 0,62-0,826) para detectar complicações ósseas nos pacientes do estudo, independentemente do subtipo de DF; e área sob a curva de 0,786 com ponto de corte maior que 8,15 mm de espessura ($p < 0,001$; IC: 0,69-0,86) para detecção de pacientes do subtipo HbSC com complicações ósseas (figura 18).

Figura 18 – Curvas ROC avaliando a espessura da cortical óssea no fêmur proximal para detectar complicações ósseas nos participantes do estudo (A) e nos pacientes do subtipo HbSC (B).

6.4.7. FGdix x Complicações ósseas e hemólise

No total, 21 pacientes apresentaram hemólise (de acordo com a junção dos dados de Hb e LDH, conforme descrito na metodologia), sendo 19 do subtipo HbSS; enquanto 42 tiveram complicações ósseas relacionadas a fenômenos vaso-oclusivos, sendo 22 no subtipo HbSS. Os pacientes com hemólise apresentaram moderada correlação negativa com FGdix nas vértebras lombares, sacro, ilíacos e cabeças femorais e os que cursaram com complicações ósseas mostraram forte correlação negativa com os valores de FGdix nas cabeças femorais e nos ilíacos, bem como moderada nos demais locais aferidos (tabelas 17 e 18).

Tabela 17 – Valores da FGdix nos pacientes com ou sem hemólise.

Local de aferição - FGdix (%)	Média ± DP		Valor de p	r
	Hemólise	Sem hemólise		
Corpos vertebrais lombares	7,6 ± 7,1	19,4 ± 9,3	< 0,001	-0,535
Sacro	10,5 ± 8,0	24,5 ± 12,3	< 0,001	-0,54
Iliacos	9,2 ± 9,7	25,4 ± 13,3	< 0,001	-0,553
Cabeças femorais	32,6 ± 19,7	52,9 ± 17,2	< 0,001	-0,448
Trocanteres maiores dos fêmures	53,2 ± 30,7	61,1 ± 30,7	0,382	-0,145
Colos femorais	19,5 ± 13,2	33,8 ± 18,3	0,004	-0,364

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; DP = Desvio-padrão; r = Coeficiente de correlação de Pearson.

Tabela 18 – Valores da FGdix nos pacientes com ou sem complicações ósseas.

Local de aferição - FGdix (%)	Média ± DP		Valor de p	r
	Complicações ósseas	Sem complicações ósseas		
Média nos corpos vertebrais lombares	13,7 ± 10,2	33,3 ± 12,5	< 0,001	-0,648
Sacro	17,3 ± 12,3	38,8 ± 14,2	< 0,001	-0,626
Média nos ilíacos	16,9 ± 13,1	47,9 ± 16,2	< 0,001	-0,720
Média nas cabeças femorais	43,0 ± 18,6	82,7 ± 18,3	< 0,001	-0,733
Média nos trocanteres maiores dos fêmures	59,0 ± 27,6	87,2 ± 21,9	< 0,001	-0,499
Média nos colos femorais	27,3 ± 15,9	63,1 ± 10,5	< 0,001	-0,693

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; DP = Desvio-padrão; r = Coeficiente de correlação de Pearson.

A curva ROC foi realizada para analisar a acurácia da FGdix para identificar indivíduos com hemólise (ver tabela 19 e figura 19):

Tabela 19 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC para detecção dos pacientes com hemólise através do desempenho das medidas de FGdix nos diversos locais de aferição.

Local de aferição - FGdix	Cutoff (%)	Sens (%)	IC 95%	Especif (%)	IC 95%	Área sob a curva	Valor de p	IC 95%
Vértebras lombares	≤ 7,8	76,2	52,8-91,8	92,6	75,7-99,1	0,82	< 0,001	0,69-0,96
Sacro	≤ 16,9	85,7	63,7-97,0	70,4	49,8-86,2	0,83	< 0,001	0,71-0,95
Iliacos	≤ 10	71,4	47,8-88,7	88,9	70,8-97,6	0,84	< 0,001	0,73-0,96
Cabeças femorais	≤ 32	71,4	47,8-88,7	88,9	79,8-97,6	0,76	0,002	0,61-0,91
Trocanteres maiores dos fêmures	≤ 31	42,9	21,8-66,0	85,2	66,3-95,8	0,60	0,249	0,43-0,76
Colos femorais	≤ 32,1	80,9	58,1-94,6	66,7	46,0-83,5	0,70	0,015	0,55-0,86

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; Sens = Sensibilidade; Especif = Especificidade; IC = Intervalo de Confiança.

Figura 19 – Curva ROC para análise da FGdix em pacientes com DF e presença de hemólise.

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos.

Foi também realizada curva ROC analisando a acurácia da FGdix para identificar indivíduos com complicações ósseas (ver tabela 20 e figura 20):

Tabela 20 – Análise e descrição dos achados das curvas ROC para detecção dos pacientes com complicações ósseas através do desempenho das medidas de FGdix nos diversos locais de aferição.

Local de aferição - FGdix	Cutoff	Sens (%)	IC 95%	Especif (%)	IC 95%	Área sob a curva	Valor de p	IC 95%
Vértex lombares	≤ 22,2	90,5	77,4- 97,3	83,3	90,7- 92,1	0,89	< 0,001	0,81- 0,95
Sacro	≤ 26,0	83,3	68,6- 93,0	87,0	75,1- 94,6	0,88	< 0,001	0,79- 0,93
Ilíacos	≤ 31,6	90,5	77,4- 97,3	90,7	79,7- 96,9	0,92	< 0,001	0,85- 0,97
Cabeças femorais	≤ 69,5	95,2	83,8- 99,4	90,7	79,7- 96,9	0,94	< 0,001	0,88- 0,98
Trocânteres maiores dos fêmures	≤ 88,3%	78,6	72,9- 93,4	85,2	72,9- 93,4	0,84	< 0,001	0,75- 0,91
Colos femorais	≤ 42,9%	90,5	82,1- 97,9	92,6	82,1- 97,9	0,91	< 0,001	0,84- 0,96

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; Sens = Sensibilidade; Especif = Especificidade; IC = Intervalo de Confiança.

Figura 20 – Curva ROC para análise da FGdix em indivíduos com complicação óssea da DF.

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos.

A regressão logística binária foi realizada para avaliar se a FGdix seria previsora de complicações ósseas, bem como de hemólise. Com isso, tanto para as complicações ósseas, quanto para hemólise, em todos os locais de aferição, a FGdix conseguiu prever estas situações com significância estatística (Tabelas 21 e 22).

Tabela 21 – Odds ratio das FGdix em relação à hemólise aferida indiretamente pela dosagem de Hb ($\leq 9,5$) entre os subtipos HbSS e HbSC.

FGdix	Cutoff	OR	Valor de p	IC 95%
Corpos vertebrais lombares	$\leq 7,8$	40,0	< 0,001	5,3- 122,4
Sacro	$\leq 16,9$	14,3	0,0004	2,8- 42,7
Íliacos	≤ 10	20,0	0,0001	2,8- 42,7
Cabeças femorais	≤ 32	20,0	0,0001	4,3- 92,2
Trocanteres maiores dos fêmures	≤ 31	4,3	0,036	1,1- 16,9
Colos femorais	$\leq 32,1$	8,5	0,0019	1,3- 15,9

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; OR = Odds Ratio; IC = Intervalo de Confiança.

Tabela 22 – Odds ratio das FGdix em relação às complicações ósseas entre pacientes com DF e grupo controles.

FGdix	Cutoff	OR	Valor de p	IC 95%
Corpos vertebrais lombares	$\leq 22,2$	47,5	< 0,001	13,5- 166,5
Sacro	$\leq 26,0$	33,6	< 0,001	10,8- 104,5
Íliacos	$\leq 31,6$	93,1	< 0,001	23,4- 370,6
Cabeças femorais	$\leq 69,5$	196,0	< 0,001	36,1- 1064,6
Trocanteres maiores dos fêmures	$\leq 88,3\%$	21,1	< 0,001	7,4- 60,4
Colos femorais	$\leq 42,9\%$	118,7	< 0,001	27,9- 505,6

Legenda: FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; OR = Odds Ratio; IC = Intervalo de Confiança.

Além disso, foi identificada significância estatística entre a variável hemólise e o subtipo de DF ($p < 0,001$), sendo que 27,1% (IC 95% = 5,0 - 147,4) dos pacientes subtipo HbSS possuem chance de cursar com valores de Hb $\leq 9,5$ mg/dl e LDH > 300 U/L (variável hemólise). No tocante às complicações ósseas, não foi identificada significância estatística para os subtipos de DF.

6.5. Análises intra e interobservadores

As análises intra e interobservadores foram realizadas com diferença de seis meses entre as medidas, através dos coeficientes de correlação intraclassa (ICC) (Tabelas 23 e 24).

Tabela 23 – Coeficientes de correlação intraclasse nas médias de FG nos pacientes com DF e seus subtipos HbSS e HbSC para análise intraobservador.

Média de FGdix	DF			HbSS			HbSC		
	ICC	IC 95%	Valor de p	ICC	IC 95%	Valor de p	ICC	IC 95%	Valor de p
Corpos vertebrais lombares	0,994	0,991-0,996	<0,001	0,993	0,984-0,997	<0,001	0,982	0,957-0,993	<0,001
Sacro	0,991	0,987-0,994	<0,001	0,975	0,944-0,989	<0,001	0,984	0,961-0,993	<0,001
Íliacos	0,984	0,977-0,990	<0,001	0,948	0,883-0,977	<0,001	0,984	0,960-0,993	<0,001
Cabeças femorais	0,963	0,945-0,976	<0,001	0,941	0,868-0,973	<0,001	0,902	0,764-0,959	<0,001
Trocanteres maiores dos fêmures	0,971	0,956-0,981	<0,001	0,987	0,969-0,994	<0,001	0,919	0,799-0,967	<0,001
Colos femorais	0,982	0,973-0,988	<0,001	0,994	0,985-0,997	<0,001	0,980	0,950-0,992	<0,001

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S; HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; FGdix = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; ICC = Coeficiente de correlação intraclasse; IC = intervalo de confiança.

Tabela 24 – Coeficientes de correlação intraclasse nas médias de FGdix nos participantes (DF x controle) e nos subtipos HbSS e HbSC para análise interobservadores.

Média de FG	DF			HbSS			HbSC		
	ICC	IC 95%	Valor de p	ICC	IC 95%	Valor de p	ICC	IC 95%	Valor de p
Corpos vertebrais lombares	0,992	0,984-0,996	<0,001	0,994	0,987-0,997	<0,001	0,973	0,929-0,989	<0,001
Sacro	0,973	0,952-0,985	<0,001	0,968	0,929-0,986	<0,001	0,987	0,968-0,995	<0,001
Íliacos	0,975	0,962-0,983	<0,001	0,862	0,695-0,938	0,004	0,984	0,958-0,993	<0,001
Cabeças femorais	0,962	0,943-0,975	<0,001	0,958	0,905-0,981	<0,001	0,841	0,531-0,939	<0,001
Trocanteres maiores dos fêmures	0,939	0,907-0,960	<0,001	0,948	0,867-0,978	<0,001	0,841	0,605-0,936	<0,001
Colos femorais	0,963	0,939-0,976	<0,001	0,976	0,945-0,990	<0,001	0,816	0,551-0,925	<0,001

Legenda: DF = Doença Falciforme; HbSS = Genótipo homozigoto para hemoglobina S; HbSC = Genótipo heterozigoto composto para hemoglobinas S e C; FG = Fração de gordura pela técnica DIXON de seis pontos; ICC = Coeficiente de correlação intraclasse; IC = intervalo de confiança 95%.

Dessa forma, em todos os locais analisados, independentemente da categoria do paciente, foram identificados altos valores para ICC, demonstrando excelente correlação na análise intra e interobservadores.

7. Discussão

7. Discussão

Este é o primeiro estudo analisando a medida da FG na medula óssea através da técnica DIXON de seis pontos em pacientes com DF, correlacionando com alguns marcadores clínicos e laboratoriais de gravidade da doença. A FGdix nos pacientes com DF teve valores inferiores àqueles do grupo controle, sendo ainda menor no subtipo HbSS, relacionando-se com a gravidade da hemólise e aumento da hematopoiese. A variável hemólise envolveu predominantemente pacientes HbSS e demonstrou que ilíacos, vértebras lombares e cabeças femorais foram os melhores locais para aferição da FGdix; enquanto as complicações ósseas secundárias a eventos vaso-oclusivos ocorreram de forma similar em ambos os subtipos de DF, com destaque para mensuração da FGdix nas cabeças femorais e nos ilíacos, tais achados de acordo com resultado das curvas ROC e das correlações de Pearson; bem como pelos valores de odds ratio. Assim, a FGdix se mostrou previsora de complicações ósseas e de hemólise nos pacientes com DF.

A medula óssea praticamente não possui componente adiposo ao nascimento, com seu surgimento ocorrendo com o crescimento do indivíduo. (Veldhuis-Vlug e Rosen, 2018). Estudos prévios mencionam que a grande expansão de gordura na medula óssea esteja relacionada ao aumento da idade, ser do sexo feminino e ter osteoporose; sendo a obesidade uma característica ainda controversa neste aspecto (Youn I *et al.*, 2012; Patel *et al.*, 2018). Dessa forma, modificações no microambiente da medula óssea relacionadas ao envelhecimento, ao sexo ou ao peso corporal podem afetar a hematopoiese, demonstrando a importância do pareamento dos participantes no presente estudo para estas variáveis.

Outro aspecto importante a ser destacado, relacionado com a constituição da medula óssea, foi a baixa frequência de pacientes tabagistas na população analisada. A maioria dos participantes neste estudo tinha como hábitos de vida ser de religião que condenava o consumo de cigarro. Assim, dos 96 indivíduos envolvidos neste trabalho, apenas dois (um em cada grupo – DF e controle) eram tabagistas intermediários (consumo inferior a 20 cigarros por dia) (Poulton *et al.*, 1993). Este dado foi interessante para confirmar a ausência de interferência do tabagismo na composição da medula óssea analisada. Já que fumantes pesados são considerados

fator de risco para reconversão da medula óssea (Poulton *et al.*, 1993; Van Eeden e Hogg, 2000; Małkiewicz e Dziedzic, 2012).

A hidroxiureia também pode interferir no teor de gordura da medula óssea, pois está envolvida no controle da hemólise, com possível relação com sua intensidade (Olmes *et al.*, 2009; Agrawal *et al.*, 2014; Davis *et al.*, 2017). A hidroxiureia é recomendada para pacientes HbSS e para os casos mais graves do subtipo HbSC com uma dosagem inicial de 15-20 mg/kg/dia (Kapoor *et al.*, 2018; John *et al.*, 2020). Neste estudo, os pacientes em uso de hidroxiureia do subtipo HbSS com hemólise tiveram dosagem média de 14 mg/kg/dia e fraca correlação positiva com FGdix nos colos femorais, podendo indicar boa resposta ao tratamento. Entretanto, pacientes subtipo HbSC com hemólise em uso de hidroxiureia (dose média de 10 mg/kg/dia) apresentaram FGdix menor, podendo indicar a necessidade de ajuste no tratamento devido à hemólise não controlada.

O método padrão-ouro para determinar hemólise com hemácias marcadas por radiofármacos através de estudos da medicina nuclear, devido ao custo e à logística desfavorável, não é mais utilizado (Kalpatthi e Novelli, 2018). Entre os biomarcadores de hemólise disponíveis, a haptoglobina e a Hb plasmática livre têm pouca documentação clínica e precisam de amostra de sangue muito fresco (Rees e Gibson, 2012; Damanhour *et al.*, 2015). Os reticulócitos são úteis, mas não está claro se fornecem informações adicionais sobre a Hb, além de existir certa imprecisão nas medidas feitas por microscopia, bem como nos instrumentos automatizados (Maier-Redelsperger *et al.*, 2010; Damanhour *et al.*, 2015). A bilirrubina também pode ser aplicada, embora predominantemente na hemólise extravascular (Barcellini e Fattizzo, 2015). Nós usamos LDH e Hb para analisar a hemólise porque LDH tem sido considerada um importante marcador de hemólise (Kato *et al.*, 2006), enquanto a Hb é o recurso mais útil na DF (Damanhour *et al.*, 2015); além disso, existe um feedback entre a produção de hemácias na medula óssea e o nível de Hb, bem como os valores de Hb podem estar associados a algumas manifestações clínicas de gravidade da DF (Nouraie *et al.*, 2013; Bouchnita *et al.*, 2016).

Alguns autores propõem a divisão dos pacientes com DF em dois subfenótipos: viscosidade-vaso-oclusão e hemólise-disfunção endotelial (Kato e Gladwin, 2009; Dubert *et al.*, 2017). No segundo, há um alto índice de hemólise, com níveis mais baixos de Hb total e níveis mais altos de LDH (Kato e Gladwin, 2009). No subtipo HbSS, a FGdix apresentou moderada correlação positiva com Hb nas vértebras

lombares e cabeças femorais, bem como moderada correlação negativa com LDH, exceto nos trocanteres maiores dos fêmures. Tais achados fazem sentido no contexto de predominância hemolítica nesses indivíduos, culminando no incentivo à hematopoiese (Ejindu *et al.*, 2007; Da Guarda *et al.*, 2020). A FGdix apresentou valores menores na presença de hemólise, provavelmente relacionada à hiperplasia da medula óssea (aumento da celularidade), com excelentes resultados pelas curvas ROC e alta correlação com hemólise, principalmente nas vértebras lombares, íliacos e cabeças femorais.

A avaliação qualitativa pela RM demonstrou grande número de pacientes com DF apresentando medula hematopoeticamente ativa, predominando no subtipo HbSS. No entanto, essa análise é subjetiva, realizada através de comparação da intensidade de sinal da medula óssea com tecido subcutâneo e musculatura nas sequências T1 e T2 com supressão de gordura (Alyas *et al.*, 2007; Nouh e Eid, 2015; Caranci *et al.*, 2018). Com isso, situações limítrofes, onde a reconversão/ persistência da medula vermelha ocorre apenas parcialmente, pode gerar dúvidas, justificando a necessidade de dados quantitativos. Esta análise foi realizada neste trabalho através da quantificação de gordura pela técnica DIXON de seis pontos que mostrou baixos valores de FGdix nos pacientes com DF em comparação com o grupo controle, sendo ainda menores no subtipo HbSS, corroborando a avaliação qualitativa. Isto ocorre pelo aumento da celularidade medular secundária à hematopoiese, podendo ser útil como critério não invasivo para analisar gravidade da doença (Elias *et al.*, 2013; Liao *et al.*, 2013).

A DF proporciona alterações no sistema musculoesquelético que vão além do incentivo à hiperplasia medular. O envolvimento ósseo pela restrição do suprimento sanguíneo secundário às crises vaso-oclusivas da DF pode resultar principalmente em infartos da medula óssea, acometendo as diáfises dos ossos longos e osteonecrose nas regiões epifisárias, especialmente na cabeça femoral (Vanderhave *et al.*, 2018). Dentre estas manifestações, destaca-se a osteonecrose por sua frequência, com taxas de prevalência entre 37-50% em adultos (Bahebeck *et al.*, 2004; Ejindu *et al.*, 2007). Cerca de 75% dos pacientes de nossa amostra apresentaram osteonecrose da cabeça femoral, valor bem superior ao da literatura para faixa etária similar, podendo ser justificado por nossa população ter sido proveniente de um ambulatório de ortopedia para pacientes com DF.

É importante destacar também que quatro de nossos pacientes apresentaram necrose da medula óssea, e até então, esta complicação foi pouco relatada nos indivíduos com DF. A necrose da medula óssea caracteriza-se pelo envolvimento do estroma medular, sendo em 90% das vezes relacionada a doença maligna (Alsafwani *et al.*, 2017). Ela cursa com alteração de sinal da medula óssea similar aos infartos e à necrose avascular da cabeça femoral, distinguindo-se pelo fato de acometer anatomicamente uma maior extensão da medula óssea, envolvendo coluna vertebral e bacia, sem progressão para colapso ósseo (Tang *et al.*, 2007). Alguns relatos mencionam maior predisposição da necrose da medula óssea em pacientes do subtipo HbSC por terem valores mais elevados de hematócrito e maior viscosidade sanguínea (Tsitsikas *et al.*, 2014). Contudo, os quatro pacientes do presente estudo não tinham aumento do valor do hematócrito e eram subtipo HbSS, contrariando o baixo risco deste grupo descrito na literatura.

Um outro achado, pouco mencionado ultimamente, mas identificado nos pacientes com DF deste estudo foi o espessamento da cortical óssea nas porções proximais das diáfises femorais em comparação com o grupo controle. Este dado contrapõe-se ao afinamento da cortical óssea secundária à expansão medular, acometendo ossos chatos e longos e bastante difundido na literatura (Ejindu *et al.*, 2007; Ganguly *et al.*, 2011; Kosaraju *et al.*, 2017). No entanto, estudos mais antigos mencionam espessamento da cortical em ossos longos de pacientes com DF, ocorrendo principalmente em adultos (Coodley e Kert, 1949; Almklov *et al.*, 1950).

Almklov e colaboradores identificaram dois padrões radiográficos que podem predominar nos ossos longos dos pacientes com DF: hiperplasia medular com afinamento cortical ou esclerose óssea com espessamento cortical. A expansão da medula óssea e o afinamento cortical, associam-se à hiperplasia medular e hemólise, ocorrendo geralmente em indivíduos mais jovens. Já os fenômenos vaso-oclusivos promovendo necrose, hemorragia, fibrose, calcificações anormais e neoformação óssea (através de trabéculas lineares ou de camadas concêntricas adjacentes ao córtex) espessam a cortical e reduzem a cavidade medular (Almklov *et al.*, 1950). No presente estudo, apesar de não haver relação com idade, foi observada associação entre o espessamento cortical e maior ocorrência de complicações ósseas por eventos vaso-oclusivos.

Em trabalhos mais recentes, alguns autores seguiram esta linha de pensamento, mas em relação aos dados laboratoriais e às apresentações clínicas dos pacientes

com DF, separando-os em dois subfenótipos: viscosidade-vaso-oclusão e hemólise-disfunção endotelial (Kato e Gladwin, 2009; Dubert *et al.*, 2017). No primeiro, ocorre menor taxa de hemólise, sendo caracterizado por níveis mais elevados de Hb total, bem como menores valores de LDH e BT, cursando com mais crises vaso-oclusivas (osteonecrose, infartos ósseos, por exemplo); enquanto no segundo, existe alta taxa de hemólise, com níveis mais baixos de Hb total e elevados de LDH e BT, apresentando mais úlceras nas pernas, priapismo, hipertensão pulmonar (Kato e Gladwin, 2009). Com isso, neste estudo, direcionamos o desfecho de gravidade da doença para a análise das complicações ósseas relacionadas aos fenômenos vaso-oclusivos (subfenótipo viscosidade-vaso-oclusão) e à dosagem de Hb total/ LDH (subfenótipo hemólise-disfunção endotelial).

Neste estudo, o risco de ser subtipo HbSS era 27,1% para quem tinha hemólise. Este dado corrobora os achados descritos por da Guarda *et al.*, que relaciona maior grau de hemólise ao subtipo HbSS (Da Guarda *et al.*, 2020). No tocante às complicações ósseas, não foi identificado o subtipo de DF predominante. No entanto, a avaliação quantitativa pela FGdix demonstrou grande diferença entre os grupos analisados, sendo menor nos pacientes com DF e naqueles com maior taxa de hemólise e com mais complicações ósseas, principalmente no subtipo HbSS. Uma explicação advém do aumento da celularidade medular pela reconversão secundária à hematopoiese (Elias *et al.*, 2013; Liao *et al.*, 2013). Outra justificativa decorre dos subfenótipos viscosidade-vaso-oclusão e hemólise-disfunção endotelial, ambos relacionados a valores baixos de FGdix, os primeiros por desenvolverem fibrose e calcificações anormais nas complicações ósseas vaso-oclusivas; os segundos por apresentarem hemólise com hiperplasia medular e aumento de sua celularidade (Kato e Gladwin, 2009; Dubert *et al.*, 2017). Dessa forma, a quantificação de gordura na medular óssea vem ganhando importância pela possibilidade de servir como biomarcador de gravidade em algumas enfermidades, como na doença de Gaucher que mostrou estreita correlação com a ocorrência clínica de comprometimento esquelético (Maas *et al.*, 2002), e no mieloma múltiplo, onde permitiu diferenciar indivíduos sintomáticos dos assintomáticos (Takasu *et al.*, 2015).

A gravidade na DF é algo desafiador pela dificuldade para unir em um único biomarcador dados clínicos, laboratoriais, genéticos e ambientais (Belini Junior *et al.*, 2015). Com isso, alguns escores de gravidade têm sido propostos, dentre eles a calculadora “Sickle Cell Disease Severity Calculator” que avalia risco de morte na DF

(Sebastiani *et al.*, 2007). Os valores obtidos com esta calculadora, no nosso estudo, não demonstraram correlação com as medidas de FGdix; por outro lado, STA demonstrou correlação negativa fraca com FGdix nas cabeças femorais nos pacientes com DF e moderada correlação negativa nas vértebras lombares, cabeças e colos femorais no grupo HbSS. A STA é um achado clínico relacionado a aumento da morbimortalidade na DF (Jain *et al.*, 2017). Assim, a FGdix pode ser usada isoladamente ou associada à calculadora online para melhor detecção da morbidade e mortalidade na DF.

Nesse contexto, por não existir um parâmetro consolidado para avaliar gravidade da DF e pela possibilidade de separar os pacientes de acordo com os dois principais desfechos clínicos (hemólise e complicações ósseas relacionadas aos fenômenos vaso-oclusivos), torna-se fundamental correlacionar estes dados com a FGdix. Assim, a medida de FGdix mostrou ótimos resultados, principalmente em correlação com hemólise e com as complicações ósseas. As medidas de FGdix realizada nos colos e cabeças femorais, bem como íliacos foram as melhores para as complicações ósseas; enquanto, a média das vértebras lombares, íliacos e cabeças femorais para hemólise, de acordo com os valores da correlação de Pearson e odds ratio. Dessa forma, comparando os dois desfechos simultaneamente, as cabeças femorais e os íliacos mostraram ser ótimos locais para medida da FGdix.

Este trabalho apresentou algumas limitações: 1) a necrose da medula óssea não foi confirmada por aspiração ou biópsia ósseas, pois os pacientes afetados apresentavam contraindicação ao procedimento por outras comorbidades e por apresentarem um padrão típico do achado pela RM, com amplo envolvimento da medula óssea nas vértebras lombares e nos ossos pélvicos; 2) ausência de verificação histológica da medula óssea para confirmação dos achados de hematopoiese, visto que esse procedimento é desnecessário e eticamente inadequado em indivíduos saudáveis e em pacientes com DF; 3) falta de quantificação de ferro na medula óssea, mas a sequência IDEAL-IQ é baseada na correção água-gordura pelo T2*, com menor impacto da deposição de ferro na quantificação da gordura; 4) foram incluídos pacientes com osteonecrose avançada (colapso ósseo e alterações degenerativas), ou seja, com grande deformidade da cabeça femoral, podendo dificultar padronização do melhor local para realizar as medidas de FGdix, apesar de achados semelhantes terem sido identificados nos outros sítios anatômicos estudados; 5) apenas o fêmur proximal foi analisado, isto não impediu a confirmação

do espessamento cortical, mas seria interessante ver este osso na íntegra, bem como outros ossos longos na análise desta alteração. Dessa forma, sugerimos novos estudos com maior amostra, obtendo-se quantificação de ferro na medula óssea e com pacientes apresentando menor deformidade das cabeças femorais, bem como incluindo toda a extensão do fêmur, inclusive com imagens no plano axial para aprofundar esses resultados.

8. Conclusão

8. Conclusão

Houve alta prevalência de complicações ósseas nos pacientes analisados, destacando-se alguns achados de imagem pouco relatados na literatura, como aspecto por imagem típico de necrose da medula óssea e espessamento da cortical óssea do fêmur proximal.

A FGdix representa um recurso reprodutível e confiável, apresentando valores inferiores nos pacientes com DF em relação aos do grupo controle, sendo ainda menor no subtipo HbSS, nos pacientes com maior grau de hemólise e naqueles com complicações ósseas, demonstrando ser um parâmetro com potencial utilidade no acompanhamento clínico e na avaliação da gravidade da DF.

9. Referências Bibliográficas

9. Referências Bibliográficas

1. AGHA, M.; EID, A. F.; SALLAM, M. Sick cell anemia: Imaging from head to toe. **The Egyptian Journal of Radiology and Nuclear Medicine**, v. 44, n. 3, p. 547-561, 2013/09/01/ 2013. ISSN 0378-603X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378603X13000788>>.
2. AGRAWAL, R. K. et al. Hydroxyurea in sickle cell disease: drug review. **Indian journal of hematology & blood transfusion : an official journal of Indian Society of Hematology and Blood Transfusion**, v. 30, n. 2, p. 91-96, 2014. ISSN 0971-4502/0974-0449. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24839362>>
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4022916/>>.
3. AHMED, A. E. et al. The prevalence of abnormal leukocyte count, and its predisposing factors, in patients with sickle cell disease in Saudi Arabia. **Journal of blood medicine**, v. 8, p. 185-191, 2017. ISSN 1179-2736. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29123434>>
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5661844/>>.
4. ALMEIDA, A.; ROBERTS, I. Bone involvement in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 129, n. 4, p. 482-490, 2005. ISSN 0007-1048. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-2141.2005.05476.x>>.
5. ALMKLOV, J. R.; HANSEN, A. E.; SCHNEIDER, M. Long bone involvement in sickle cell anemia. **Pediatrics**, v. 5, n. 2, p. 204-209, 1950. Disponível em: <<https://pediatrics.aappublications.org/content/pediatrics/5/2/204.full.pdf>>.
6. ALSAFWANI, S. A.; AL-SAEED, A.; BUKHAMSIN, R. Extensive Bone Marrow Necrosis: Initial Presentation in Sickle Cell Anemia-A Case Report and Review of the Literature. **Case Rep Hematol**, v. 2017, p. 7185604, 2017. ISSN 2090-6560 (Print) 2090-6579 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28695026>>.
7. ALYAS, F.; SAIFUDDIN, A.; CONNELL, D. MR imaging evaluation of the bone marrow and marrow infiltrative disorders of the lumbar spine. **Magn Reson Imaging Clin N Am**, v. 15, n. 2, p. 199-219, vi, May 2007. ISSN 1064-9689 (Print) 1064-9689.
8. ANTWI-BAFFOUR, S. et al. Comorbidity of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Sickle Cell Disease Exert Significant Effect on RBC Indices. **Anemia**, v. 2019, p. 3179173, 2019. ISSN 2090-1267 (Print) 2090-1267 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31016042>>.
9. AOKI, T. et al. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL) of the wrist and finger at 3T: comparison with chemical shift selective fat suppression images. **J Magn Reson Imaging**,

- v. 37, n. 3, p. 733-8, Mar 2013. ISSN 1522-2586 (Electronic) 1053-1807 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22911970>>.
10. ARDUINI, G. A.; RODRIGUES, L. P.; TROVO DE MARQUI, A. B. Mortality by sickle cell disease in Brazil. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 39, n. 1, p. 52-56, Jan - Mar 2017. ISSN 1516-8484 (Print) 1516-8484 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28270347>>.
 11. AZAR, S.; WONG, T. E. Sickle Cell Disease: A Brief Update. **Med Clin North Am**, v. 101, n. 2, p. 375-393, Mar 2017. ISSN 1557-9859 (Electronic) 0025-7125 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28189177>>.
 12. BAHEBECK, J. et al. Relative rates and features of musculoskeletal complications in adult sicklers. **Acta Orthop Belg**, v. 70, n. 2, p. 107-11, Apr 2004. ISSN 0001-6462 (Print) 0001-6462 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15165010>>.
 13. BARCELLINI, W.; FATTIZZO, B. Clinical Applications of Hemolytic Markers in the Differential Diagnosis and Management of Hemolytic Anemia. **Disease markers**, v. 2015, p. 635670-635670, 2015. ISSN 1875-86300278-0240. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26819490>> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4706896/>>.
 14. BELINI JUNIOR, E. et al. Severity of Brazilian sickle cell disease patients: severity scores and feasibility of the Bayesian network model use. **Blood Cells Mol Dis**, v. 54, n. 4, p. 321-7, Apr 2015. ISSN 1096-0961 (Electronic) 1079-9796 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25842370>>.
 15. BERGLUND, J. **Separation of Water and Fat Signal in Magnetic Resonance Imaging**. 2011. 85 (Degree of Doctor of Philosophy (Faculty of Medicine)). Department of Radiology, Oncology and Radiation Science, Uppsala University, Uppsala, Suécia.
 16. BERGLUND, J. et al. Two-point dixon method with flexible echo times. **Magn Reson Med**, v. 65, n. 4, p. 994-1004, Apr 2011. ISSN 1522-2594 (Electronic) 0740-3194 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413063>>.
 17. BOUCHNITA, A. et al. Multi-scale Modelling of Erythropoiesis and Hemoglobin Production. **J Inorg Organomet Polym**, v. 26, n. 6, p. 1362-1379, 2016.
 18. BRANDAO, S. et al. Comparing T1-weighted and T2-weighted three-point Dixon technique with conventional T1-weighted fat-saturation and short-tau inversion recovery (STIR) techniques for the study of the lumbar spine in a short-bore MRI machine. **Clin Radiol**, v. 68, n. 11, p. e617-23, Nov 2013. ISSN 1365-229X (Electronic) 0009-9260 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23932678>>.

19. BREDELLA, M. A. et al. Three-point Dixon chemical-shift imaging for evaluating articular cartilage defects in the knee joint on a low-field-strength open magnet. **AJR Am J Roentgenol**, v. 177, n. 6, p. 1371-5, Dec 2001. ISSN 0361-803X (Print) 0361-803X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11717086>>.
20. BURAKIEWICZ, J. et al. Quantifying fat replacement of muscle by quantitative MRI in muscular dystrophy. **J Neurol**, v. 264, n. 10, p. 2053-2067, Oct 2017. ISSN 1432-1459 (Electronic) 0340-5354 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28669118>>.
21. CABRAL, T. C. S. et al. Bone marrow necrosis: literature review. **J Bras Patol Med Lab**, v. 52, n. 3, p. 182-188, 2016.
22. CARANCI, F. et al. Magnetic Resonance Imaging correlates of benign and malignant alterations of the spinal bone marrow. **Acta bio-medica : Atenei Parmensis**, v. 89, n. 1-S, p. 18-33, 2018. ISSN 2531-67450392-4203. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29350635>>
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6179071/>>.
23. CARDEN, M. A.; FASANO, R. M.; MEIER, E. R. Not all red cells sickle the same: Contributions of the reticulocyte to disease pathology in sickle cell anemia. **Blood Reviews**, v. 40, p. 100637, 2020/03/01/ 2020. ISSN 0268-960X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268960X19301511>>.
24. CHAVHAN, G. B. et al. Principles, techniques, and applications of T2*-based MR imaging and its special applications. **Radiographics**, v. 29, n. 5, p. 1433-49, Sep-Oct 2009. ISSN 1527-1323 (Electronic) 0271-5333 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19755604>>.
25. CHOI, H. R.; STEINBERG, M. E.; E, Y. C. Osteonecrosis of the femoral head: diagnosis and classification systems. **Curr Rev Musculoskelet Med**, v. 8, n. 3, p. 210-20, Sep 2015. ISSN 1935-973X (Print) 1935-9748 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26088795>>.
26. CHOU, S. T. Transfusion therapy for sickle cell disease: a balancing act. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, v. 2013, p. 439-46, 2013. ISSN 1520-4383 (Electronic) 1520-4383 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24319217>>.
27. CICCETTI, D. Guidelines, Criteria, and Rules of Thumb for Evaluating Normed and Standardized Assessment Instrument in Psychology. **Psychological Assessment**, v. 6, p. 284-290, 12/01 1994.
28. COELHO, A. et al. Sickle cell disease severity scoring: a yet unsolved problem. **Eur J Haematol**, v. 89, n. 6, p. 501-2, Dec 2012. ISSN 1600-0609 (Electronic) 0902-4441 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22938536>>.

29. COODLEY, E. L.; KERT, M. J. Sick cell disease simulating advanced rheumatoid arthritis; report of a case. **Calif Med**, v. 70, n. 6, p. 459-63, Jun 1949. ISSN 0008-1264 (Print) 0008-1264 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18131681>>.
30. DA GUARDA, C. C. et al. Sick cell disease: A distinction of two most frequent genotypes (HbSS and HbSC). **PLoS One**, v. 15, n. 1, p. e0228399, 2020. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31995624>>.
31. DAMANHOURI, G. A. et al. Clinical biomarkers in sickle cell disease. **Saudi J Biol Sci**, v. 22, n. 1, p. 24-31, Jan 2015. ISSN 1319-562X (Print) 2213-7106 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25561879>>.
32. DAVIS, B. A. et al. Guidelines on red cell transfusion in sickle cell disease. Part I: principles and laboratory aspects. **British Journal of Haematology**, v. 176, n. 2, p. 179-191, 2017. ISSN 0007-1048. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bjh.14346>>.
33. DE FRANCESCHI, L. Pathophysiology of sickle cell disease and new drugs for the treatment. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 1, n. 1, p. e2009024-e2009024, 2009. ISSN 2035-3006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21415994>>
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3033152/>>.
34. DEL GRANDE, F. et al. Fat-suppression techniques for 3-T MR imaging of the musculoskeletal system. **Radiographics**, v. 34, n. 1, p. 217-33, Jan-Feb 2014. ISSN 1527-1323 (Electronic) 0271-5333 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24428292>>.
35. DIXON, W. T. Simple proton spectroscopic imaging. **Radiology**, v. 153, n. 1, p. 189-94, Oct 1984. ISSN 0033-8419 (Print) 0033-8419 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6089263>>.
36. DUBERT, M. et al. Degree of anemia, indirect markers of hemolysis, and vascular complications of sickle cell disease in Africa. **Blood**, v. 130, n. 20, p. 2215-2223, 2017. ISSN 0006-4971. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2016-12-755777>>. Acesso em: 6/17/2020.
37. EJINDU, V. C. et al. Musculoskeletal manifestations of sickle cell disease. **Radiographics**, v. 27, n. 4, p. 1005-21, Jul-Aug 2007. ISSN 1527-1323 (Electronic) 0271-5333 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17620464>>.
38. ELIAS, E. J. et al. Quantitative MRI analysis of craniofacial bone marrow in patients with sickle cell disease. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 34, n. 3, p. 622-7, Mar 2013. ISSN 1936-959X (Electronic) 0195-6108 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22878006>>.

39. ESKREIS-WINKLER, S. et al. IDEAL-IQ in an oncologic population: meeting the challenge of concomitant liver fat and liver iron. **Cancer Imaging**, v. 18, n. 1, p. 51, Dec 12 2018. ISSN 1470-7330 (Electronic) 1470-7330 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30541635>>.
40. FERNANDES, T. A. et al. Socioeconomic and demographic characteristics of sickle cell disease patients from a low-income region of northeastern Brazil. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 37, n. 3, p. 172-7, May-Jun 2015. ISSN 1516-8484 (Print) 1516-8484 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26041419>>.
41. FEUCHTBAUM, L. et al. Birth prevalence of disorders detectable through newborn screening by race/ethnicity. **Genet Med**, v. 14, n. 11, p. 937-45, Nov 2012. ISSN 1530-0366 (Electronic) 1098-3600 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22766612>>.
42. GANGULY, A.; BOSWELL, W.; ANIQ, H. Musculoskeletal Manifestations of Sickle Cell Anaemia: A Pictorial Review. **Anemia**, v. 2011, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1155/2011/794283>>.
43. GARDNER, K. et al. Survival in adults with sickle cell disease in a high-income setting. **Blood**, v. 128, n. 10, p. 1436-8, Sep 8 2016. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27439910>>.
44. GEE, C. S. et al. Validation of bone marrow fat quantification in the presence of trabecular bone using MRI. **J Magn Reson Imaging**, v. 42, n. 2, p. 539-44, Aug 2015. ISSN 1522-2586 (Electronic) 1053-1807 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25425074>>.
45. GELL, D. A. Structure and function of haemoglobins. **Blood Cells Mol Dis**, v. 70, p. 13-42, May 2018. ISSN 1096-0961 (Electronic) 1079-9796 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29126700>>.
46. GERDES, C. M.; KIJOWSKI, R.; REEDER, S. B. IDEAL imaging of the musculoskeletal system: robust water fat separation for uniform fat suppression, marrow evaluation, and cartilage imaging. **AJR Am J Roentgenol**, v. 189, n. 5, p. W284-91, Nov 2007. ISSN 1546-3141 (Electronic) 0361-803X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17954627>>.
47. GHATE, M. S.; KOTKAR, R. R.; KADAM, G. H. **Role of Routine and limited MRI imaging in diagnosis and screening of femoral head AVN**. ECR 2018 2018.
48. GRIMM, A. et al. Evaluation of 2-point, 3-point, and 6-point Dixon magnetic resonance imaging with flexible echo timing for muscle fat quantification. **Eur J Radiol**, v. 103, p. 57-64, Jun 2018. ISSN 1872-7727 (Electronic) 0720-048X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29803386>>.

49. GROSSE, S. D. et al. Sick cell disease in Africa: a neglected cause of early childhood mortality. **Am J Prev Med**, v. 41, n. 6 Suppl 4, p. S398-405, Dec 2011. ISSN 1873-2607 (Electronic) 0749-3797 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22099364>>.
50. GUERINI, H. et al. Fat Suppression with Dixon Techniques in Musculoskeletal Magnetic Resonance Imaging: A Pictorial Review. **Semin Musculoskelet Radiol**, v. 19, n. 4, p. 335-47, Sep 2015. ISSN 1098-898X (Electronic) 1089-7860 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26583362>>.
51. HANRAHAN, C. J.; SHAH, L. M. MRI of spinal bone marrow: part 2, T1-weighted imaging-based differential diagnosis. **AJR Am J Roentgenol**, v. 197, n. 6, p. 1309-21, Dec 2011. ISSN 1546-3141 (Electronic) 0361-803X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22109284>>.
52. HASSELL, K. L. Population estimates of sickle cell disease in the U.S. **Am J Prev Med**, v. 38, n. 4 Suppl, p. S512-21, Apr 2010. ISSN 1873-2607 (Electronic) 0749-3797 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20331952>>.
53. HAY, D.; ATOYEBI, W. Update on sickle cell disease. **Br J Hosp Med (Lond)**, v. 77, n. 4, p. C55-9, Apr 2016. ISSN 1750-8460 (Print) 1750-8460 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27071440>>.
54. HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 1910. **Yale J Biol Med**, v. 74, n. 3, p. 179-84, May-Jun 2001. ISSN 0044-0086 (Print) 0044-0086 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11501714>>.
55. HOUWING, M. E. et al. Sickle cell disease: Clinical presentation and management of a global health challenge. **Blood Rev**, May 20 2019. ISSN 1532-1681 (Electronic) 0268-960X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31128863>>.
56. HOWARD, J. Sickle cell disease: when and how to transfuse. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, v. 2016, n. 1, p. 625-631, Dec 2 2016. ISSN 1520-4383 (Electronic) 1520-4383 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27913538>>.
57. JAIN, S.; BAKSHI, N.; KRISHNAMURTI, L. Acute Chest Syndrome in Children with Sickle Cell Disease. **Pediatric allergy, immunology, and pulmonology**, v. 30, n. 4, p. 191-201, 2017. ISSN 2151-321X 2151-3228. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29279787>>
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5733742/>>.
58. JOHN, C. C. et al. Hydroxyurea Dose Escalation for Sickle Cell Anemia in Sub-Saharan Africa. **N Engl J Med**, v. 382, n. 26, p. 2524-2533, Jun 25 2020. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32579813>>.

59. KALPATTHI, R.; NOVELLI, E. M. Measuring success: utility of biomarkers in sickle cell disease clinical trials and care. **Hematology Am Soc Hematol Educ Program**, v. 2018, n. 1, p. 482-492, Nov 30 2018. ISSN 1520-4383 (Electronic) 1520-4383 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30504349> >.
60. KAPOOR, S.; LITTLE, J. A.; PECKER, L. H. Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 93, n. 12, p. 1810-1824, 2018. ISSN 0025-6196. Disponível em: < <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2018.08.001> >. Acesso em: 2019/07/09.
61. KARAMPINOS, D. C. et al. Quantitative MRI and spectroscopy of bone marrow. **J Magn Reson Imaging**, Jun 01 2017. ISSN 1522-2586 (Electronic) 1053-1807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28570033> >.
62. KATO, G. J.; GLADWIN, M. T. Mechanisms and Clinical Complications of Hemolysis in Sickle Cell Disease and Thalassemia. In: FORGET, B. G.; WEATHERALL, D. J., et al (Ed.). **Disorders of Hemoglobin: Genetics, Pathophysiology, and Clinical Management**. 2. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p.201-224. ISBN 9780521875196.
63. KATO, G. J. et al. Lactate dehydrogenase as a biomarker of hemolysis-associated nitric oxide resistance, priapism, leg ulceration, pulmonary hypertension, and death in patients with sickle cell disease. **Blood**, v. 107, n. 6, p. 2279-85, Mar 15 2006. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16291595> >.
64. KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. **Nat Rev Dis Primers**, v. 4, p. 18010, Mar 15 2018. ISSN 2056-676X (Electronic) 2056-676X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29542687> >.
65. KATO, G. J.; STEINBERG, M. H.; GLADWIN, M. T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **J Clin Invest**, v. 127, n. 3, p. 750-760, Mar 1 2017. ISSN 1558-8238 (Electronic) 0021-9738 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28248201> >.
66. KIRCHGESNER, T. et al. Fat suppression at three-dimensional T1-weighted MR imaging of the hands: Dixon method versus CHESS technique. **Diagn Interv Imaging**, v. 99, n. 1, p. 23-28, Jan 2018. ISSN 2211-5684 (Electronic) 2211-5684 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29054404> >.
67. KOSARAJU, V. et al. Imaging of musculoskeletal manifestations in sickle cell disease patients. **Br J Radiol**, v. 90, n. 1073, p. 20160130, May 2017. ISSN 1748-880X (Electronic) 0007-1285 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28281830> >.
68. LAFFORGUE, P.; TRIJAU, S. Bone infarcts: Unsuspected gray areas? **Joint Bone Spine**, v. 83, n. 5, p. 495-499, 2016/10/01/ 2016. ISSN 1297-319X.

- Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1297319X16000476> >.
69. LI, G. W. et al. Quantitative evaluation of vertebral marrow adipose tissue in postmenopausal female using MRI chemical shift-based water-fat separation. **Clin Radiol**, v. 69, n. 3, p. 254-62, Mar 2014. ISSN 1365-229X (Electronic) 0009-9260 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24286935> >.
 70. LI, X. et al. Quantification of vertebral bone marrow fat content using 3 Tesla MR spectroscopy: reproducibility, vertebral variation, and applications in osteoporosis. **Journal of magnetic resonance imaging : JMRI**, v. 33, n. 4, p. 974-979, 2011. ISSN 1522-2586 1053-1807. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21448966> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3072841/> >.
 71. LIAO, J. H. et al. qMRI relaxometry of mandibular bone marrow: a monomodal distribution in sickle cell disease. **J Magn Reson Imaging**, v. 37, n. 5, p. 1182-8, May 2013. ISSN 1522-2586 (Electronic) 1053-1807 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23086731> >.
 72. LIN, S.; OUYANG, T.; KANEKAR, S. Imaging of Bone Marrow. **Hematol Oncol Clin North Am**, v. 30, n. 4, p. 945-71, Aug 2016. ISSN 1558-1977 (Electronic) 0889-8588 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27444005> >.
 73. LINS, C. F.; SALMON, C. E. G.; NOGUEIRA-BARBOSA, M. H. Applications of the Dixon technique in the evaluation of the musculoskeletal system. **Radiol Bras.**, 2020.
 74. LOBO, C. L. D. C. et al. Mortality in children, adolescents and adults with sickle cell anemia in Rio de Janeiro, Brazil. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 40, p. 37-42, 2018. ISSN 2531-1379. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2531-13792018000100037&nrm=iso >.
 75. LOEVNER, L. A. et al. MR imaging characteristics of cranial bone marrow in adult patients with underlying systemic disorders compared with healthy control subjects. **AJNR Am J Neuroradiol**, v. 23, n. 2, p. 248-54, Feb 2002. ISSN 0195-6108 (Print) 0195-6108 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11847050> >.
 76. LONERGAN, G. J.; CLINE, D. B.; ABBONDANZO, S. L. Sickle Cell Anemia. **RadioGraphics**, v. 21, n. 4, p. 971-994, 2001. Disponível em: <<https://pubs.rsna.org/doi/abs/10.1148/radiographics.21.4.g01jl23971> >.
 77. MA, J. Dixon techniques for water and fat imaging. **J Magn Reson Imaging**, v. 28, n. 3, p. 543-58, Sep 2008. ISSN 1053-1807 (Print) 1053-1807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18777528> >.

78. MAAS, M. et al. Quantification of skeletal involvement in adults with type I Gaucher's disease: fat fraction measured by Dixon quantitative chemical shift imaging as a valid parameter. **AJR Am J Roentgenol**, v. 179, n. 4, p. 961-5, Oct 2002. ISSN 0361-803X (Print) 0361-803X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12239046>>.
79. MAAS, M. et al. Quantification of bone involvement in Gaucher disease: MR imaging bone marrow burden score as an alternative to Dixon quantitative chemical shift MR imaging--initial experience. **Radiology**, v. 229, n. 2, p. 554-61, Nov 2003. ISSN 0033-8419 (Print) 0033-8419 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14526090>>.
80. MACIEL, J. G. et al. Marrow Fat Quality Differences by Sex in Healthy Adults. **J Clin Densitom**, v. 20, n. 1, p. 106-113, Jan - Mar 2017. ISSN 1094-6950 (Print) 1094-6950 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27637728>>.
81. MAIER-REDELSPERGER, M. et al. Strong association between a new marker of hemolysis and glomerulopathy in sickle cell anemia. **Blood Cells Mol Dis**, v. 45, n. 4, p. 289-92, Dec 15 2010. ISSN 1096-0961 (Electronic) 1079-9796 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20833087>>.
82. MAŁKIEWICZ, A.; DZIEDZIC, M. Bone marrow reconversion - imaging of physiological changes in bone marrow. **Polish journal of radiology**, v. 77, n. 4, p. 45-50, 2012. ISSN 1733-134X 1899-0967. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23269936>>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3529711/>>.
83. MARTINOLI, C. et al. Musculoskeletal manifestations of chronic anemias. **Semin Musculoskelet Radiol**, v. 15, n. 3, p. 269-80, Jul 2011. ISSN 1098-898X (Electronic) 1089-7860 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21644200>>.
84. MILNER, P. F. et al. Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head. **N Engl J Med**, v. 325, n. 21, p. 1476-81, Nov 21 1991. ISSN 0028-4793 (Print) 0028-4793 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1944426>>.
85. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE E SECRETARIA DE CIÊNCIA. **PORTARIA CONJUNTA Nº 05 - PROTOCOLO CLÍNICO E DIRETRIZES TERAPÊUTICAS DA DOENÇA FALCIFORME**. 2018.
86. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE ATENÇÃO À SAÚDE. **Doença falciforme: condutas básicas para tratamento**. DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA. 2012.

87. NGO, D.; STEINBERG, M. Hematology clinic. Sick cell disease. **Hematology**, v. 19, n. 4, p. 244-5, Jun 2014. ISSN 1607-8454 (Electronic) 1024-5332 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24666152> >.
88. NOBLE, J. J. et al. In vitro and in vivo comparison of two-, three- and four-point Dixon techniques for clinical intramuscular fat quantification at 3 T. **Br J Radiol**, v. 87, n. 1036, p. 20130761, Apr 2014. ISSN 1748-880X (Electronic) 0007-1285 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24641314> >.
89. NOUH, M. R.; EID, A. F. Magnetic resonance imaging of the spinal marrow: Basic understanding of the normal marrow pattern and its variant. **World journal of radiology**, v. 7, n. 12, p. 448-458, 2015. ISSN 1949-8470. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26753060>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4697119/> >.
90. NOURAIE, M. et al. The relationship between the severity of hemolysis, clinical manifestations and risk of death in 415 patients with sickle cell anemia in the US and Europe. **Haematologica**, v. 98, n. 3, p. 464-72, Mar 2013. ISSN 0390-6078 (Print) 0390-6078.
91. OLNES, M. et al. Improvement in hemolysis and pulmonary arterial systolic pressure in adult patients with sickle cell disease during treatment with hydroxyurea. **Am J Hematol**, v. 84, n. 8, p. 530-32, Aug 2009. ISSN 1096-8652 (Electronic) 0361-8609 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19536844> >.
92. OZGEN, A. The Value of the T2-Weighted Multipoint Dixon Sequence in MRI of Sacroiliac Joints for the Diagnosis of Active and Chronic Sacroiliitis. **AJR Am J Roentgenol**, v. 208, n. 3, p. 603-608, Mar 2017. ISSN 1546-3141 (Electronic) 0361-803X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28004967> >.
93. PACE, B. S.; GOODMAN, S. R. Sick cell disease severity: an introduction. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 241, n. 7, p. 677-8, Apr 2016. ISSN 1535-3699 (Electronic) 1535-3699 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27190296> >.
94. PARRA, F. C. et al. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 100, n. 1, p. 177-82, Jan 7 2003. ISSN 0027-8424 (Print) 0027-8424 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12509516> >.
95. PATEL, V. S. et al. Marrow Adiposity and Hematopoiesis in Aging and Obesity: Exercise as an Intervention. **Current osteoporosis reports**, v. 16, n. 2, p. 105-115, 2018. ISSN 1544-2241 1544-1873. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29476393>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5866776/> >.
96. PATHIRAJA, F. et al. **Bone and soft tissue complications of sickle cell disease. ECR 2014** 2014.

97. PAULING, L. The Hemoglobin Molecule in Health and Disease. **Proceedings of the American Philosophical Society**, v. 96, n. 5, p. 556-565, 1952.
98. PAULING, L.; ITANO, H. A.; ET AL. Sickle cell anemia a molecular disease. **Science**, v. 110, n. 2865, p. 543-8, Nov 25 1949. ISSN 0036-8075 (Print) 0036-8075 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15395398>>.
99. PEZESHK, P.; ALIAN, A.; CHHABRA, A. Role of chemical shift and Dixon based techniques in musculoskeletal MR imaging. **Eur J Radiol**, v. 94, p. 93-100, Sep 2017. ISSN 1872-7727 (Electronic) 0720-048X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28655433>>.
100. PICCIN, A. et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. **Eur J Haematol**, v. 102, n. 4, p. 319-330, Apr 2019. ISSN 1600-0609 (Electronic) 0902-4441 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30664257>>.
101. PIEL, F. B.; STEINBERG, M. H.; REES, D. C. Sickle Cell Disease. **N Engl J Med**, v. 376, n. 16, p. 1561-1573, Apr 20 2017. ISSN 1533-4406 (Electronic) 0028-4793 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28423290>>.
102. PLEASANTS, S. Epidemiology: a moving target. **Nature**, v. 515, n. 7526, p. S2-3, Nov 13 2014. ISSN 1476-4687 (Electronic) 0028-0836 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25390139>>.
103. POULTON, T. B. et al. Bone marrow reconversion in adults who are smokers: MR Imaging findings. **AJR Am J Roentgenol**, v. 161, n. 6, p. 1217-21, Dec 1993. ISSN 0361-803X (Print) 0361-803x.
104. QUINN, C. T. Minireview: Clinical severity in sickle cell disease: the challenges of definition and prognostication. **Exp Biol Med (Maywood)**, v. 241, n. 7, p. 679-88, Apr 2016. ISSN 1535-3699 (Electronic) 1535-3699 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27013545>>.
105. QUINN, C. T. et al. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. **Blood**, v. 115, n. 17, p. 3447-52, Apr 29 2010. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20194891>>.
106. RAO, S. S. et al. Hematological profile of sickle cell disease from South Gujarat, India. **Hematology reports**, v. 4, n. 2, p. e8-e8, 2012. ISSN 2038-8330 2038-8322. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22826798>> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3401137/>>.
107. REEDER, S. B. et al. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL): application with fast spin-echo imaging. **Magn Reson Med**, v. 54, n. 3, p. 636-44, Sep 2005. ISSN 0740-

- 3194 (Print) 0740-3194 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16092103> >.
108. REES, D. C.; GIBSON, J. S. Biomarkers in sickle cell disease. **Br J Haematol**, v. 156, n. 4, p. 433-45, Feb 2012. ISSN 1365-2141 (Electronic) 0007-1048 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22122125> >.
109. REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. T. Sickle-cell disease. **Lancet**, v. 376, n. 9757, p. 2018-31, Dec 11 2010. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21131035> >.
110. RENAUDIER, P. [Sickle cell pathophysiology]. **Transfus Clin Biol**, v. 21, n. 4-5, p. 178-81, Nov 2014. ISSN 1953-8022 (Electronic) 1246-7820 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25282490> >.
111. RIBEIRO-ALVES, M. A.; GORDAN, P. A. [Diagnosis of anemia in patients with chronic kidney disease]. **J Bras Nefrol**, v. 36, n. 1 Suppl 1, p. 9-12, Mar 2014. ISSN 2175-8239 (Electronic) 0101-2800 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24770596> >.
112. ROBERTI, M. D. R. F. et al. Avaliação da qualidade de vida em portadores de doença falciforme do Hospital das Clínicas de Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 449-454, 2010. ISSN 1516-8484. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000600008&nrm=iso >.
113. ROSART, R. M., PESTRIN, O. A., TOMLINSON, G. A., WARD, R., PENDERGRAST, J., BINDING, A., & KUO, K. H. . Validation of Sickle Cell Disease Severity Score in a Cohort of Hemoglobin SC Disease Patients. **Blood**, v. 132, n. (Suppl 1), p. 2287, 2018.
114. SACHAN, A. A. et al. Is MRI Necessary for Skeletal Evaluation in Sickle Cell Disease. **J Clin Diagn Res**, v. 9, n. 6, p. TC08-12, Jun 2015. ISSN 2249-782X (Print) 0973-709X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26266184> >.
115. SCHECHTER, A. N. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. **Blood**, v. 112, n. 10, p. 3927-38, Nov 15 2008. ISSN 1528-0020 (Electronic) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18988877> >.
116. SCHNOG, J. B. et al. Sickle cell disease; a general overview. **Neth J Med**, v. 62, n. 10, p. 364-74, Nov 2004. ISSN 0300-2977 (Print) 0300-2977 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15683091> >.
117. SCHOBER, P.; BOER, C.; SCHWARTE, L. A. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. **Anesthesia & Analgesia**, v. 126, n. 5, p. 1763-1768, 2018. ISSN 0003-2999. Disponível em: < <https://journals.lww.com/anesthesia->

analgesia/Fulltext/2018/05000/Correlation_Coefficients__Appropriate_Use_and.50.aspx >.

- 118.SCHWARTZ, A. V. Marrow fat and bone: review of clinical findings. **Front Endocrinol (Lausanne)**, v. 6, p. 40, 2015. ISSN 1664-2392 (Print) 1664-2392 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25870585> >.
- 119.SEBASTIANI, P. et al. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. **Blood**, v. 110, n. 7, p. 2727-35, Oct 1 2007. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17600133> >.
- 120.SERJEANT, G. R. The natural history of sickle cell disease. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 3, n. 10, p. a011783, Oct 1 2013. ISSN 2157-1422 (Electronic) 2157-1422 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23813607> >.
- 121.SHEN, W. et al. Comparison among T1-weighted magnetic resonance imaging, modified dixon method, and magnetic resonance spectroscopy in measuring bone marrow fat. **J Obes**, v. 2013, p. 298675, 2013. ISSN 2090-0716 (Electronic) 2090-0708 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23606951> >.
- 122.SILVA-PINTO, A. C. et al. Clinical and hematological effects of hydroxyurea therapy in sickle cell patients: a single-center experience in Brazil. **Sao Paulo Med J**, v. 131, n. 4, p. 238-43, 2013. ISSN 1806-9460 (Electronic) 1516-3180 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24141294> >.
- 123.STANKOVIC STOJANOVIC, K.; LIONNET, F. Lactate dehydrogenase in sickle cell disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 458, p. 99-102, 2016/07/01/ 2016. ISSN 0009-8981. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898116301607> >.
- 124.STEER, K. et al. Bone Health in Patients With Hematopoietic Disorders of Bone Marrow Origin: Systematic Review and Meta- Analysis. **J Bone Miner Res**, v. 32, n. 4, p. 731-742, Apr 2017. ISSN 1523-4681 (Electronic) 0884-0431 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27787922> >.
- 125.SULTAN, A. A. et al. Classification systems of hip osteonecrosis: an updated review. **Int Orthop**, v. 43, n. 5, p. 1089-1095, May 2019. ISSN 1432-5195 (Electronic) 0341-2695 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29916002> >.
- 126.SUZUKI, S.; SAKAI, O.; JARA, H. Combined volumetric T1, T2 and secular-T2 quantitative MRI of the brain: age-related global changes (preliminary results). **Magn Reson Imaging**, v. 24, n. 7, p. 877-87, Sep 2006. ISSN 0730-725X (Print) 0730-725X (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16916705> >.

127. TAKASU, M. et al. Iterative decomposition of water and fat with echo asymmetry and least-squares estimation (IDEAL) magnetic resonance imaging as a biomarker for symptomatic multiple myeloma. **PLoS One**, v. 10, n. 2, p. e0116842, 2015. ISSN 1932-6203 (Electronic) 1932-6203 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25706753>>.
128. TANG, Y. M. et al. MRI Features of Bone Marrow Necrosis. **American Journal of Roentgenology**, v. 188, n. 2, p. 509-514, 2007/02/01 2007. ISSN 0361-803X. Disponível em: <<https://doi.org/10.2214/AJR.05.0656>>. Acesso em: 2019/07/12.
129. TELEN, M. J.; MALIK, P.; VERCELLOTTI, G. M. Therapeutic strategies for sickle cell disease: towards a multi-agent approach. **Nat Rev Drug Discov**, v. 18, n. 2, p. 139-158, Feb 2019. ISSN 1474-1784 (Electronic) 1474-1776 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30514970>>.
130. THOM, C. S. et al. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. **Cold Spring Harb Perspect Med**, v. 3, n. 3, p. a011858, Mar 1 2013. ISSN 2157-1422 (Electronic) 2157-1422 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23388674>>.
131. TSITSIKAS, D. A. et al. Bone marrow necrosis and fat embolism syndrome in sickle cell disease: increased susceptibility of patients with non-SS genotypes and a possible association with human parvovirus B19 infection. **Blood Rev**, v. 28, n. 1, p. 23-30, Jan 2014. ISSN 1532-1681 (Electronic) 0268-960X (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24468004>>.
132. VAISHYA, R. et al. Musculoskeletal Manifestations of Sickle Cell Disease: A Review. **Cureus**, v. 7, n. 10, p. e358-e358, 2015. ISSN 2168-8184. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26623213>>
<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4659689/>>.
133. VAN EEDEN, S. F.; HOGG, J. C. The response of human bone marrow to chronic cigarette smoking. **Eur Respir J**, v. 15, n. 5, p. 915-21, May 2000. ISSN 0903-1936 (Print) 0903-1936 (Linking). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10853859>>.
134. VANDERHAVE, K. L. et al. Orthopaedic Manifestations of Sickle Cell Disease. **JAAOS - Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons**, v. 26, n. 3, p. 94-101, 2018. ISSN 1067-151X. Disponível em: <https://journals.lww.com/jaaos/Fulltext/2018/02010/Orthopaedic_Manifestations_of_Sickle_Cell_Disease.3.aspx>.
135. VELDHUIS-VLUG, A. G.; ROSEN, C. J. Clinical implications of bone marrow adiposity. **Journal of Internal Medicine**, v. 283, n. 2, p. 121-139, 2018. ISSN 0954-6820. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/joim.12718>>.
136. VERLHAC, S. et al. Liver iron overload assessment by MRI R2* relaxometry in highly transfused pediatric patients: an agreement and reproducibility study.

- Diagn Interv Imaging**, v. 96, n. 3, p. 259-64, Mar 2015. ISSN 2211-5684 (Electronic) 2211-5684 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25533496> >.
137. WANG, Q. et al. Quantitative magnetic resonance imaging evaluation of hepatic fat content with iron deposition: will it be disturbed? **J Int Med Res**, p. 300060519836033, Mar 12 2019. ISSN 1473-2300 (Electronic) 0300-0605 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30859893> >.
138. WARE, R. E. Technological Advances in Sickle Cell Disease. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 67, p. 102-103, 2017/09/01/ 2017. ISSN 1079-9796. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1079979617303893> >.
139. WARE, R. E. et al. Sickle cell disease. **Lancet**, v. 390, n. 10091, p. 311-323, Jul 15 2017. ISSN 1474-547X (Electronic) 0140-6736 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28159390> >.
140. WESTBROOK, C.; ROTH, C. K.; TALBOT, J. **Ressonância Magnética: Aplicações Práticas**. 4ª. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. ISBN 978-1-4443-3743-3.
141. WOOD, J. C. et al. MRI R2 and R2* mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. **Blood**, v. 106, n. 4, p. 1460-5, Aug 15 2005. ISSN 0006-4971 (Print) 0006-4971 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15860670> >.
142. YANAGUIZAWA, M. et al. Diagnóstico por imagem na avaliação da anemia falciforme. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, p. 102-105, 2008. ISSN 0482-5004. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0482-50042008000200007&nrm=iso >.
143. YOO, H. J. et al. Measurement of fat content in vertebral marrow using a modified dixon sequence to differentiate benign from malignant processes. **J Magn Reson Imaging**, v. 45, n. 5, p. 1534-1544, May 2017. ISSN 1522-2586 (Electronic) 1053-1807 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27690264> >.
144. YOUNG I; LEE H Y; K., K. J. Correlation Between Vertebral Marrow Fat Fraction Measured Using Dixon Quantitative Chemical Shift MRI and BMD Value on Dual-energy X-ray Absorptiometry. **JKSMRM**, v. 16, n. 1, p. 16-24, 2012.

Anexos

ANEXOS

Anexo A – Parecer Consubstanciado com aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica

Pesquisador: Carolina Freitas Lins

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 79624017.9.0000.5544

Instituição Proponente: Fundação Bahiana para Desenvolvimento das Ciências

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.480.034

Apresentação do Projeto:

A doença falciforme é um termo genérico atribuído ao grupo das alterações genéticas com domínio da hemoglobina S (Hb S)(1). Dentre elas, destaca-se a anemia falciforme por ser a mais frequente doença monogênica, apresentando acometimento multissistêmico, caracterizado por danos crônicos progressivos em vários órgãos, bem como crises agudas. Esta enfermidade predomina em afrodescendentes, apesar de não ser exclusiva desta população, devido à alta miscigenação. A estimativa da prevalência de indivíduos com traço falciforme (heterozigotos), no Brasil, é de 4% dentro da população geral, com incidência em torno de 1-3/ 1000 nascidos vivos. Na Bahia, onde a descendência africana predomina, a taxa de incidência alcança 1/650 recém nascidos em indivíduos com doença falciforme, e 1/ 17 naqueles com traço falciforme. Existem inúmeras complicações clínicas relacionadas à doença falciforme, sendo as mais frequentes: crises âlgicas, acidente vascular encefálico, síndrome torácica aguda, infecções, priapismo, úlceras nas pernas,

osteonecrose, além de problemas cardíacos e renais. Destacam-se ainda, manifestações crônicas na medula óssea que ocorrem de forma secundária ao aumento na destruição sanguínea dos glóbulos vermelhos. Essas alterações caracterizam-se por hiperplasia da medula hematopoiética (vermelha), ocorrendo persistência da medula vermelha nas crianças e reconversão medular nos adultos. Esse processo de hiperplasia da medula hematopoiética inicia-se no esqueleto axial,

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275

Bairro: BROTAS

CEP: 40.290-000

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3276-8225

E-mail: cep@bahiana.edu.br

Continuação do Parecer: 2.480.034

notadamente na coluna vertebral e na bacia.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: Estudar os principais achados em exames de RM da coluna lombar e da bacia com recursos de quantificação celular da medular óssea em pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico, investigando a sua relação com alguns marcadores clínicos e laboratoriais de gravidade da doença.

Objetivos Secundários: 1) Descrever e comparar os achados de RM da coluna lombar e da bacia com recursos de quantificação celular da medular óssea (fração de água e fração de gordura) em pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico; 2) Estudar a associação entre o grau de severidade da doença falciforme e os achados de RM da coluna lombar e da bacia em pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico; 3) Comparar os achados de RM da coluna lombar e da bacia de pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico com transfusões sanguíneas prévias e tratamento com hidroxiureia.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Se relacionam aos exames laboratoriais no momento da punção e são mínimos, pois serão tomados todos os cuidados com utilização de material estéril e no esses exames farão parte da rotina de acompanhamento desses pacientes e necessitarão ser efetuados independente da presente pesquisa. Em relação ao exame de ressonância magnética, os pacientes sofrerão riscos mínimos, visto que não existem evidências científicas que sugiram efeitos nocivos dos campos magnéticos estáticos da ressonância magnética, utilizados na prática clínica atual aos sistemas biológicos. O ruído produzido pelo aparelho também não promoverá danos auditivos, pois será distribuído protetores auriculares próprios dos aparelhos de ressonância magnética. A sensação de claustrofobia que alguns pacientes podem apresentar é amenizada com a permissão de acompanhante durante a realização do exame, bem como com a explicação detalhada do exame e detalhamento da realização do mesmo. As contraindicações absolutas à realização do exame serão preconizadas e pacientes que possuam marca-passo cardíaco, implantes cocleares, clips de aneurisma ou que estejam no primeiro trimestre da gestação não poderão participar da pesquisa por não poderem realizar exame de ressonância magnética. Há os riscos inerentes ao acesso de dados de prontuário, que, entretanto, serão minimizados pelas garantias de sigilo que os autores se comprometem a guardar.

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275
 Bairro: BROTAS CEP: 40.290-000
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3276-8225 E-mail: cep@bahiana.edu.br

ESCOLA BAHIANA DE
MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA -
FBDC

Continuação do Parecer: 2.480.034

Benefícios: Existem poucas informações disponíveis sobre envolvimento da medula óssea e gravidade da doença falciforme. Assim, este estudo servirá de base para outras pesquisas que ajudarão profissionais de saúde a enriquecer seus conhecimentos quanto à doença falciforme, bem como se direcionarem a estudos em busca de melhor entendimento das condutas e criação de novas medicações, evitando as crises. Além disso, existem algumas alterações que podem acometer a coluna dos pacientes com doença falciforme. Assim, os participantes envolvidos no estudo receberão como benefício direto os exames, os quais serão importantes na tomada de condutas para o tratamento. Não havendo nenhum custo econômico adicional para o paciente com a realização da pesquisa e dos exames.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo de corte transversal, a ser realizado em uma clínica privada especializada em medicina diagnóstica em Salvador, com pacientes oriundos do ambulatório de ortopedia pediátrica do Hospital Santa Izabel, em Salvador-Bahia. O número amostra previsto será de 80 pacientes. Serão selecionados pacientes com anemia falciforme (Hb SS) ou traço falcêmico (HbSC) com diagnóstico baseado no exame de eletroforese da hemoglobina. Serão divididos em dois grupos: a) Pacientes com anemia falciforme e b) Pacientes com traço falcêmico (Hb SC). Adicionalmente, um grupo (c) de indivíduos controles sadios, pareados por idade e gênero será estudado para comparação. Serão necessários 40 indivíduos com doença falciforme para se obter um poder de 80% na detecção de 10% de diferença aceitável com alfa de 5%. Será feita revisão dos prontuários dos pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico, bem como os pacientes responderão a um questionário de avaliação clínica para obtenção de dados demográficos (idade, gênero, peso, tabagismo, etilismo), informações relacionadas a eventos clínicos prévios (crises algícas, acidente vascular encefálico, síndrome torácica aguda, infecções, priapismo, úlceras nas pernas, osteonecrose, além de problemas cardíacos e renais, bem como número de crises secundárias à doença falciforme no último ano). Além disso, serão registradas as medicações em uso e a correspondente duração do tratamento. Os dados relacionados a transfusões sanguíneas também serão obtidos, ressaltando-se a frequência das mesmas, o motivo da realização, bem como o volume sanguíneo administrado em cada momento. Os pacientes também serão avaliados laboratorialmente no momento da admissão no estudo. Serão realizados os seguintes exames laboratoriais: eletroforese de hemoglobina, volume corpuscular médio (VCM), contagem de reticulócitos, leucócitos totais, bilirrubina total, lactado

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275

Bairro: BROTAS

CEP: 40.290-000

UF: BA

Município: SALVADOR

Telefone: (71)3276-8225

E-mail: cep@bahiana.edu.br

Continuação do Parecer: 2.480.034

desidrogenase (LDH). Todos os pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico, bem como os indivíduos do grupo controle, realizarão RM da coluna lombar e da bacia, através de aparelho de 1,5 Tesla. Serão obtidas

imagens quantitativas baseadas no método Dixon de quatro pontos. Para a avaliação quantitativa deverá ocorrer a segmentação manual da coluna lombar e da bacia. Para o processamento das imagens, utilizar-se-á do software gratuito 3D Slicer, disponível para visualização, registro, segmentação e quantificação de dados médicos (versão 2.6; <http://www.slicer.org>). Os critérios de inclusão para os grupos anemia falciforme Hb SS (a) e traço falcêmico Hb SC (b) serão selecionar apenas pacientes com idade superior e/ou igual a seis anos (aqueles que não necessitem de sedação para realização do exame de RM), ausência de manifestações clínicas no momento da admissão no estudo, bem como de outras patologias capazes de envolver a medula óssea (exemplo: outras anemias, doenças linfoproliferativas, síndrome da imunodeficiência adquirida – SIDA, metástases ósseas). Já para o grupo controle, os critérios de inclusão serão selecionar apenas indivíduos com idade superior e/ou igual a seis anos e que não tenham qualquer doença hematológica, bem como enfermidade que afete a medula óssea. Serão excluídos da pesquisa os indivíduos cujos exames tiverem acentuados artefatos de movimentação, impedindo a análise, bem como serão excluídos os indivíduos que apresentarem qualquer contraindicação absoluta para a realização de estudos de RM. Entre os indivíduos do grupo anemia falciforme e traço falcêmico serão retirados da pesquisa também aqueles que tiverem apresentado acidente vascular encefálico, dor ou uma crise hemolítica nas quatro semanas anteriores à data da coleta de amostras de sangue para exames laboratoriais de rotina.

Análise de Dados:

A análise estatística será realizada utilizando-se o programa Statistical Package for the Social Science (SPSS Chicago – IL, versão 20). Os dados serão expressos em média $\pm$ desvio padrão. Testes estatísticos como t Student, Mann-Whitney, ANOVA, Kruskal-Wallis, Qui-quadrado e exato de Fisher serão utilizados. Também a correlação de Pearson e modelo de regressão linear. Valores de $p < 0,05$ serão considerado estatisticamente significantes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: apresenta com assinaturas do pesquisador e responsável da instituição de pesquisa;

Auência: apresenta Clínica Delfin e Hospital Santa Isabel – Salvador – BA;

TCLE: apresenta em linguagem adequada e aborda aspectos pertinente à compreensão do

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275
 Bairro: BROTAS CEP: 40.290-000
 UF: BA Município: SALVADOR
 Telefone: (71)3276-8225 E-mail: cep@bahiana.edu.br

ESCOLA BAHIANA DE
MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA -
FBDC

Continuação do Parecer: 2.480.034

paciente;

Termo de anuência: apresenta elaborado em linguagem e com ilustrações que se adequam a crianças;

Cronograma com data de coleta prevista para 01/02/2018 31/05/2018, envio do relatório parcial ao CEP - Bahiana 01/10/2018 31/10/2018; relatório final ao CEP 01/10/2019 31/10/2019.

Orçamento: R\$ 40.400,00 (financiamento próprio).

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de uma pesquisa relevante, observacional, com dados obtidos de prontuários médicos e exames complementares não invasivos (laboratoriais clínicos e de imagem ressonância nuclear magnética), na qual os riscos são superados pelos benefícios. As respostas das pendências apresentadas pelos pesquisadores relativas ao TCLE e cronograma atendem às pendências indicadas. Assim, recomendo aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:

Atenção : o não cumprimento à Res. 486/12 do CNS abaixo transcrita implicará na impossibilidade de avaliação de novos projetos deste pesquisador.

XI DO PESQUISADOR RESPONSÁVEL

XI.1 - A responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende os aspectos éticos e legais.

XI.2 - Cabe ao pesquisador: a) e b) (...)

c) desenvolver o projeto conforme delineado;

d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;

e) apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento;

f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;

g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto; e

h) justificar fundamentadamente, perante o CEP ou a CONEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275

Bairro: BROTAS

UF: BA

Município: SALVADOR

CEP: 40.290-000

Telefone: (71)3276-8225

E-mail: cep@bahiana.edu.br

Continuação do Parecer: 2.480.034

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1020064.pdf	12/12/2017 00:55:27		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDefinitivoFinal.docx	12/12/2017 00:53:21	Carolina Freitas Lins	Aceito
Outros	Questionarioprojeto.docx	12/12/2017 00:52:52	Carolina Freitas Lins	Aceito
Outros	RespostaspendenciasCEP.docx	12/12/2017 00:49:28	Carolina Freitas Lins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEdefinitivoFinal.doc	12/12/2017 00:47:13	Carolina Freitas Lins	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto.pdf	06/11/2017 16:16:29	Carolina Freitas Lins	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termodeassentimento.doc	06/11/2017 10:46:12	Carolina Freitas Lins	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termoanuenciaambulatorio.pdf	06/11/2017 10:45:34	Carolina Freitas Lins	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	termodeanuenciaDelfin.pdf	06/11/2017 10:45:23	Carolina Freitas Lins	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SALVADOR, 31 de Janeiro de 2018

Assinado por:
Maria Thaís de Andrade Calasans
(Coordenador)

Endereço: AVENIDA DOM JOÃO VI, 275
Bairro: BROTAS CEP: 40.290-000
UF: BA Município: SALVADOR
Telefone: (71)3276-8225 E-mail: cep@bahiana.edu.br

Anexo B – Publicação da pesquisa na Revista Radiologia Brasileira

<http://dx.doi.org/10.1590/0100-3884.2019.0088>

Aplicações da técnica Dixon na prática radiológica do sistema musculoesquelético

Applications of the Dixon technique in the evaluation of the musculoskeletal system

Carolina Freitas Lins^{1,2,a}, Carlos Ernesto Garrido Salmon^{3,b}, Marcello Henrique Nogueira-Barbosa^{4,c}

1. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Salvador, BA, Brasil. 2. Delim Inteligência Diagnóstica, Salvador, BA, Brasil. 3. Departamento de Física, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FFCLRP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil.

4. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Correspondência: Dra. Carolina Freitas Lins. Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Avenida Dom João VI, 275, Brotas, Salvador, BA, Brasil, 40280-000. E-mail: carolinafreitas@bahiana.edu.br.

a. <http://orcid.org/0000-0001-8084-0234>; b. <http://orcid.org/0000-0003-1441-1524>; c. <http://orcid.org/0000-0002-7438-5315>.

Recebido para publicação em 6/7/2019. Aceito, após revisão, em 2/8/2019.

Como citar este artigo:

Lins CF, Salmon CE, Nogueira-Barbosa MH. Aplicações da técnica Dixon na prática radiológica do sistema musculoesquelético. Radiol Bras. 2020.

Resumo A aquisição de imagens com supressão do sinal da gordura é um recurso de grande utilidade diagnóstica, existindo várias sequências capazes de realizá-la. A técnica Dixon, ao contrário de outras técnicas de supressão de gordura, permite suprimir a contribuição do sinal de gordura no pós-processamento e não durante a aquisição, além de permitir a visualização de mapas com a distribuição da água e da gordura. Esta revisão sobre a técnica Dixon almeja ilustrar os princípios físicos básicos, comparar a técnica com outras sequências de ressonância magnética para supressão ou quantificação de gordura, e descrever suas aplicações no estudo de doenças do sistema musculoesquelético. Muitas variantes da técnica Dixon foram desenvolvidas, proporcionando separação mais consistente dos sinais de gordura e água e permitindo correção de muitos fatores de confusão. Permite obter supressão homogênea de gordura, podendo ser adquirida de forma combinada com várias outras sequências, bem como com diferentes ponderações. Esta técnica possibilita também a obtenção de imagens com e sem supressão de gordura a partir de uma única aquisição. Adicionalmente, a técnica Dixon pode ser utilizada como recurso quantitativo, pois permite a mensuração do percentual de gordura e, em versões mais atualizadas, consegue quantificar ferro tecidual.

Unitermos: Ressonância magnética; Técnica Dixon; Supressão de gordura; Quantificação de gordura; Sistema musculoesquelético.

Abstract The acquisition of images with suppression of the fat signal is very useful in clinical practice and can be achieved in a variety of sequences. The Dixon technique, unlike other fat suppression techniques, allows the signal of fat to be suppressed in the post-processing rather than during acquisition, as well as allowing the visualization of maps showing the distribution of water and fat. This review of the Dixon technique aims to illustrate the basic physical principles, to compare the technique with other magnetic resonance imaging sequences for fat suppression or fat quantification, and to describe its applications in the study of diseases of the musculoskeletal system. Many variants of the Dixon technique have been developed, providing more consistent separation of the fat and water signals, as well as allowing correction for many confounding factors. It allows homogeneous fat suppression, being able to be acquired in combination with several other sequences, as well as with different weightings. The technique also makes it possible to obtain images with and without fat suppression from a single acquisition. In addition, the Dixon technique can be used as a quantitative method, allowing the proportion of tissue fat to be determined, and, in more updated versions, can quantify tissue iron.

Keywords: Magnetic resonance imaging; Dixon technique; Fat suppression; Fat quantification; Musculoskeletal system.

INTRODUÇÃO

A ressonância magnética (RM) é um dos métodos de imagem mais importantes e com maior diversidade de aplicações na medicina moderna, às vezes evitando o uso de radiação ionizante. A RM permite aquisição de imagens nos diversos planos anatômicos, bem como aquisições volumétricas que possibilitam análises multiplanar e tridimensional (3D)⁽¹⁾. A maior parte do sinal nas imagens de RM do corpo humano tem origem nos núcleos dos átomos de hidrogênio das moléculas de água e de lipídios, pela sua abundância no corpo. Para a ocorrência da ressonância

desse núcleo, é necessário que seja aplicado um pulso de radiofrequência na mesma frequência de Larmor do núcleo de hidrogênio, a qual é linearmente relacionada à intensidade do campo magnético do equipamento usado⁽¹⁻³⁾.

A intensidade do *pixel* na imagem de RM depende de diversas propriedades físicas do *voxel* correspondente no corpo, sendo as mais importantes: densidade protônica, frequência de ressonância e tempos de relaxação. No caso particular da água e das moléculas de lipídios (gordura), o tempo de relaxação longitudinal (T1) e a frequência de precessão são as propriedades que mais as diferenciam no

Anexo C – Trabalho intitulado “Fat Quantification of Bone Marrow by Magnetic Resonance Imaging in Patients with Sickle Cell Disease and its Association with Clinical Severity” com resultados da tese aceito para apresentação no RSNA 2020 Anual Meeting

RSNA 2020
HUMAN INSIGHT/VISIONARY MEDICINE
November 29 to December 4

Logged in: Carolina Freitas Lins [\[Edit My Information\]](#) [\[Edit Password\]](#)

[2020 RSNA Abstract Submissions Guidelines](#)

Getting Started

Welcome Carolina Freitas Lins

Click on the button to display the submitted abstract.
Click the icon to answer questions about your abstract.

Tips for Successful Virtual Presentations

- Protecting Patient Health Information (PHI) in medical presentations
- Best practices - Tips for presenting at home
- Best practices - Presentation tips and comparisons of video and audio quality
- How to present in a virtual meeting using Zoom
- The attendee and panelist experience in a Zoom Q&A

Recording Instructions

Recording with Zoom

- Recording your presentation through Zoom: Step-by-step instructions
- How to record through your computer using Zoom (Video)
- How to record through your computer using Zoom (PDF)

Recording with PowerPoint

- How to record a narrated presentation with PowerPoint
- How to record your PowerPoint presentation with a webcam
- How to record your PowerPoint presentation using a Mac

EVENT ID #	Title	Schedules	Participant Type	Status	View	DPS UPLOAD	VIDEO UPLOAD	Edit
Scientific Posters								
20010095	Fat Quantification of Bone Marrow by Magnetic Resonance Imaging in Patients with Sickle Cell Disease and its Association with Clinical Severity		Abstract Co-Author	Accepted		-	-

Anexo D – Artigo intitulado “Six-point DIXON and Magnetic Resonance Spectroscopy Techniques in Quantifying Bone Marrow Fat in Sickle Cell Disease” (com parte dos resultados desta tese) submetido para publicação na revista Radiology

Radiology <onbehalfof@manuscriptcentral.com> 00:30 (há 2 horas) ☆ ↶ ⋮
para carolinalins, mim, garrido, luanasouza16.1, moraesrobertaa, acristina, marcos.almeida, marcello ▾

🌐 inglês ▾ > português ▾ Traduzir mensagem

Desativar para: inglês ✕

26-Sep-2020

Dear authors:

Thank you for your submission entitled "Six-point DIXON and Magnetic Resonance Spectroscopy Techniques in Quantifying Bone Marrow Fat in Sickle Cell Disease." It has been assigned the following number - RAD-20-3868.

The Transfer of Copyright and Certifications Agreement and Author Contribution form are collected electronically. If applicable, all authors will receive an email requesting that these forms be completed and submitted via ScholarOne.

If you have any questions, please contact mcsupport@rsna.org or 630-481-1047.

RADIOLOGY ScholarOne may be used to track the progress of your manuscript through your author center. You will be notified by e-mail when a decision has been posted.

Thank you for your interest in RADIOLOGY.

David A. Bluemke, MD, PhD
Editor

Radiology

**Six-point DIXON and Magnetic Resonance Spectroscopy
Techniques in Quantifying Bone Marrow Fat in Sickle Cell
Disease**

Journal:	<i>Radiology</i>
Manuscript ID	Draft
Manuscript Type:	Original Research
Manuscript Categorization Terms:	MR-Imaging < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, MR-Spectroscopy < 2. MODALITIES/TECHNIQUES, Skeletal-Axial < 4. AREAS/SYSTEMS, Bone Marrow < 5. STRUCTURES, Spine < 5. STRUCTURES, Hematologic Diseases < 6. TOPICS, Comparative Studies < 7. METHODOLOGY

SCHOLARONE™
Manuscripts

Apêndices

APÊNDICES

Apêndice A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

O senhor(a) ou seu filho(a) está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa “**Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica**”, de responsabilidade dos pesquisadores Marcos Antonio Almeida Matos e Carolina Freitas Lins. Por favor, leia este documento com bastante atenção antes de assiná-lo. Caso haja alguma palavra ou frase que o (a) senhor(a) não consiga entender, ou exista alguma dúvida sobre o projeto, converse com um dos pesquisadores responsáveis pelo estudo ou com um membro da equipe desta pesquisa para ajudá-lo a compreender melhor ou para tirar suas dúvidas.

Objetivo do estudo:

Estudar os principais achados em exames de Ressonância Magnética da coluna lombar e da bacia para avaliação das alterações nestes ossos dos pacientes com anemia falciforme e traço falcêmico, analisando algumas informações clínicas e de exames de laboratório para correlacionar com a gravidade da doença.

Procedimentos do estudo:

Após entender e concordar em participar da pesquisa, serão realizadas as seguintes etapas:

- 1) O(A) senhor(a), ou o (a) responsável pelo seu/ sua filho (a), responderá perguntas como: nome, idade, endereço, telefone, peso, antecedentes de crises da doença falciforme, remédios em uso e histórico de transfusões sanguíneas.
- 2) O(A) senhor(a), ou o(a) responsável pelo seu/ sua filho (a), irá acompanhá-lo (a) à unidade de radiologia orientada posteriormente por nós no dia e hora marcados para realizar os exames de imagem.
- 3) Por fim, seu filho será submetido à ressonância magnética da coluna lombar e da bacia, o resultado será anexado ao seu prontuário, sendo portanto um procedimento que irá complementar a assistência ao (a) senhor (a) ou seu/ sua filho (a) e nunca exclusivamente para finalidade de pesquisa.

Benefícios diretos e indiretos:

O (A) senhor (a) receberá como benefício direto o recebimento do laudo do exame, o qual será importante na tomada de condutas para o tratamento do(a) senhor (a) ou do (a) seu/ sua filho (a). Não haverá nenhum gasto adicional com a realização da pesquisa.

Este estudo servirá de base para outras pesquisas que ajudarão profissionais de saúde a enriquecer seus conhecimentos quanto à doença falciforme, bem como direcionarem-se a estudos em busca de melhor entendimento das alterações dos diversos tipos de doença falciforme.

Possíveis riscos:

O(A) senhor (a) ou seu/ sua filho(a) poderá se sentir incomodado no aparelho de ressonância magnética por conta do barulho gerado pelo mesmo, isso será amenizado com a disponibilização de protetores auriculares; o (a) senhor (a) ou seu/ sua filho (a) pode também ter medo de realizar o exame, caso isso aconteça tentaremos tranquilizá-lo (a) de forma a explicar como é feito o exame e permitindo que ele seja acompanhado durante todo o exame pelo responsável/ acompanhante. No caso do (a) senhor (a) ou seu/ sua filho (a) pedir para parar, o exame será imediatamente suspenso.

Não existem relatos na literatura de efeitos colaterais promovidos pela exposição em curto tempo ao campo magnético dos equipamentos de ressonância magnética (como realização de exames). Dessa forma, as contraindicações principais à realização do exame serão: presença de marca-passo cardíaco, implantes cocleares, gravidez no primeiro trimestre, clips de aneurisma.

Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos testes e medidas propostos neste estudo (desde que comprovado), o (a) senhor(a) (ou seu filho) terá direito a tratamento médico na nossa instituição nos termos da legislação vigente. Além disso, em caso de danos comprovadamente causados pela pesquisa, será o participante será indenizado pelos pesquisadores, conforme preconiza a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

Participação Voluntária/Desistência do Estudo

Sua participação neste estudo é totalmente voluntária, ou seja, você só participa se quiser. A não participação no estudo não implicará em nenhuma alteração no seu acompanhamento médico tão pouco alterará a relação da equipe médica com o senhor e/ ou seu filho. Após assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, o senhor e/ ou seu filho terá total liberdade de retirá-lo a qualquer momento e deixar de participar do estudo se assim o desejar, sem quaisquer prejuízos à continuidade do tratamento e acompanhamento na instituição.

Este termo de consentimento será impresso em duas vias de igual teor, com uma via entregue ao (à) senhor(a) e a outra ficará com o pesquisador.

Como entrar em contato:

Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas.

Os responsáveis pelo estudo são os Drs. Marcos Antonio Almeida Matos e Carolina Freitas Lins. Eles poderão ser contatados através dos telefones 98719-0773 ou 98773-4407, na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública na sexta-feira pela manhã.

No caso de dúvida ou denúncia o Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, situado na Av. Dom João VI, 275, Brotas, CEP 40290-000, tel. – (71) 32768225, e-mail: cep@bahiana.edu.br, deverá ser consultado.

Declaração de Consentimento

Concordo em participar do estudo de título “**Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica**”. Li e entendi o documento de consentimento e o objetivo do estudo, bem como seus possíveis benefícios e riscos. Tive oportunidade de perguntar sobre o estudo, bem como seus possíveis benefícios, riscos e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas. Entendo que estou livre para decidir não participar desta pesquisa, se assim o desejar. Entendo que ao assinar este documento não estou abdicando de nenhum de meus direitos legais.

Nome do voluntário: _____

Idade: _____ anos R.G. _____

Responsável legal (quando for o caso): _____

R.G. Responsável legal: _____

Impressão dactiloscópica

Apêndice B – Termo de Assentimento

Termo de assentimento para criança e adolescente (maiores de 6 anos e menores de 18 anos)

Você está sendo convidado para participar da pesquisa chamada **“Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica”**. Seus pais já avaliaram a importância da pesquisa e permitiram que você participe. Mesmo assim gostaríamos que você também entendesse do que se trata a pesquisa e que você também confirmasse ou não o seu desejo de participar.

O objetivo da pesquisa é saber o que pode ser visto num exame de ressonância magnética da coluna e da bacia de pacientes que têm doença falciforme. A partir dos resultados desta pesquisa poderemos ajudar os médicos e pesquisadores a entender melhor sobre a sua doença. Apesar de acharmos importante esta pesquisa, você não precisa participar do estudo se não quiser, é seu direito e não terá nenhum problema se desistir.

Todas as crianças que irão participar desta pesquisa têm idade superior a 6 anos. A pesquisa será feita na Clínica Delfin Medicina Diagnóstica, onde as crianças deverão fazer exames de ressonância magnética da coluna lombar e da bacia, com um aparelho de ressonância magnética, conforme imagens abaixo demonstradas:

O uso do aparelho de ressonância magnética é considerado seguro e com riscos mínimos, visto que não está comprovado prejuízo dos campos magnéticos (como o da ressonância magnética) ao corpo humano. O aparelho produz um barulho que também não consegue promover danos ao seu ouvido, e também serão distribuídos protetores próprios para ouvidos. A sensação de medo de estar em um lugar fechado que alguns pacientes podem apresentar é amenizada com a permissão de acompanhante durante a realização do exame, bem como com a explicação detalhada do exame antes da realização. Os exames de sangue deverão ser feitos como parte de seu acompanhamento habitual, por isso, também haverá riscos mínimos que podem ocorrer com qualquer procedimento com agulha.

Suas informações também serão mantidas em sigilo pelos médicos e pesquisadores e ninguém além deles terá acesso a qualquer informação que possa identificar você. Caso você tenha dúvida ou acredite que outras coisas inesperadas podem acontecer se você participar da pesquisa, os responsáveis pelo estudo são os Drs. Marcos Antonio Almeida Matos e Carolina Freitas Lins. Eles poderão ser contatados através dos telefones 98719-0773 ou 98773-4407, na Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública na sexta-feira pela manhã.

Mas há coisas boas que podem acontecer como o benefício direto de realizar o exame que é necessário para sua avaliação médica e para tomada de decisões em seu tratamento. Não haverá nenhum gasto adicional com a realização da pesquisa. Este estudo servirá de base para outras pesquisas que ajudarão profissionais de saúde a enriquecer seus conhecimentos sobre doença falciforme, bem como direcionarem futuros estudos em busca de melhor entendimento das alterações dos diversos tipos de doença falciforme.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram. Quando terminarmos a pesquisa divulgaremos os resultados somente em congressos e revistas da área médica, preservando a não divulgação dos nomes das crianças participantes.

Se você tiver dúvidas, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Eu _____ aceito participar da pesquisa **“Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica”**.

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer.

Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir e que ninguém vai ficar zangado com isto.

Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento, li e concordo em participar da pesquisa.

Salvador, ____ de _____ de _____.

Assinatura do menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

Impressão dactiloscópica

Apêndice C – Questionário sócio demográfico

Questionário de Avaliação Clínica

Este questionário possui algumas perguntas referentes à pesquisa intitulada “**Avaliação da Medula Óssea por Ressonância Magnética em Pacientes com Doença Falciforme e sua Associação com a Gravidade Clínica**”.

Nome do participante:

Idade: Peso: Gênero: Profissão: Escolaridade:

Endereço:

Telefone:

Tabagismo: Tempo: Frequência: Quantidade:

Etilismo: Tempo: Frequência: Quantidade:

Eventos clínicos	Sim	Não	Obs.:
Crises algícas			
Acidente vascular encefálico			
Síndrome torácica aguda			
Infecções			
Priapismo			
Úlceras nas pernas			
Osteonecrose			
Problemas cardíacos			
Problemas renais			

Número de crises secundárias à doença falciforme no último ano

Medicações em uso

Duração do tratamento

Realiza transfusões sanguíneas?

Frequência das mesmas

Motivo da realização

Volume sanguíneo administrado em cada momento

Classificação dos indivíduos com doença falciforme de acordo com a quantidade de unidades de glóbulos vermelhos recebidos em transfusões sanguíneas:

Leve de 0 -2 U;

Moderado de 3-20 U

Grave > 20 U