

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

GUILHERME HENRIQUE HENCKLAIN FONSECA

Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes

São Paulo

2022

GUILHERME HENRIQUE HENCKLAIN FONSECA

Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Ciências Médicas

Área de Concentração: Distúrbios do
Crescimento Celular, Hemodinâmicos e
da Hemostasia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Fátima
Menosi Gualandro

São Paulo

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Fonseca, Guilherme Henrique Hencklain
Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com
doenças falciformes / Guilherme Henrique Hencklain
Fonseca. -- São Paulo, 2022.

Tese (doutorado) -- Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências Médicas. Área de
Concentração: Distúrbios do Crescimento Celular,
Hemodinâmicos e da Hemostasia.

Orientadora: Sandra Fátima Menosi Gualandro.

Descritores: 1. Anemia falciforme 2. Hemólise
3. Diagnóstico 4. Prognóstico 5. Biomarcadores
6. Ecocardiografia

USP/FM/DBD-309/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*Dedico essa tese para Andrea, Carolina e
Eduardo. Vocês são o motivo de cada passo da minha vida*

*Ao Alexandre Alberto, meu irmão Kallack, para
quem nunca deixei de ser o Henrique, essa tese é o abraço
que não pude te dar*

Agradecimentos

À professora Sandra Fátima Menosi Gualandro, pela enorme paciência e carinho. Você sempre será um exemplo pessoal de integridade e dedicação. Nosso ambulatório só existe pela sua visão e persistência.

À Daniela Menosi Gualandro, uma pessoa, médica e pesquisadora brilhante, agradeço pela ideia inicial do trabalho e pelo suporte nas dúvidas e nas análises.

Ao Professor Vanderson Rocha, a excelência científica e o currículo incomparável escondem o seu grande diferencial – a noção de que cada vida importa, que cada paciente que perdemos não é uma derrota mas sim uma pergunta a ser respondida.

Ao Professor Rogério de Souza, pelos conselhos e auxílio em momentos tão difíceis. Não existe limite para seu sucesso e isso é resultado de sua inteligência e dedicação.

À Professora Vera Maria Cury Salemi. Pela imensa disponibilidade, generosidade e carinho. Você não titubeou um instante em me auxiliar.

Ao Professor Bruno Caramelli pelo apoio irrestrito e auxílio na parte técnica e administrativa

Ao Renato de Aguiar Hortegal, pela ajuda na realização dos ecocardiogramas. Sua dedicação, conhecimento e disponibilidade são impressionantes.

À Camila Rocon de Lima Andreta. Não tivemos contato pessoal, mas em cada conversa ou mensagem conheci uma pessoa que empenhou seu precioso tempo e conhecimento me auxiliando na leitura dos ecocardiogramas. Não há como recompensar, só agradecer imensamente.

Ao Marcelo Dantas Tavares de Melo, pelo auxílio na leitura dos ecocardiogramas e pelas ideias de análise.

A Iara Keiko Yokomizo, pelo auxílio na coleta, preservação e organização das amostras. Além da competência que todos conhecem você sempre me auxiliou com o seu carinho e palavras de incentivo.

À Dra Célia Strunz, Adriana Nogueira e Ana Paula Pacanaro, do laboratório de análises clínicas do InCor pelo auxílio técnico e realização dos exames de biomarcadores.

A todos que me auxiliaram nas coletas e realização dos exames no Centro de Pesquisa Clínica.

Aos colegas e amigos do Ambulatório de Doenças da Hemoglobina – Afonso, Felipe, Karina e Liliana. Essa tese só foi possível pelo auxílio que vocês me deram, pelas nossas conversas e *insights*. Vocês são o presente e o futuro.

Aos pacientes e familiares do Ambulatório de Doenças da Hemoglobina. Para mim é impressionante a coragem com que enfrentam uma doença tão desafiadora em um mundo tão cheio de obstáculos. Raramente chego ao ambulatório e não encontro um sorriso. Vocês são inspiradores.

RESUMO

Fonseca GHH. Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2022.

Manifestações cardiovasculares são comuns na Doença Falciforme (DF). É difícil diferenciar se estas alterações são secundárias a anemia ou se haveria uma cardiopatia específica da DF. Recentemente novos tratamentos, como TMO, terapia gênica e novos medicamentos, vêm se somando ao uso de estratégias como transfusão e hidroxiureia. Definir a presença de cardiopatia na DF e esclarecer os seus mecanismos permitirá estimar prognóstico, escolher tratamentos mais eficazes aferindo tanto benefícios quanto efeitos adversos. Biomarcadores cardíacos são amplamente utilizados no diagnóstico e prognóstico das doenças cardíacas. Troponinas de alta-sensibilidade (hs-cTn) são os marcadores de escolha para isquemia cardíaca. Pelas suas características analíticas essas moléculas são detectadas na maior parte da população em valores que não são suficientes (99^o percentil) para o diagnóstico de IAM. Há maior prevalência de valores acima do 99^o percentil em pacientes com doenças cardíacas não-isquêmicas e em doenças sistêmicas graves, com características prognósticas. Mesmo valores detectáveis abaixo do 99^o percentil são associados com prognóstico na população geral, tanto para mortalidade cardíaca quanto para mortalidade geral. Nossa proposta foi medir os valores de 2 tipos de hs-cTn (hs-cTnT e hs-cTnI), e outros 3 biomarcadores (NT-pró-BNP, ST2s e galectina-3) comparando com características clínicas (incluindo o escore prognóstico PRe-MSCD), eletrocardiográficas e ecocardiográficas (com técnicas de avaliação de deformação e trabalho miocárdico) de pacientes falciformes. Participaram do estudo 126 pacientes com DF (SS e Sbeta0). Foram detectados valores de Hs-cTn T em 55,6% das amostras e Hs-cTn I em 56,3% dos casos. Em 3/70 amostras positivas para hs-cTnT (2,38%) havia valores acima do percentil 99^o (> 14 ng/mL), 2/71 das amostras positivas para hs-cTnI (1,58%) estavam acima deste percentil (>40ng/L). As hs-cTn se correlacionaram com idade, massa ventricular, índice cardíaco e parâmetros de disfunção diastólica. Ambas troponinas tiveram correlação com índice de trabalho global e redução da eficiência do trabalho miocárdico, indicando um possível desequilíbrio entre efetividade do trabalho miocárdico e produção de energia. A hs-cTnT apresentou correlação com o escore PRe-MSCD, que em multivariada se manteve somente com o NT-pro-BNP. O NT-pro-BNP teve desempenho analítico e diagnóstico semelhante a literatura. O ST2s estava acima dos valores de referência (35 ng/mL) em 11 % dos pacientes, sendo correlacionada com o sexo masculino, índice cardíaco, alterações ecocardiográficas atriais e com o indicador hemolítico obtido pela análise de componente principal. A Galectina-3 tinha valores elevados (>17,8 ng/mL) em 79% das amostras, sendo correlacionado com

marcadores de disfunção diastólica, valores de ácido úrico e ausência de dor crônica. As limitações do estudo são decorrentes do fato de ser um trabalho unicêntrico, com correlações encontradas fracas, apesar de significativas e de magnitude similar a outros biomarcadores na doença falciforme. Concluímos que trabalhos maiores serão necessários para esclarecer o papel dos biomarcadores cardíacos na DF. As informações mostram que as troponinas tem distribuição semelhante à da população geral mas com possível papel prognóstico, sendo associado com aumento de massa cardíaca e alterações sutis da contratilidade miocárdica. ST2s e especialmente galectina-3 foram menos associadas com aspectos cardiológicos mas apresentaram correlações com outros aspectos fisiopatológicos da doença falciforme.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Hemólise. Diagnóstico. Prognóstico. Biomarcadores. Ecocardiografia.

ABSTRACT

Fonseca GHH. *Cardiac biomarkers in sickle cell disease* [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina; 2022.

Cardiovascular manifestations are common in Sickle Cell Disease (SCD). It is difficult to differentiate if these changes are secondary to anemia or there would be a specific heart disease in SCD. Recently, new treatments, such as BMT, gene therapy and new drugs, have been added to the therapeutic armamentarium. Defining the presence of heart disease in SCD and clarifying its mechanisms will allow estimating prognosis, choose more effective treatments and measuring benefits and adverse effects. Cardiac biomarkers are widely used in the diagnosis and prognosis of heart disease. High-sensitivity troponins (hs-cTn) are the markers of choice for cardiac ischemia. Due to their analytical characteristics, these molecules are detected in most of the population at values that are not sufficient (99th percentile) for the diagnosis of AMI. There is a higher prevalence of values above the 99th percentile in patients with non-ischemic heart disease and in severe systemic diseases, with prognostic features. Even detectable values below the 99th percentile are associated with prognosis in the general population, both for cardiac mortality and for overall mortality. Our proposal is to measure the values of 2 types of hs-cTn (hs-cTnT and hs-cTnI), and other 3 biomarkers (NT-pro-BNP, ST2s and galectin-3) comparing with clinical characteristics (including the prognostic score PRE-MSCD), electrocardiography and echocardiography (with techniques for assess Strain and myocardial work) of SCD patients. A total of 126 patients with SCD (SS and Sbeta0) participated in the study. Values of Hs-cTn T were detected in 55.6% of the samples and Hs-cTn I in 56.3% of the cases. In 3/70 hs-cTnT positive samples (2.38%) there were values above the 99th percentile (> 14 ng/mL), 2/71 of the hs-cTnI positive samples (1.58%) were above this percentile (>40 ng/L). hs-cTn correlated with age, ventricular mass, cardiac index and diastolic dysfunction parameters. Both troponins were correlated with Global Work Index and reduced Myocardial Work Efficiency, indicating a possible imbalance between myocardial work effectiveness and energy production. hs-cTnT correlated with the PRE-MSCD score, which remained correlated only with NT-pro-BNP. NT-pro-BNP had an analytical and diagnostic performance similar to the literature. ST2s was above reference values (35 ng/mL) in 11% of patients, being correlated with male gender, cardiac index, atrial echocardiographic changes and with the hemolytic indicator obtained by principal component analysis. Galectin-3 had elevated values (>17.8 ng/mL) in 79% of the samples, being correlated with markers of diastolic dysfunction, uric acid values and absence of chronic pain. The limitations of the study are due to the fact that it is a unicentric study, with weak correlations, despite being statistically significant and of similar magnitude to other biomarkers in SCD. We conclude that larger studies will be needed to clarify the role of

cardiac biomarkers in SCD. Information shows that troponins have a distribution similar to that of the general population, but with a possible prognostic role, being associated with increased cardiac mass and subtle changes in myocardial contractility. ST2s and especially galectin-3 were less associated with cardiologic features but showed correlations with other pathophysiologic features of sickle cell disease.

Keywords: Anemia, sickle cell. Hemolysis. Diagnosis. Prognosis. Biomarkers. Echocardiography.

Normalização adotada:

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas da USP. Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, Maria Cláudia Pestana, Maria Cristina Cavarette Dziabas, Eliana Maria Garcia, Maria Fátima dos Santos. Maria Marta Nascimento, Suely Campos Cardoso --3.ed. rev. ampl. mod. - - São Paulo : SIBi/USP, 2016. 100p.: il. -- (Cadernos de estudos ; 9)

Abreviatura dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Lista de abreviaturas e siglas

AD – Átrio direito

AE – Átrio esquerdo

ALT – Alanina Aminotransferase

ANP - peptídeo natriurético atrial

AST – Aspartato Aminotransferase

AVEh – Acidente Vascular Encefálico hemorrágico

AVEi – Acidente Vascular Encefálico isquêmico

BAV – Bloqueio atrioventricular

BNP - peptídeo natriurético cerebral

bpm – Batimentos por minuto

BD – Bilirrubina direta (conjugada)

BI – Bilirrubina indireta (não-conjugada)

BRD - Bloqueio de Ramo Direito

BRE - Bloqueio de Ramo Esquerdo

CCSSD - Cooperative Study of Sickle Cell Disease

CURAMA – Estudo colaborativo sobre Doença Falciforme na Holanda e Antilhas Holandesas

CRD - domínio de reconhecimento de carboidratos

DC – Débito Cardíaco

DF – Doença Falciforme

DHL – Desidrogenase láctica

ECDFJ - Estudo de Coorte de Doença Falciforme da Jamaica

ECG - Eletrocardiograma

EOC – eritroblastos ortocromáticos

ESC - *European Society of Cardiology*

ESH - *European Society of Hypertension*

ESSm/VCF - Estresse da parede sistólica final do ventrículo esquerdo sobre velocidade corrigida pela taxa de encurtamento da fibra circunferencial

FAC - *fractional area change*

FDA – *Food and Drugs Administration*

Fe – ferro

FTI - ferritina

GAL-3 – Galectina-3

GCW - *Global Constructive Work*

GLS - *Global Longitudinal Strain* (deformação longitudinal global)

GWE - *Global Work Efficiency*

GWl - *Global Work Index*

GWw - *Global Wasted Work*

HbS – Hemoglobina S

HAS – Hipertensão arterial sistêmica

HP – Hipertensão pulmonar

HVE – Hipertrofia Ventricular Esquerdo

hs-cTn - high sensitivity cardiac troponin

IAM – Infarto Agudo do Miocárdio

IC – Insuficiência Cardíaca

IMC – Índice de massa corpórea

IPM - índice de performance miocárdica

IPR – Índice de produção reticulocitária

MMII – Membros inferiores

MMSS – Membros superiores

MPI - *Myocardial Performance Index*

MSH trial – *Multicenter Study of Hydroxyurea*

NIH – *National Institute of Health*

NT-pró-BNP - fragmento N-terminal do BNP

PA – Pressão arterial

PAD – pressão arterial diastólica

PAM – pressão arterial média

PAS – pressão arterial sistólica

Pre-MSCD - A Phenotypic Risk Score for Prediction of Mortality in Sickle Cell Disease

PVM – Prolapso de Válvula Mitral

RDW – Red Cell Distribution Width

RNM – Ressonância Nuclear Magnética

SatFe - saturação do ferro da transferrina

ST2s – isoforma solúvel do *suppression of tumorigenicity-2*

STA - Síndrome Torácica Aguda

STE - Speckle Tracking

TAPSE - *tricuspid annular plane systolic excursion*

TRIV - tempo de relaxamento isovolumétrico

VCI – Veia Cava Inferior

VD – Ventrículo direito

VDFVE - Volume diastólico final de ventrículo esquerdo

VE - Ventrículo esquerdo

VRT – Velocidade de Refluxo da Tricúspide

Lista de Figuras

Figura 1 – Modelo proposto de fisiopatologia das alterações cardíacas na Doença Falciforme	42
Figura 2 – Fotomicrografia de tecido miocárdico.....	43
Figura 3 – A- Gráfico <i>bull's eye</i> formulado a partir da avaliação de deformação dos diversos segmentos miocárdicos.....	76
Figura 4 – Distribuição etária de acordo com sexo.....	83
Figura 5 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de hs-cTnI com o escore de gravidade PRe-MSCD.....	116
Figura 6 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de NT-pró-BNP com o escore de gravidade PRe-MSCD.....	117
Figura 7 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de hs-cTnT com o escore de gravidade PRe-MSCD.....	117

Lista de tabelas

Tabela 1 - Características demográficas e antropométricas dos pacientes.....	82
Tabela 2 – Características das complicações clínicas dos pacientes.....	84
Tabela 3 – Estratégias de tratamento utilizadas pelos pacientes da casuística.....	85
Tabela 4 – Distribuição dos resultados do hemograma.....	86
Tabela 5 – Distribuição dos resultados dos exames hematológicos e de bioquímica ligados a hemólise.....	87
Tabela 6 – Distribuição dos resultados de exames de função renal.....	88
Tabela 7 – Distribuição dos resultados de exames de inflamação, perfil de ferro e função/lesão hepática.....	89
Tabela 8 - Descrição dos resultados dos índices eletrocardiográficos.....	90
Tabela 9 – Resultado dos exames de eletrocardiografia.....	91
Tabela 10 – Parâmetros volumétricos das câmaras esquerdas dos pacientes.....	92
Tabela 11 – Parâmetros de função das câmaras esquerdas dos pacientes...	93
Tabela 12 – Parâmetros de volumes e dimensões de câmaras direitas.....	94
Tabela 13 – Características ecocardiográficas para avaliação de função de VD	95
Tabela 14 - Descrição das características dopplerfluxométricas da válvula mitral.....	96
Tabela 15 - Características dos resultados de análise do <i>Strain/Speckle tracking</i>	97

Tabela 16 - Distribuição dos pacientes de acordo com o Escore PRe-MSCD.....	98
Tabela 17 – Descrição dos resultados das dosagens dos biomarcadores cardíacos.....	99
Tabela 18 – Tabela 2x2 mostrando a distribuição das medidas de valores de hs-cTn.....	100
Tabela 19 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com características quantitativas demográficas e antropométricas.....	101
Tabela 20- Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características demográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	102
Tabela 21 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações neurológicas (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	103
Tabela 22 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações órgão-alvo específicas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	104
Tabela 23 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características de tratamento (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	105
Tabela 24 – Correlações de Spearman dos valores de hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP com as características hematológicas quantitativas	106
Tabela 25 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros de hemólise.....	107

Tabela 26 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros de ferro/inflamação e lesão/função hepática	108
Tabela 27 - Correlações de Spearman dos valores de hs-cTn T, hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros da função renal	109
Tabela 28 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas dos índices do eletrocardiograma	109
Tabela 29 - hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características eletrocardiográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	110
Tabela 30 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (dimensões e volumes de câmaras esquerdas).....	111
Tabela 31 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras esquerdas).....	112
Tabela 32 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (dimensões e volumes de câmaras direitas).....	113
Tabela 33 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras direitas).....	113
Tabela 34 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de dopplerfluxometria de válvula mitral –parâmetros diastólicos).....	114

Tabela 35 - hs-cTnT, hs-cTnl e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características ecocardiográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	115
Tabela 36 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTnl e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de <i>strain</i> e <i>speckle tracking</i>).....	116
Tabela 37 – Correlação de Spearman dos biomarcadores com o escore PRE-MSCD.....	117
Tabela 38. Modelos finais para explicar conjuntamente os valores de hs-cTnT, hs-cTnl e NT-pró-BNP segundo as características avaliadas nos pacientes com doença falciforme.....	120
Tabela 39- Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com características quantitativas demográficas e antropométricas.....	121
Tabela 40 - ST2s e Galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características demográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	122
Tabela 41- ST2s e Galectina 3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações neurológicas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	123
Tabela 42 - ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – Síndrome torácica aguda e complicações dolorosas (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	124
Tabela 43- ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações clínicas locais (teste de <i>Mann-Whitney</i>).....	125
Tabela 44 - ST2s e Galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – tratamento (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	126

Tabela 45 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com características hematológicas quantitativas.....	127
Tabela 46 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de parâmetros de hemólise.....	128
Tabela 47 - Correlações de Spearman dos valores dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de parâmetros de ferro/inflamação e lesão/função hepática.....	129
Tabela 48 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de parâmetros da função renal.....	130
Tabela 49 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas dos índices do eletrocardiograma.....	130
Tabela 50 - Descrição de ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características eletrocardiográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	131
Tabela 51 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de ecocardiograma (câmaras esquerdas)	132
Tabela 52 – Descrição de ST2 e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características ecocardiográficas qualitativas (teste de <i>Mann-Whitney</i>)	133
Tabela 53 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras esquerdas).....	134
Tabela 54 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (câmaras direitas).....	134
Tabela 55 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras direitas)	135

Tabela 56 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de dopplerfluxometria de válvula mitral).....	136
Tabela 57 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de <i>strain</i> e <i>speckle tracking</i>).....	137
Tabela 58 Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com os valores do Escore PRe-MSCD	138
Tabela 59 - Modelos finais para explicar conjuntamente os valores de ST2s e galectina-3 segundo as características avaliadas nos pacientes com doença falciforme.....	138

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

RESUMO

ABSTRACT

1	INTRODUÇÃO.....	23
2	OBJETIVOS.....	27
3	REVISÃO DA LITERATURA.....	28
3.1	Alterações cardiológicas nas anemias.....	28
3.2	Alterações cardiológicas na doença falciforme.....	29
3.2.1	Evidências clínico-patológicas.....	29
3.2.2	Estudos com ecocardiografia.....	34
3.2.3	Uma teoria unificadora.....	41
3.3	BIOMARCADORES CARDÍACOS.....	44
3.3.1	Peptídeos natriuréticos.....	49
3.3.2	Novos biomarcadores.....	53
3.3.2.1	ST2 solúvel.....	53
3.3.2.2	Galectina-3.....	55
3.3.3	Troponinas de alta sensibilidade.....	57
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	60
4.1	Aspectos éticos.....	60
4.2	Casuística.....	60
4.2.1	Critérios de inclusão.....	60
4.2.2	Critérios de exclusão.....	60
4.3	Métodos.....	61
4.3.1	Visão geral.....	61
4.3.2	Avaliação clínica.....	62
4.3.2.1	Dados antropométricos.....	62
4.3.2.2	Sinais vitais.....	62
4.3.2.3	Características e complicações.....	62
4.3.2.4	Tratamento.....	65
4.3.3	Exames laboratoriais.....	66
4.3.3.1	Exames hematológicos.....	66
4.3.3.2	Exames bioquímicos.....	66
4.3.4	Eletrocardiografia.....	68
4.3.5	Ecocardiografia.....	69
4.3.6	Índice de gravidade PRe-MSCD.....	77
4.3.7	Dosagem de biomarcadores.....	78
4.3.8	Análise estatística.....	79
4.3.8.1	Tipo de estudo.....	79
4.3.8.2	Determinação de tamanho da casuística	79
4.3.8.3	Análise dos resultados.....	79
5	RESULTADOS.....	81
6	DISCUSSÃO.....	138

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	150
8 CONCLUSÕES.....	150
REFERÊNCIAS.....	152
APÊNDICE A	
ANEXO A	

BIOMARCADORES CARDÍACOS EM DOENÇA FALCIFORME

1 INTRODUÇÃO

As doenças falciformes são um grupo de doenças monogênicas da hemoglobina com grande heterogeneidade clínica resultante de múltiplas interações poligênicas e ambientais¹.

A mutação responsável por essa doença é decorrente da substituição de um único nucleotídeo (códon GAG para GTG) do gene da β -globina com a troca da glutamina (E/Glu) por valina (V/Val) na posição 6 (substituição E6V) da proteína, formando a HbS²⁻⁴. Quando em heterozigose, o chamado traço falciforme, essa mutação protege seus portadores de formas graves de malária na infância, um efeito que explica a alta prevalência desta condição no continente africano e nas áreas de distribuição de malária no Velho Mundo⁵.

As mesmas forças evolutivas que levaram à emergência da HbS na humanidade também favoreceram o surgimento e manutenção de outras hemoglobinas mutantes, como a HbC, HbD e talassemia⁶. O estado homozigoto da HbS causa a anemia falciforme (SS). A Heterozigose composta com outras mutações do gene da β -globina causa os outros tipos de doença falciforme (Hb SC, Hb S β^0 talassemia, Hb S β^+ talassemia, outras)⁷. Esses subtipos têm história natural distinta, com a Homozigose SS e a Doença S β^0 sendo consideradas as formas mais graves e, em geral, estudadas em conjunto^{1,8}.

A HbS tem propriedades físico-químicas alteradas, polimerizando quando em estado desoxigenado e provocando a distorção morfológica distintiva desse grupo de doenças⁹. As alterações resultantes da membrana eritrocitária desencadeiam uma sequência de eventos corpusculares e extracorpúsculares. Além da hemólise ocorrem profundas perturbações nos eritrócitos circulantes e mudanças irreversíveis em seu formato, alterações das propriedades da membrana, desequilíbrio na produção e depuração de espécies reativas de oxigênio, interações patológicas com as demais células circulantes e com o endotélio causando, entre outros efeitos, ativação inflamatória e hipercoagulabilidade¹⁰.

A soma de todos esses vetores fisiopatológicos culmina na vaso-oclusão com manifestações agudas caracterizadas por dor e dano crônico cumulativo muitas vezes silencioso¹¹. Cada etapa nessa cascata de eventos é modulada por outros genes e sofre influências externas, como fatores ambientais, nutricionais e emocionais. Virtualmente nenhum sistema orgânico é poupado do dano isquêmico¹.

Apesar de progressos na redução da mortalidade observados nas últimas décadas ainda há uma perda entre 25 a 30 anos na expectativa de vida^{12,13}, com um terço dos jovens tendo morte súbita¹⁴. A qualidade de vida é muito comprometida pelas consequências físicas e emocionais^{13,15}. Os absenteísmos escolares e trabalhistas agravam as condições sociais por ser uma doença com prevalência maior em grupos economicamente desfavorecidos^{16,17}. O custo para o sistema de saúde é significativo e tende a aumentar com o envelhecimento dessa população¹⁸.

O *Global Burden of Disease*, o último grande levantamento mundial de mortalidade antes da eclosão da pandemia de COVID-19, estimava que 41.900 pessoas haviam falecido com as doenças falciformes em 2019. Estima-se que 605.000 pessoas nasceram com DF naquele ano, se somando a um contingente de 5,6 milhões de pessoas acometidas por esse grupo de doenças no mundo, concentradas especialmente na África subsaariana¹⁹. Nesse continente a doença falciforme é importante problema de saúde pública, intensificando a mortalidade materno-infantil^{20,21}.

Dentre os múltiplos sintomas da DF, as alterações do sistema cardiovascular foram notadas desde os primeiros casos²²⁻²⁵. Há consenso que boa parte dessas alterações são secundárias à anemia grave e persistente, mas a possibilidade da existência de uma cardiopatia falciforme específica é bem mais controversa. Apesar de aventado desde as primeiras autópsias, há períodos em que esse conceito esteve mais em voga para posteriormente ser relegado²⁶⁻³³.

Cada nova tecnologia em cardiologia foi aplicada na doença falciforme tentando detectar e descrever essa cardiopatia específica elusiva. A maior evolução foi a ecocardiografia que permitiu a observação de maior número de

pacientes em diferentes situações clínicas e em condições experimentais. O que se resume de aproximadamente 40 anos de observações ecocardiográficas é que raramente há insuficiência cardíaca com redução de fração de ejeção, mas é bem comum a observação de aumento das dimensões cavitárias, especialmente atriais, hipertrofia excêntrica do miocárdio, disfunção diastólica e sinais indiretos de hipertensão pulmonar (HP)³⁴. No começo do século XXI houve grande debate sobre a natureza dessa HP, se decorrente de vasculopatia pulmonar primária ou secundária a doença cardiovascular. Estudos com cateterismo pulmonar e anatomia patológica mostram que raramente os pacientes têm um mecanismo isolado de HP mas há frequente doença cardíaca subjacente³⁵⁻³⁷.

Evidências recentes derivadas de modelos animais e de novas técnicas de ressonância nuclear magnética (RNM) mostram a presença de graus de fibrose miocárdica não antes valorizados³⁸⁻⁴⁰. A fibrose da musculatura cardíaca provavelmente é a causa da frequente disfunção diastólica. O enrijecimento das paredes ventriculares somado a um regime de alto débito⁴¹⁻⁴³ levaria ao aumento das cavidades atriais e hipertrofia excêntrica do miocárdio. Os leves graus de HP seriam decorrentes da singularidade da doença falciforme: a soma de circulação hiperdinâmica com fisiologia restritiva. Outros aspectos fisiopatológicos, como alterações da circulação pulmonar e o desequilíbrio na oferta de óxido nítrico convergem compondo um quadro de múltiplas agressões ao coração do falciforme³³. Essas características permitem dizer que há uma cardiopatia específica da doença falciforme? A literatura hoje parece estar construindo esse consenso⁴⁴.

Apesar de ser intuitivo imaginar que os danos à parede miocárdica sejam de natureza exclusivamente isquêmica, a maior parte dos estudos tem dificuldade em documentar isso clinicamente. O cateterismo cardíaco, mesmo em casos de infarto agudo documentado, dificilmente encontra oclusão coronariana significativa⁴⁵. Elevação de enzimas ou biomarcadores de isquemia cardíaca ocorrem somente em pacientes com eventos vaso-oclusivos agudos graves ou síndrome torácica aguda, sendo atribuídas à distensão e isquemia do ventrículo direito decorrentes da elevação aguda da pressão de artéria pulmonar por vaso-oclusão e vasoconstrição à jusante⁴⁶.

O desenvolvimento de exames mais sensíveis para medida de biomarcadores cardíacos, notadamente das troponinas, tem permitido detectar baixos valores em boa parte das pessoas da comunidade ⁴⁷. Em diferentes condições clínicas, primariamente cardiovasculares ou não, tem sido observado aumento dos valores de troponina paralelos à gravidade das doenças avaliadas. Novos biomarcadores, como galectina-3 e ST2 também vem sendo descritos na literatura com potencial diagnóstico e prognóstico nas insuficiências cardíacas⁴⁸. Além disso novas técnicas ecocardiográficas acopladas a dosagem destes biomarcadores, como *speckle tracking* ainda não foram devidamente exploradas e talvez ajudassem a mostrar alterações sutis de função sistólica não documentadas pelas técnicas convencionais de ecocardiografia.

Na doença falciforme já existe uma experiência interessante com uso de NT-pró-BNP em complicações cardiovasculares, sendo instrumento utilizado na predição de gravidade e mortalidade ⁴⁹. Não há avaliação prospectiva do valor e da utilidade dos novos biomarcadores – agregadas ao eletrocardiograma e novas técnicas de ecocardiograma – em pacientes adultos com doença falciforme e se estes valores têm relação com manifestações clínicas e gravidade da doença falciforme, especialmente cardiovascular.

2 OBJETIVOS

Os objetivos deste estudo são:

- 1) Verificar, através de estudo transversal, a prevalência de elevação do valor da troponinas cardíacas de alta sensibilidade (hs-cTnT hs-cTnI), ST2 solúvel e galectina-3 em indivíduos adultos com doença falciforme em estado basal.
- 2) Correlacionar essas medidas com dados obtidos da avaliação clínica, laboratorial, eletrocardiográfica e ecocardiográfica dos pacientes.
- 3) Avaliar se alterações dos biomarcadores cardíacos estudados são associados com disfunção cardíaca.
- 4) Avaliar se alterações dos biomarcadores cardíacos estudados estão associados com gravidade e diferentes manifestações da doença falciforme.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Alterações cardiológicas nas anemias

A anemia é uma das condições clínicas mais comumente associadas com insuficiência cardíaca (IC), podendo deflagrar ou piorar sintomas desta doença. Independente da causa da IC, a anemia piora o seu prognóstico⁵⁰.

A anemia crônica deflagra diversos mecanismos compensatórios cardiovasculares. Varat et al ⁵¹ notou em 1972 que as alterações da viscosidade sanguínea, hipóxia tecidual e aumento do tônus simpático são os principais fatores que levam às alterações hemodinâmicas e cardiovasculares na anemia.

O débito cardíaco é elevado de forma uniforme, mas a sua elevação só costuma ocorrer com valores mais baixos do que os definidores de anemia pelo efeito de outros mecanismos compensatórios ^{42,43,51}, como redução da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, aumento da extração tecidual com redução do consumo de oxigênio, redistribuição do suprimento sanguíneo pela alteração da disponibilidade do óxido nítrico e neoformação de vasos⁵².

No exercício o DC se eleva a partir de valores de Hb de 10 g/dL, já em repouso o DC sobe linearmente a partir de valores de hemoglobina de 7 g/dL alcançando um platô com valores de 3 g/dL ^{42,43}. Essas elevações podem não ocorrer se houver doença cardíaca associada, falta de condicionamento em pacientes acamados ou anemia em pacientes com viscosidade sanguínea elevada, como no Mieloma Múltiplo⁵¹.

Os modelos básicos para entender os efeitos da anemia crônica foram baseados especialmente aos observados na ferropenia. Apesar de ser considerado um exemplo “limpo”, teoricamente sem influências outras que não seja a anemia, há efeitos específicos da carência de ferro no miocárdio⁵³, o que talvez possa diminuir a extrapolação automática dos dados derivados deste modelo para outras anemias. Mas em geral o que é observado é a diminuição da pós-carga por dilatação arteriolar enquanto a diminuição do tônus venoso aumenta a pré-carga. Essas alterações juntamente com o aumento do tônus simpático eleva o volume sistólico (*stroke*) e o DC, mesmo na ausência de taquicardia. Há uma sobrecarga relativa de volume que junto com aumento do trabalho cardíaco leva ao remodelamento do miocárdio e evolução para

hipertrofia ventricular esquerda (HVE) ⁵⁴. A reversão das anemias corrige essas alterações⁴².

A HVE pode ser um mecanismo adaptativo tanto na sobrecarga prolongada de pressão quanto de volume. Em estados de sobrecarga de volume a hipertrofia tende a ser excêntrica, o que é definido pelo aumento da dimensão interna do VE com uma relação normal da espessura da parede para o diâmetro da cavidade, ou seja, um aumento proporcional na espessura da parede e no diâmetro interno do VE. Em contraste, na hipertrofia concêntrica, que é resultado da sobrecarga pressórica (como a observada na estenose aórtica), há aumento da espessura da parede sem alteração do diâmetro ventricular⁵⁴.

Apesar de estarmos habituados a pensar na HVE em termos de mecânica e hidráulica existe também a deflagração de uma série de eventos moleculares que explicam o aumento da massa muscular através de ativação e interação de vias de angiogênese, fibrose e atividade metabólica⁵⁵.

A doença falciforme é uma causa significativa de anemia em nosso meio¹⁹. Alterações cardíacas são frequentemente observadas. A literatura sempre teve dúvida se essas alterações seriam decorrentes da anemia *sensu lato* ou se haveria alguma singularidade nas suas manifestações.

3.2 Alterações cardiológicas na doença falciforme

3.2.1 Evidências clínico-patológicas

Alterações cardíacas são descritas desde os primeiros casos relatados na literatura. Herrick descreveu o primeiro caso inequívoco de doença falciforme na medicina ocidental ²². Esse autor era um precursor dos cardiologistas, o primeiro a notar as características crônicas da angina *pectoris* e o primeiro a utilizar o eletrocardiograma no diagnóstico do infarto a partir de observações experimentais⁵⁶. Em 1904 esse autor e Ernest Irons ^{57,58} conheceram um paciente oriundo de Granada, um estudante de odontologia chamado Walter C. Noel, que os procurou para tratamento de úlcera dos membros inferiores. A história, onde as úlceras eram somente uma das características, e o aspecto microscópico *sui generis* do sangue intrigaram esses clínicos que tentaram encontrar de forma malsucedida casos semelhantes. A descrição do caso foi publicada em 1910 no *Annals of Internal Medicine*, levando ao reconhecimento de diversos outros casos nos EUA nos 15 anos seguintes ⁵⁹ e após isso, de forma

exponencial, em outras partes do mundo⁵⁸⁻⁶⁰. O microscópio de Herrick e Irons revelou uma doença então invisível para o mundo. O exame cardiológico é vívido e muito semelhante ao que vemos hoje em nossos pacientes.

O coração era desviado para a esquerda, o impulso apical estava no sexto espaço intercostal, 2,5 centímetros à esquerda da linha mamilar esquerda. Havia apenas um leve aumento da macicez à direita. Um sopro sistólico suave, não transmitido, era ouvido na base do coração. Um sopro sistólico leve, ou talvez seja melhor chamá-lo de primeiro tom impuro, era ouvido no ápice. A atividade cardíaca lembrava a de um coração sob forte estimulação. (Herrick, JB; 1910²², pág 518, tradução nossa)

Nas descrições que se seguiram era comum a observação de características semelhantes. A interpretação corrente era de que se tratavam de manifestações da adaptação normal à anemia como observada em outras condições.

Huck, em 1923, notou em um dos pacientes que descreveu, edema dos membros inferiores, hepatomegalia, taquicardia e tendência a hipotensão⁶³. Sydenstricker, também em 1923, fez a primeira descrição de cardiomegalia em uma radiografia de tórax. Na época ele reputou as alterações como decorrentes da anemia grave de longa duração²⁵. Anderson e Ware (1932) revisaram a literatura e constataram que cardiomegalia era presente em três quartos dos casos e sopros em 87% das descrições e de forma diversa a Sydenstricker acreditava que em boa parte dos casos as alterações tinham causa anatômica secundária⁶⁴.

A presença de febre, leucocitose e dores articulares junto com as alterações da ausculta eram comumente atribuídas à febre reumática. Em 1933 Hamman publicou um caso que sintetizava essas dúvidas⁶⁵. Esse autor descreveu uma jovem falciforme que teve hipótese diagnóstica *ante mortem* de dupla lesão mitral por febre reumática mas que, para sua perplexidade, apresentava válvulas e pericárdio anatomicamente normais à autópsia.

Em 1942, Klinefelter, que naquele mesmo ano descreveu a síndrome genética que leva seu nome, fez o primeiro compilado de manifestações cardíacas na doença falciforme, revisando a literatura disponível e estudando 12 casos, 10 deles com autópsias, na Johns Hopkins em Baltimore²⁶. Seu objetivo era determinar a frequência de doença orgânica cardíaca em falciformes. Sua conclusão é que apesar das similaridades clínicas, raramente a febre reumática

coexiste com a doença falciforme, com os achados patológicos de cardiomegalia e hipertrofia cardíaca sendo atribuíveis à hipoxemia e anemia prolongada. Klinefelter reconhecia que as alterações eram mais proeminentes do que as descritas nas demais causas de anemia mas reputava isso ao caráter permanente e prolongado da doença, apesar de admitir que esses fatores talvez não explicassem de forma satisfatória o conjunto de alterações.

Wintrobe, em 1944, fez uma fascinante revisão sobre o sistema cardiovascular na anemia, ressaltando as anormalidades particulares da Anemia Falciforme²⁷. Ele usou a doença como exemplo de adaptação extrema do coração, mas não afastou alguma peculiaridade que altere essas manifestações, sugerindo como candidatos a estase vascular e alterações degenerativas dos vasos.

Em 1945, Winsor e Burch relataram 9 autópsias onde além das alterações macroscópicas habituais também foi observada degeneração hialina de Zenker dos cardiomiócitos⁶⁶. Em 1964 o exame microscópico do coração por Uzoy revelou a presença de vacuolização das fibras miocárdicas, granulação e edema intersticial com aumento do tecido fibroso⁶⁷. Em 1963, Oliveira e Gomes-Patino, da República Dominicana, foram os primeiros a cunhar o termo *miocardiopatia falciforme*, após a autópsia de um paciente de 29 anos de idade, onde eles observaram as coronárias repletas de células falciformes, oclusão da microcirculação por células falciformes aglutinadas e por microtrombos em diferentes graus de organização com fibrose subendocárdica⁶⁸.

Um aspecto também comumente observado nas autópsias era a presença de infiltrado inflamatório em lesões arteriais e venosas e diversas descrições de pericardite e miocardite associada ^{66,68,69}.

Alguns autores tentaram relacionar as alterações observadas com a deposição de ferro no miocárdio, semelhante ao que é observado em pacientes com talassemia com dependência transfusional. No entanto, pacientes com Anemia Falciforme, mesmo intensamente transfundidos e com deposição visceral de ferro documentada, raramente apresentam sobrecarga significativa no miocárdio seja em autópsias ou em estudos com ressonância nuclear magnética do coração ⁷⁰⁻⁷⁵. Essa relativa proteção à sobrecarga de ferro pode ser decorrente da idade mais tardia para o início das transfusões nos falciformes em comparação com a talassemia, ausência de hematopoese ineficaz⁷⁵ ou

outros fatores desconhecidos que protegem o coração do falciforme da deposição excessiva de ferro.

Alguns outros estudos com autópsia foram realizados como o de Baroldi⁷⁶ e do Gerry⁶⁹ que chegaram a conclusões levemente diversas. Esse primeiro autor usou a anemia falciforme como modelo de lesão miocárdica sem obstrução das coronárias e atribuiu os quadros semelhantes a infarto como decorrentes da falcização nos vasos cardíacos. Gerry revisou os prontuários dos 17 casos submetidos a autópsia e chegou à conclusão que as alterações macroscópicas eram derivadas da adaptação ao regime de anemia, enquanto as alterações microscópicas eram atribuídas a deposição de ferro ou miocardite como evento final de intercorrências clínicas infecciosas ou congestivas. Ele concluiu seu artigo recomendando a busca de um fator precipitante para explicar a descompensação em um coração sem reserva pela adaptação a anemia crônica e refutou a presença de uma miocardiopatia falciforme específica.

O eletrocardiograma mostra sinais de sobrecarga ventricular esquerda em 50% a 80% dos casos, alterações inespecíficas do segmento ST e da onda T em mais da metade dos casos, bloqueio atrioventricular de primeiro grau em 8% a 10%, intervalo QT corrigido aumentado em 8% e sinais de sobrecarga ventricular direita em 6%. A prevalência de bloqueio atrioventricular de primeiro grau contrasta com prevalência esperada de 0,5% na população geral. São observados bloqueios de ramo esquerdo em direito em até 5% dos pacientes⁷⁷. Vários autores descreveram a presença de alterações eletrocardiográficas compatíveis com isquemia e infarto do miocárdio⁷⁸⁻⁸⁹. Esses relatos eram acompanhados de descrições de autópsia ou cateterismos onde as coronárias são mais calibrosas que o comum sem lesões ateroscleróticas visíveis⁹⁰⁻⁹³. O mecanismo da ausência dessas lesões, mesmo em pacientes mais velhos ou quando comparados com autópsias de jovens da mesma idade^{94,95} é desconhecido, mas se acredita que a reciclagem intensa das membranas eritrocitárias causada pela hemólise aumente a necessidade diária de colesterol para produção das novas hemácias reduzindo a disponibilidade e a circulação para o restante do organismo⁹⁶.

Leight, em 1954, fez avaliação hemodinâmica de 12 pacientes e mostrou um padrão hiperdinâmico com elevação do IC em todos os pacientes, com média de 6,1 L/minuto⁴¹. Esses achados foram reproduzidos em outras séries²⁹. As

elevações ocorriam mesmo em pacientes com hemoglobina entre 7-10 g/dL, o que contrasta com o padrão habitual da compensação crônica das anemias, que é a elevação a partir de 7 g/dL. Este fato pode estar relacionado à diminuição da saturação de oxigênio do sangue arterial em consequência da menor afinidade da hemoglobina S pelo oxigênio⁹⁷ e à formação de shunts intrapulmonares direito-esquerdo⁹⁸. A presença desses *shunts* é observada em 35% dos casos submetidos a ecocardiografia com microbolhas, sendo provavelmente induzidos pela baixa tensão de oxigênio tecidual que estimularia a angiogênese e ao efeito mecânico da baixa resistência vascular pulmonar^{99,100}. A presença desses *shunts* adicionaria maiores desafios à adaptação cardiocirculatória da DF.

Alguns autores postulam a presença de alterações vasculares semelhantes ao pseudoxantoma elástico (PXE) em pacientes com hemólise crônica. Essas alterações afetam a camada elástica dos vasos e causam manifestações cutâneas, oculares e provavelmente vasculares, alterando as propriedades elásticas dos vasos com possível influência nas características hemodinâmicas dos pacientes¹⁰¹⁻¹⁰³. Finalmente, boa parte dos pacientes tem comprometimento hepático e renal progressivo, que podem também acentuar a anemia e alterar a resposta vascular normal.

Compondo o quadro clínico-patológico são frequentemente observados sinais indiretos de hipertensão pulmonar. *Cor pulmonale* foi descrito na DF em 1932 por Yater e Hasmmann¹⁰⁴ e diversos autores revisitaram esses achados com hipertrofia e dilatação de VD. Em 2003 Haque descreveu uma série de casos que sugeriam a presença de lesão plexiforme nas artérias pulmonares, um quadro histológico muito sugestivo de vasculopatia pulmonar primária¹⁰⁵. Esse estudo tinha algumas limitações metodológicas e incluía casos de traço falciforme. Carsten em 2019, em uma outra série de autópsias, mostrou que muitas dessas lesões são na verdade trombos recanalizados, que com o aspecto cribiforme, se assemelhavam às lesões plexiformes da hipertensão pulmonar clássica¹⁰⁶.

Toda uma linha de pesquisa foi desenvolvida no início do século XXI para melhor compreensão da HP na DF. Em 2005 Gladwin et al publicaram artigo onde colocavam a velocidade de refluxo da tricúspide (VRT) como evidência diagnóstica de hipertensão arterial pulmonar na DF em quase 40% dos pacientes examinados³⁵. Estudos hemodinâmicos observaram que o aumento da VRT não

era discriminatório para HAP e que o padrão observado não é exclusivamente de hipertensão arterial pulmonar, mas havia proporções semelhantes de hipertensão pré e pós-sinusoidal, com provável disfunção cardíaca subjacente^{36,37}. Hoje a classificação internacional de hipertensão pulmonar coloca a doença falciforme como uma causa dessa complicação por mecanismos multifatoriais¹⁰⁷. O valor prognóstico de mortalidade do VRT > 2,5 m/s, no entanto, ainda persiste³³.

Apesar de todas essas particularidades a maior parte da literatura não considera o miocárdio como alvo direto de agressão da anemia falciforme, mas sim alterado pela adaptação crônica à anemia. A maior disponibilidade do uso do ecocardiograma possibilitou avaliar pacientes em diversas condições clínicas e experimentais, testando essas hipóteses fisiopatológicas.

3.2.2 Estudos com ecocardiografia

A primeira descrição do ecocardiograma na doença falciforme é de Lindsay *et al* em 1974, em um artigo de revisão dos achados cardíacos da DF na edição comemorativa do *Annals of Internal Medicine* em alusão a publicação original de Herrick nessa revista²⁹. As técnicas ecocardiográficas desta época ainda eram rudimentares, sendo utilizado somente o modo-M, mas os autores mostraram nessa pequena série de pacientes a circulação hiperdinâmica com a presença de vigorosos movimentos da parede septal e posterior de ventrículo esquerdo. Foi observado com grande frequência HVE e menos comumente aumento das câmaras direitas. Em um paciente de 38 anos foi notado movimento septal anômalo (tipo B), que é correlacionado com HP. Embora o estudo hemodinâmico tenha encontrado uma HP leve (48/18 mmHg) a autópsia mostrou dilatação do ventrículo direito com parede ventricular medindo 9 mm (normal até 5 mm)¹⁰⁸. Esse conjunto de achados era coerente com a literatura, que mostra que o grau de HP medido por cateterismo raramente é tão elevado quanto nas HP clássicas, apesar de mortalidade similar¹⁰⁷. Essa pequena série mostrou também o potencial do ecocardiograma em diferenciar as alterações cardíacas dos falciformes das doenças valvares.

Gerry *et al*, em 1976, foram os primeiros a publicar uma série de casos com análise mais detalhada por ecocardiografia¹⁰⁹. Esse grupo da Johns

Hopkins analisou 23 pacientes SS de 16 a 53 anos (média de 29,5 anos) em comparação com 9 controles e posteriormente dividiu o grupo de falciformes em relação a idade, com ponto de corte em 30 anos (15 pacientes no grupo abaixo de 30 anos, 8 no grupo acima dessa idade). Esses pacientes eram ambulatoriais ou de alta hospitalar recente. A maioria desta população era feminina (14 pacientes), com somente 1 homem no grupo com mais de 30 anos. Além da ecocardiografia em modo M também era obtido um eletrocardiograma, fonocardiograma e medida do pulso carotídeo para determinação do intervalo de tempo sistólico. Em comparação com o grupo controle foram observados valores mais elevados do volume ventricular sistólico e diastólico com aumento da espessura do septo interventricular, do volume da aorta e do átrio esquerdo. Os volumes das câmaras direitas e da parede posterior de ventrículo esquerdo não eram diferentes do grupo controle. A fração de ejeção e o intervalo de tempo sistólico também não eram significativamente alterados. Quando os grupos em relação a idade foram comparados foi observado um pequeno aumento do átrio esquerdo, sem alterações dos demais índices. Gerry conclui que os achados eram semelhantes aos descritos nos estudos clínicos e patológicos, com evidências favorecendo a adaptação cardíaca a anemia de longa duração, sem características que permitiam afirmar a presença de uma miocardiopatia falciforme. Além disso ele também concluiu que não havia evidências de um dano cardíaco progressivo, como demonstrado pela diferença muito pequena dos índices na comparação pelos grupos etários.

Rees et al, em um artigo de 1978, usando técnicas ecocardiográficas similares às do grupo de Gerry compararam um grupo de 44 crianças com DF com idade média de 8,6 anos (2-14) com 28 crianças a de idade similar ¹¹⁰. Além disso eles separaram os pacientes em dois grupos de acordo com a ausência ou presença de sintomas cardiovasculares. Novamente foram observados aumento do volume das câmaras cardíacas, mas diferentemente dos achados de Gerry, foram encontradas evidências de redução dos índices de desempenho cardíaco (FE e ΔD) em relação ao grupo controle. Quando analisados em relação aos sintomas a diferença nos índices foi explicada pela presença de sintomas. Rees, ao tentar harmonizar seus dados com os de Gerry, sugere que por ter estudado uma população infantil talvez tenha flagrado um grupo que não chegou, pela gravidade do acometimento cardíaco, à vida adulta. Ele também sugere, sem

elaborar um mecanismo específico, uma possível melhora dos índices com o envelhecimento.

Nos anos seguintes houve um grande esforço para entender essas discrepâncias, alguns concordando com os achados de função sistólica esquerda normal no falciforme e outros encontrando alterações mesmo que sutis. Denenberg pondera que muitos dos índices usados para medir a função sistólica poderiam estar falseados pelo aumento de pré-carga e diminuição da pós-carga observado nos pacientes com anemia ¹¹¹. Utilização de índices de estresse da parede, que são independentes da carga, poderiam revelar essas alterações. Nos pacientes estudados por ele a relação estresse/volume sistólico final ($1,5 \pm 0,5$ em DF versus $2,6 \pm 0,6$ nos controles normais) e a inclinação (*slope*) da relação do estresse sistólico final versus índice de volume sistólico final ($2,7 \pm 1,3$ em DF versus $4,4 \pm 1,6$ em indivíduos normais) foi menor nos falciformes apontando para a presença de disfunção sistólica subjacente.

Diferentes artigos com populações pediátricas¹¹², gestantes¹¹³ e adultos mais velhos¹¹⁴ mostravam resultados semelhantes apesar de pequenas discrepâncias na interpretação da função sistólica e da presença conceitual da “miocardiopatia falciforme”. Além disso alguns autores começaram a descrever prevalência aumentada de prolapso de válvula mitral ^{115,116}. Esses autores postularam que a presença de PVM explicava alguns sintomas da DF e que seria decorrente de isquemia repetida de musculatura papilar¹¹⁷ ou do fenótipo de PX, hipertensão pulmonar e hipertrofia ventricular ^{115,118}.

Covitz, em nome do “*Cooperative Study of Sickle Cell Disease*” (CSSCD), publicou o maior artigo com ecocardiografia até então ¹¹⁹. Esse trabalho multicêntrico (4 instituições) avaliou 191 pacientes (116 mulheres). Os exames eram bem padronizados e lidos por um único investigador. Não se estudou crianças muito novas, 30% da casuística tinha de 13 a 19 anos, 41% de 20 a 29 anos e o restante com mais de 30 anos de idade. O estudo chegou à conclusão que não existia uma cardiopatia falciforme específica. Houve demonstração que o coração paciente falciforme apresentava dilatação de câmaras (especialmente átrio esquerdo), grande prevalência de hipertrofia ventricular, hipertrofia septal mas com contratilidade normal. Idade e anemia foram associadas com a severidade das alterações. Não se observou prevalência significativa de prolapso de válvula mitral, corroborando artigo prévio de Simmons¹¹⁴, e em 10%

dos pacientes foi visto derrame pericárdico pequeno, associado a gravidade da anemia.

Apesar desse grande estudo ainda havia controvérsia se a função sistólica era comprometida de forma sutil. Martins et al revisitou a hipótese de Denenberg e demonstrou que com o uso de um índice independente de carga (ESVi - relação estresse parietal sistólico final/índice de volume sistólico final) havia disfunção sistólica demonstrável¹²⁰. Lamers et al, em 2006, utilizou como índice de contratilidade o ESSm/VCF (Estresse da parede sistólica final do VE e velocidade corrigida pela taxa de encurtamento da fibra circunferencial). Esse índice é independente da pré-carga e estava abaixo do esperado em 12% dos falciformes¹²¹. Caldas et al avaliou 107 pacientes com IPM (*índice de performance miocárdica*) e demonstrou alterações sistólicas de ambas as câmaras ventriculares nesta população de crianças e adolescentes¹²². Estes resultados foram corroborados por Arslankoylu et al¹²³ e Eddine et al¹²⁴. Poludasu et al, em uma meta-análise de 2013 envolvendo 19 artigos concluiu que os pacientes com doença falciforme têm contratilidade miocárdica anormal quando avaliadas com medidas independentes de carga³⁴. As medidas dependentes de carga (como a fração de ejeção) são em geral normais mas pioram com o envelhecimento apesar de permanecerem em valores normais. A conclusão é de que a avaliação de função sistólica na doença falciforme tem de ser feita com parâmetros que sejam independentes da carga.

Técnicas de avaliação de deformação miocárdica (*strain*) começaram a ser usadas nos últimos 20 anos e também vem sendo utilizadas na avaliação da função sistólica. O *strain* é definido como uma mudança relativa do comprimento da fibra miocárdica¹²⁵. Como a contração causa um encurtamento da fibra o resultado expresso é em valores negativos. Áreas inativas do coração ou com falha de sincronização podem ter *strain* reduzido¹²⁶. O *strain* pode ser medido por técnicas de *Doppler* tecidual, utilizando a velocidade de movimentação relativa dos tecidos¹²⁷. Apesar de factível é muito dependente da técnica do examinador, pois exige alinhamento paralelo do feixe de ultrassom com a fibra muscular, sofrendo grande variabilidade. A técnica de STE (*Speckle Tracking*) substitui com vantagens ao permitir a análise sem exigência do alinhamento do feixe¹²⁸. Essa modalidade é baseada na presença de diferentes tonalidades de cinza no tecido miocárdico quando visualizado no modo B. Isso forma um padrão

“salpicado”, em manchas, que é chamado de *Speckle*. Cada região miocárdica apresenta um padrão relativamente distintivo e estável de *Speckles* que pode ser mapeado em diferentes momentos do ciclo cardíaco. Calculando a distância entre os *Speckles* possibilita o cálculo do *strain*¹²⁹. Um algoritmo possibilita a avaliação de diversas regiões miocárdicas e permite tanto o cálculo setorial quanto global da função contrátil. O índice GLS (*Global Longitudinal Strain*) é considerado um marcador bem sensível da função contrátil global¹³⁰. A técnica também pode ser usada no *strain* de átrio e no cálculo de trabalho miocárdico¹³¹. Há diversos trabalhos em doença falciforme utilizando essa técnica, com uma meta-análise de 2021 mostrando que houve valores reduzidos de GLS tanto para ventrículo esquerdo quanto para o direito quando comparado com controles normais, mas notando grande sobreposição com valores normais¹³². Os dois artigos com maior casuística não mostraram diferença com os valores dos controles, ressaltando a necessidade de mais trabalhos nessa área^{133,134}. Braga et al em 2015, mostrou que o GLS estaria preservado em crianças e adolescentes falciformes mas uma medida de avaliação de deformabilidade diferencial – o *twist* – estava alterado e se correlacionava com critérios de gravidade¹³⁵. Os autores teorizam que as fibras musculares subepicárdicas seriam lesadas mais precocemente do que as subendocárdicas. DiMaria et al, em 2015 mostram achados semelhantes em crianças na Tanzânia mas sem correlação com gravidade¹³⁶.

Uma outra característica que emergiu rapidamente a partir da introdução do ecocardiograma foi o reconhecimento da disfunção diastólica na doença falciforme. A primeira menção a essa complicação é de Covitz et al em 1983¹³⁷. Nesse trabalho foi avaliada a presença de disfunção cardíaca ao exercício, usando ecocardiograma associado a técnicas de cintilografia miocárdica e eletrocardiograma. Foram avaliados 22 pacientes adolescentes e adultos jovens (10-22 anos) com 12 controles de idade equivalente. Entre outros achados, foi observada diminuição do volume diastólico final de VE (VDFVE) no esforço máximo. Os autores apontaram que quando há queda da FE em situações de doença coronária ou estenose aórtica ocorria um aumento do VDFVE devido a diminuição do volume sistólico (*stroke*) e maior volume residual. Na evolução de uma insuficiência aórtica pode ocorrer redução do VDFVE, mas isso é interpretado como redução da regurgitação. No caso dos falciformes – tendo sido

afastado qualquer patologia valvar – a diminuição do VDFVE provavelmente seria decorrente de enchimento ventricular incompleto – um quadro de disfunção diastólica. Um segundo artigo, deste mesmo grupo, a avaliação ecocardiográfica foi mais minuciosa, mostrando que as alterações diastólicas são independentes de qualquer disfunção sistólica associada mesmo em níveis elevados de esforço físico. Além disso mesmo pacientes com espessura normal de miocárdio apresentavam essas evidências de disfunção diastólica ¹³⁸.

Lewis et al, em 1991, utilizou pela primeira vez o *Doppler* para avaliação de disfunção diastólica pelo estudo do fluxo transmitral ¹³⁹. Estes autores encontraram em 17 de 30 pacientes adultos jovens (19 a 39 anos) assintomáticos evidências de disfunção diastólica. Em 20% dos pacientes era possível observar inversão da relação E/A, que reflete a contribuição do esvaziamento atrial para o enchimento ventricular (E – esvaziamento rápido – relativamente reduzido em caso de alterações do relaxamento diastólico; A – esvaziamento decorrente da sístole atrial – aumentado para vencer a resistência ao esvaziamento passivo). No restante dos pacientes o tempo de desaceleração da onda E estava aumentado. Veille et al, estudando gestantes falciformes, onde essas mudanças poderiam estar acentuadas, encontrou achados semelhantes ¹¹³.

O grande trabalho do grupo CSSCD¹¹⁹ não estudou diretamente a função diastólica mas diversos outros grupos seguiram essa linha de investigação mostrando esse padrão entre 11-77%⁵⁴. Essa grande variabilidade na taxa de diagnósticos ocorre pelas diferentes definições de disfunção diastólica e pela dificuldade em ter medidas confiáveis pelas características hemodinâmicas dos pacientes. Pré-carga aumentada, pós-carga reduzida e aumento do débito cardíaco afetam as métricas ecocardiográficas de disfunção diastólica. Avaliações com exercício ¹⁴⁰, sobrecarga de volume¹⁴¹ ou *Tilt Test* ¹⁴² revelam parte desses casos.

O grupo de Sachdev et al encontrou 18% de disfunção diastólica, com mortalidade aumentada nesse grupo ¹⁴³. O valor preditivo para a mortalidade é mantido mesmo quando os marcadores de disfunção diastólica são avaliados como variável contínua, mostrando que a disfunção diastólica provavelmente já está presente mesmo quando os índices não preenchem os critérios das diretrizes internacionais. Há observação de maior mortalidade como valores de

e' septal baixa, E/A ainda não invertidos e E/e' >8. A disfunção diastólica integrada a outras variáveis clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas foi utilizada para compor um escore preditivo de mortalidade.

A causa da disfunção diastólica permanece em aberto. Na população geral há diversos fatores etiológicos, mas o mais comum é o regime de hipertensão arterial sistêmica, diabetes e o processo do envelhecimento ¹⁴⁴. Apesar do envelhecimento da população falciforme ¹⁴⁵, a prevalência de diabetes¹⁴⁶ e de hipertensão arterial¹⁴⁷ tende a ser mais baixa que na população geral. Alguns autores postulam que para o grau de anemia a pressão arterial teria de ser mais reduzida ^{147,148} e contribuiria para a disfunção diastólica¹⁴⁹. Outros autores acreditam que a anemia *per se* está associada com alterações ecocardiográficas, eventualmente causadas pelo *mismatch* na oferta de oxigênio aos tecidos, tendo sido observada também na anemia ferropriva ¹⁵⁰. Sobrecarga de ferro cardíaco, apesar de não ser um padrão característico, pode agravar alguns casos³². As lesões de isquemia-reperfusão, ativação do sistema renina-angiotensina e a própria hipertrofia miocárdica também poderiam estar implicadas ¹⁵¹.

Tap et al , em 2001, realizaram biópsia endomiocárdica do ventrículo direito em 10 pacientes homocigotos SS de 15 a 29 anos com alterações diastólicas ao ecocardiograma ¹⁵². Não há detalhes desses ecocardiogramas ou comparação com as características ultramicroscópicas observadas. Os autores notaram fibras normais em alguns cortes mas na maior parte foram vistas alterações estruturais. Eram observadas degeneração sarcossomal, dilatação da cisterna reticular sarcoplasmática, aumento das gotículas lipídicas e de glicogênio e picnose nuclear. Os capilares estavam obliterados com células falcizadas, eritroblastos e plaquetas. No núcleo eram observados agregados de heterocromatina. As estriações transversas não eram visíveis nas fibras musculares degeneradas. De permeio fibras de colágeno eram vistas especialmente nas áreas mais degeneradas. Todas essas mudanças são associadas com a hipoxia tecidual. As mudanças dos sarcossomos eram especialmente relevantes. As enzimas do ciclo de Krebs e do ciclo dos ácidos graxos estão situadas na matriz sarcossomal enquanto as enzimas respiratórias estão ligadas às membranas dessas organelas. A falta de geração adequada de ATP levaria à utilização inadequada da glicose e acúmulo de gotículas de

glicogênio próximas ao sarcossoma. Os autores sugerem que essas alterações da maquinaria energética sejam implicadas nas disfunções sutis de desempenho sistólico do músculo cardíaco observadas em outros estudos. De permeio, especialmente em áreas com alterações degenerativas, há extensas áreas de fibrose. Esse tipo de acometimento poderia explicar a disfunção diastólica?

3.2.3 Uma teoria unificadora

Na fase inicial de compreensão dos aspectos clínico-patológicos e fisiológicos das repercussões cardíacas da doença falciforme vimos um grande esforço em individualizar se não há comorbidades como a febre reumática, a doença aterosclerótica coronariana e a sobrecarga de ferro. Apesar da anemia crônica explicar boa parte das manifestações intrigava a severidade das manifestações cardíacas. O DC, por exemplo, é elevado na DF com valores de Hb de 10 g/dl em contraste com o valor de 7 g/dL nas outras anemias ²⁹.

Recentemente a caracterização ecocardiográfica mostrou danos diastólicos precoces e sinais de hipertensão pulmonar. Apesar da HP ter um papel importante na clínica e na fisiopatologia de uma proporção significativa dos pacientes não explicava as alterações observadas na maioria dos indivíduos. O aspecto mais intrigante era persistência do valor preditivo de mortalidade conferido pelo aumento da VRT, mesmo na ausência de verificação de HP em estudos invasivos . Recentemente o grupo de Cincinatti ^{39,40,44}, propôs uma teoria unificadora para explicar a doença cardíaca e os achados fisiopatológicos.

A proposta deste grupo é de que o falciforme tenha uma fisiologia restritiva, conferida pela disfunção diastólica causada pelo enrijecimento das paredes miocárdicas pela fibrose do miocardio.

As principais características desta miocardiopatia falciforme seriam:

- (1) disfunção diastólica
- (2) dilatação do átrio esquerdo
- (3) aumento do ventrículo esquerdo com função sistólica normal

Nas miocardiopatias restritivas primárias os ventrículos são caracteristicamente de tamanho normal ¹⁵³, francamente distintos das miocardiopatias dilatadas com disfunção sistólica. Na DF o aumento do VE está associado a função sistólica grosseiramente preservada ¹¹⁹ . Portanto, a

dilatação do VE é uma característica que coexiste de forma paradoxal com a fisiologia restritiva no coração falciforme. A explicação proposta é que a *fisiologia restritiva esta sobreposta a um regime circulatório hiperdinâmico* (Figura 1).

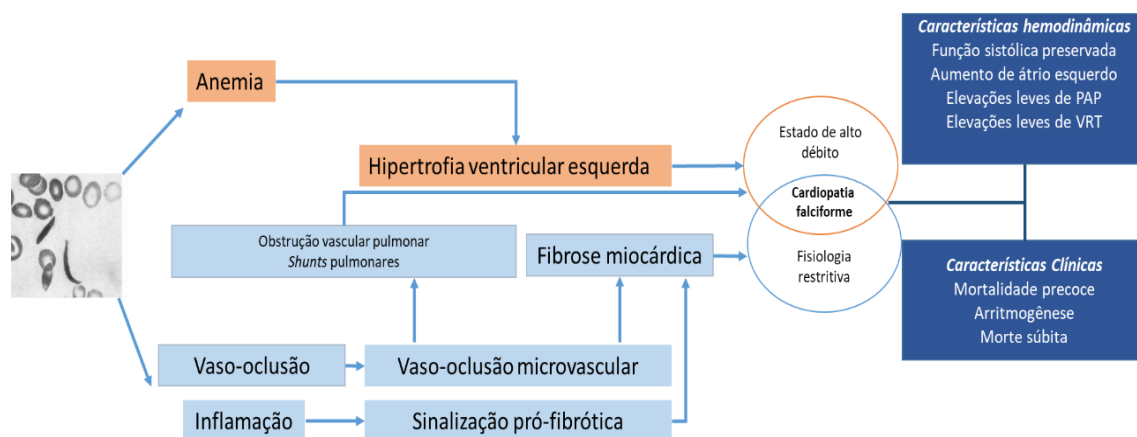


Figura 1 – Modelo proposto de fisiopatologia das alterações cardíacas na Doença Falciforme (adaptado de Niss e Quinn⁵⁴)

Isso poderia esclarecer os discretos aumentos de VRT, pois pequenas elevações de volume aumentariam as pressões em um sistema restritivo e elucidaria a causa da disfunção diastólica. Além disso seria uma explicação elegante para o aumento das mortes súbitas, um padrão compartilhado pelas miocardiopatias restritivas. A associação com real hipertensão arterial pulmonar poderia ocorrer em grupos de pacientes com lesões mais proeminentes do leito arterial, mas não invalidaria o contexto. A explicação, no entanto, só fecharia totalmente explicando a causa da disfunção diastólica.

Tanto os achados de imagem quanto os de autópsia mostram sinais de fibrose, mas em vários padrões e de forma inconsistente. Raman¹⁵⁴ e Westwood¹⁵⁵ encontraram alterações fibróticas em falciformes não transfundidos, mas com distribuição que não justificava disfunção cardíaca¹⁵⁶. Nenhum estudo patológico usou colorações específicas para realçar a presença de fibrose – as observações são em geral baseadas na avaliação de hematoxilina-eosina e isso pode fazer com que a fibrose seja ignorada. Os estudos de RNM que usam realce tardio do gadolínio também vem dando resultados inconsistentes, mas esta técnica baseia-se na detecção de diferenças no realce entre a área afetada e o tecido miocárdico normal, ou seja, não

detectará fibrose miocárdica *difusa*, que seria o necessário para explicar esses achados⁷³. Niss et al (2017) usando medidas de RNM cardíaca com avaliação da fração de volume extracelular quantificou fibrose miocárdica difusa em 25 indivíduos falciformes e conseguiu associar isso com os parâmetros de disfunção diastólica⁴⁰. A severidade da fibrose não é observada em nenhuma outra doença e está claramente presente em modelos animais que compararam a miocardiopatia falciforme com modelos de anemia ferropriva¹⁵⁷. Autópsias feitas em nosso serviço ilustram essa fibrose intersticial difusa (Figura 2)

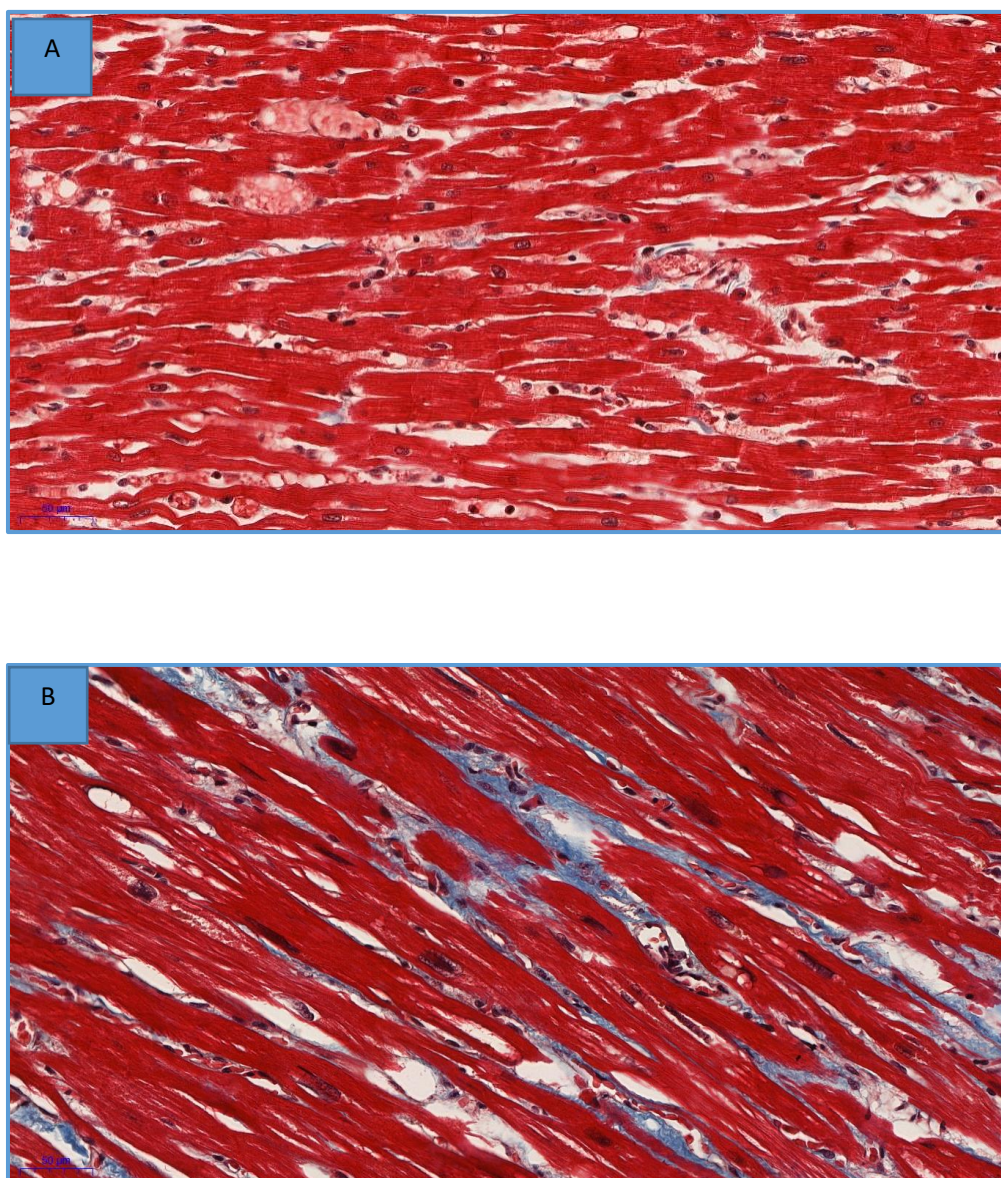


Figura 2 – Fotomicrografia de tecido miocárdico - Coloração Tricrômica de Masson (aumento de 20 X) . Imagem A - paciente SC; 38 anos, deposição de fibrose de baixo grau. Imagem B – Paciente SS; 38 anos, deposição intensa de fibrose em miocárdio (Cortesia da Prof.Dra. Thaís Mauad, Jôse Mára de Brito)

No trabalho original de Niss et al ³⁹houve associação de fibrose miocárdica com os níveis de NT-pró-BNP, um biomarcador cardíaco associado à distensão das câmaras cardíacas. Nossa proposta é avaliar se valores de hs-TcT, hs-Tcl e outros biomarcadores, como o ST2s e galectina-3 seriam associados com achados semelhantes e seja um marcador da disfunção cardíaca do falciforme. A utilização de exames pouco invasivos que possam ser seriados poderia auxiliar também na racionalização do uso do ecocardiograma. Apesar de ser um instrumento de diagnóstico amplamente disponível há grande variação técnica em sua realização, boa parte dos parâmetros das pesquisas não são feitos rotineiramente e a interpretação pode ser difícil pelas características hemodinâmicas desses pacientes. Exames que nos auxiliem na determinação de probabilidades pré-teste poderiam reduzir essas incertezas e direcionar a utilização e interpretação mais apropriada do ecocardiograma. A literatura mostra que alguns desses biomarcadores também teriam valor preditivo de mortalidade não cardiovascular. Os mecanismos de geração dessas moléculas podem estar alterados na Doença Falciforme e seus valores podem estar correlacionados com diferentes manifestações clínicas da doença.

3.3 BIOMARCADORES CARDÍACOS

O primeiro uso registrado da palavra “*biomarker*” é de 1973 em um artigo que descrevia a possibilidade de usar a dosagem de porfirinas como marcador *literal* de vida nas rochas lunares coletadas pelas missões Apollo¹⁵⁸. Hoje esse termo é amplamente usado em diversos outros campos de conhecimento incluindo a medicina.

Há pelo menos 16 definições de biomarcador na literatura mas a mais aceita é aquela da *Biomarkers Definitions Working Group* (2001)¹⁵⁹ e adotado pelo BEST (Biomarkers, EndpointS and other Tools)¹⁶⁰, um grupo conjunto do NIH/FDA, como *características que são objetivamente medidas e avaliadas como indicadores de processos biológicos normais, estados patológicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica*. Os biomarcadores podem tanto ser substâncias dosadas em fluidos como informações radiológicas, histológicas, moleculares e fisiológicas. O uso de metadados e informações digitais também já são explorados com esse objetivo¹⁶¹.

O BEST classifica os biomarcadores em sete tipos: de avaliação de risco, diagnósticos, de monitorização, prognósticos, preditivos, de resposta e de segurança. A definição original do *Biomarkers Definitions Working Group* agrega os biomarcadores em 3 tipos: tipo 0 (marcadores de história natural), tipo 1 (marcadores de atividade da doença), tipo 2 (*surrogate markers* ou marcadores de desfecho).

Nas doenças falciformes o uso de biomarcadores é atraente por causa da heterogeneidade clínica dos pacientes e da expansão das diferentes modalidades de tratamento. Com a evolução das técnicas analíticas mais de 100 biomarcadores já foram identificados e testados na doença falciforme¹⁶². Rees e Gibseon os subclassificam em 12 diferentes tipos (Quadro 1)¹⁶². Kalpatthi e Novelli os dividem de acordo com a utilização nas principais complicações clínicas (Quadro 2)¹⁶³.

Quadro 1 – Biomarcadores de acordo com área de interesse em fisiopatologia da Doença Falciforme

Área de interesse	Biomarcador
Polimerização de HbS	HbF, HCM,
Hidratação celular	Células irreversivelmente falcizadas, densidade celular
Rigidez celular	Filtrabilidade celular, viscosidade, ectacitometria,
Moléculas de adesão	Proporção fosfatidilserina/fosfatidilcolina, CD36 reticulocitário, expressão de VLA4,
Adesão leucocitária	Contagens de leucócitos, moléculas de adesão leucocitária (pe L-selectina)
Moléculas solúveis de adesão	sICAM1, sVCAM1, p-selectina, e-selectina, fibronectina
Marcadores de inflamação	PCR, VHS, fosfolipase A2, IL (1 β , 2, 3, 4, 6, 8, 10)
Hemólise	Reticulócitos, haptoglobina, AST, DHL, hemoglobina livre
Anemia/hipoxemia	Hemoglobina, SatO2
Estresse oxidativo e lesão de reperfusão	Melatonina, albumina sérica modificada, TBARS, tocoferol, eicosanoides, glutathione e glutamina eritrocitária, peroxidase
Hipercoagulabilidade	D-dimero, TAT, proteína C e S, plaquetas
Metabolismo do óxido nítrico	Arginina, arginase, relação arginina/ornitina,
Vasculopatia	Triglicérides, Apolipoproteína A1, células endoteliais circulantes, VEGF, PIGF, ET-1
Orgão-específicos	Hipoesplenismo (Howel-olly, pitted cells), doença renal, doença óssea
Doença cardíaca	NT-pró-BNP. troponinas

Adaptado de Rees DC, Gibson JS. Biomarkers in sickle cell disease. Br J Haematol. 2012 Feb;156(4):433-45¹⁶²

Quadro 2 – Biomarcadores de acordo com complicações clínicas

Tipo de complicação	Característica	Biomarcador
Evento Vaso-oclusivo	Fisiológica	Idade
	Laboratório de rotina	Hb elevada, HbF reduzida, co-herança com α -tal, hipovitaminose D
	Molecular	Trombospondina 1 elevada, VCAM solúvel, razão apelina / endotelina 1 diminuída
STA	Fisiológica	Idade, hiperresponsividade das vias aéreas, sensibilização a aeroalérgenos
	Laboratório de rotina	Hb elevada, HbF reduzida, leucocitose, trombocitopenia aguda
	Molecular	Fosfolipase A2 secretora
Fibrose Pulmonar	Molecular	Fibrócitos circulantes
AVE Isquêmico	Fisiológica	Hipertensão sistólica relativa
	Laboratório de rotina	Hb reduzida, HbF reduzida, leucocitose, ausência de α -tal
	Imagem	Alta velocidade de fluxo de carótidas ao DTC, presença de infartos cerebrais silenciosos, síndrome de Moyamoya
AVE Hemorrágico	Imagem	síndrome de Moyamoya, aneurismas saculares
Disfunção Cognitiva	Laboratório de rotina	Hb baixa
Hipertensão Pulmonar	Fisiológica	Distância do TC6M < 333 m
	Laboratório de rotina	NT-pró-BNP > 166 ng/L
	Imagem	VRT \geq 2,8 m/s
Disfunção Renal	Fisiológica	Hipertensão, Atenuação da queda da PAS noturna
	Laboratório de rotina	Microalbuminúria, hemoglobinúria
	Molecular	Cistatina C, NAG e proteína transmembrana tubular proximal KIM-1 urinária
Infarto Renal Papilar	Laboratório de rotina	Hematúria
Hemossiderose	Laboratório de rotina	Ferritina, Saturação de transferrina
	Imagem	Estimativa de ferro por RNM cardíaca e hepática
Hepatopatia aguda	Imagem	Aumento da rigidez do fígado por elastografia transitória
Complicações gestacionais	Molecular	Fator de crescimento placentário
Pior prognóstico geral	Laboratório de rotina	Hb <7 g/dL, Hb F baixa, leucocitose basal, deficiência de G6PD, reticulocitose
	Imagem	VRT > 2,5 m / s, alta velocidade ao DTC
Melhor prognóstico geral	Laboratório de rotina	Co-herança com α -tal
	Molecular	Haplótipos Senegal e árabe-indianos

Fonte: Kalpatthi R, Novelli EM. Measuring success: utility of biomarkers in sickle cell disease clinical trials and care. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018 Nov 30;2018(1):482-492¹⁶³

Abreviaturas: α -tal – alfa-talassemia; AVE – Acidente Vascular Encefálico; DTC - *Doppler* transcraniano; G6PD – glicose 6 fosfato desidrogenase; Hb – hemoglobina; HbF –hemoglobina fetal; KIM-1 - *kidney injury molecule 1* ;NAG - acetyl-b-d-glucosaminidase; RNM- ressonância nuclear magnética; VCAM - *Vascular cell adhesion molecule-1*, VRT – velocidade de refluxo da tricúspide

A doença falciforme tem várias manifestações ou repercussões cardíacas, onde o uso de biomarcadores é útil visando diagnóstico, estratificação prognóstica e monitorização de tratamentos.

Há diversos biomarcadores já em uso clínico na cardiologia geral ⁵⁰. Pela grande importância epidemiológica e falta de especificidade dos principais sintomas das síndromes coronarianas e da insuficiência cardíaca, há uma busca contínua por incorporação de novos marcadores ou pela melhora do desempenho analítico dos testes já disponíveis (Quadro 3)⁶³. Os biomarcadores mais comuns na avaliação cardiológica são os da família do BNP e as troponinas ^{47,50}. Entre os novos marcadores estão incluídos a proteína ST2 e a galectina 3. Detalhamos em seguida seu uso na clínica geral e evidências disponíveis na doença falciforme.

Quadro 3 – Biomarcadores cardíacos na população geral – classificação por via fisiopatológica

Via Fisiopatológica	Exemplos de Biomarcadores
Estresse do miócitos	BNP; N-terminal pró-BNP; N-terminal peptídeo pró-atrial natriurético; MR-proADM; ST2 solúvel
Lesão de miócitos	Troponinas T e I; fração MB da creatino-quinase; quinase da cadeia leve da miosina; pentraxina 3 ; proteína ligadora de ácidos graxos de tipo cardíaco; proteínas <i>heat-shock</i>
Inflamação	Proteína C Reativa; Receptores solúveis de TNF α e β ; citocina (por exemplo - Interleucinas 1,6 e 18) ; adiponectina; ST2 solúvel; pentraxina 3; osteoprotegerina; procalcitonina
Estresse oxidativo	LDL oxidada; mieloperoxidade; biopirinas urinárias; isoprostanos; malondialdeído plasmático;
Neuro-hormônios	Norepinefrina; renina; angiotensina II; aldosterona; vasopressina/copeptina; endotelina; comogranina; adrenomedulina; MR-pró-ADM (Proadrenomedulina medio-regional)
Remodelação de matrix extracelular	MMP (metaloprotease da matrix); inibidores teciduais de MMP; propeptídeos (procolágeno tipo 1, procolágeno tipo 3); galectina-3; ST2 solúvel; GDF 15 (fator de diferenciação do crescimento)
Síndrome cárdio-renal	Creatinina sérica; Cistatina-C; relação albumina/creatinina urinária; gelatinase neutrofílica associada a lipocalina; proteína traço β ;
Outros	Hemoglobina; albumina sérica; RDW; moléculas de adesão vascular

Fonte - Vallejo-Vaz AJ. Novel Biomarkers in Heart Failure Beyond Natriuretic Peptides - The Case for Soluble ST2. *Eur Cardiol.* 2015 Jul;10(1):37-41⁶⁴

3.3.1 Peptídeos natriuréticos

O peptídeo natriurético atrial (ANP) foi descrito pelo pesquisador argentino radicado no Canadá Adolfo De Bold em 1981¹⁶⁵, com sua expressão gênica descrita nos ventrículos por Nemer em 1982¹⁶⁶. O BNP (peptídeo natriurético cerebral) foi descoberto por Sudoh em 1988 em cérebros porcinos e daí sua denominação original (tipo B – *brain*)¹⁶⁷. Nos anos 90 foi descrito o CNP (peptídeo natriurético tipo C). O CNP não é tem função natriurética por faltar a porção biologicamente ativa responsável por essa ação mas parece ser um importante regulador do crescimento vascular. É expresso no cerebelo, hipotálamo, hipófise anterior, rim e células endoteliais vasculares.

A descoberta da ação do BNP expandiu o campo da cardio-endocrinologia e a elucidação do eixo de regulação desses peptídeos permitiu a expansão do seu uso no diagnóstico de insuficiência cardíaca, na compreensão dos mecanismos moleculares de resposta ao estresse cardíaco, do desenvolvimento embrionário do coração e de novos alvos terapêuticos. Quando de Bold comemorou 30 anos da descoberta do ANF já haviam mais de 25.000 artigos publicados sobre essa família de moléculas¹⁷⁰.

O BNP é sintetizado como um pré-pró-hormônio com 134 resíduos de aminoácidos e liberado pelo estiramento tanto dos cardiomiócitos atriais quanto ventriculares, em proporções ainda não claras e provavelmente influenciadas pelo grau de hipertrofia ventricular¹⁶⁹. Após a remoção de uma sequência sinal de 26 aminoácidos ele é convertido em pró-BNP, com 108 aminoácidos. O Pró-BNP sofre clivagem proteolítica pela corina e furina. Os resíduos resultantes são a molécula biologicamente ativa do BNP com 32 aminoácidos (a porção C-terminal) e um fragmento N-terminal biologicamente inativo (NT-pró-BNP) com 76 aminoácidos¹⁷¹. Várias outras proteases são descritas agindo sobre o BNP, com sua ação sendo regulada pela glicosilação dos sítios de clivagem ou pelos níveis dessas proteases no sangue periférico, que por sua vez também tem níveis variáveis e sujeitos a influências genéticas ou ambientais. Os valores de BNP e dos peptídeos resultantes também são influenciados pelos valores de citocinas circulantes e a ação destas sobre a regulação gênica¹⁷⁰.

O BNP e o NT-pró-BNP são produzidos e liberados em concentrações equimolares mas os níveis de NT-pró-BNP são superiores aos do BNP por ter uma meia-vida plasmática 6 vezes maior (90-120 minutos). Apesar do NT-pró-BNP não ter função fisiológica ele é o mais usado na prática clínica pois sua maior concentração plasmática facilita a dosagem do ponto de vista analítico, tornando os resultados mais reprodutíveis¹⁷². Os valores de ambas as moléculas sobem com a idade e com a disfunção renal e seus níveis de corte são ajustados para essas variáveis. Diferente do NT-pro-BNP, que é exclusivamente eliminado pela excreção renal, o BNP plasmático também é continuamente eliminado do plasma por endopeptidases e captura de receptores e assim os valores são menos dependentes da taxa de filtração glomerular. O BNP pode, portanto, ser mais apropriado para uso em indivíduos com doença renal. Na faixa pediátrica, especialmente até a idade de 1 ano, os valores tendem a ser mais elevados⁴⁹.

O BNP é liberado na circulação em resposta ao estiramento dos cardiomiócitos, o que vai ocorrer na sobrecarga de volume ou de pressão. Em sua ação fisiológica mais intuitiva, a liberação dessas substâncias causa diurese com diminuição do volume intravascular. Diversos trabalhos nas últimas décadas mostram que esses hormônios têm efeitos variados em diferentes sistemas, agindo não só como um hormônio contra-regulatório ao excesso de volume/pressão, mas também no tônus vascular e na sinalização fibrótica do miocárdio. O advento de modelos animais permitiu elucidar a interação desses peptídeos com receptores específicos e seu papel no desenvolvimento embrionário do sistema cardiovascular. Vários tecidos não-cardíacos secretam BNP permitindo postular sua ação no sistema imune, reprodutivo e neurológico.

O BNP é utilizado como biomarcador em diversas doenças. Ele é o marcador de escolha na avaliação de insuficiência cardíaca aguda, dispneia de origem cardíaca, rejeição aguda de transplante cardíaco e na estratificação de risco de hipertensão pulmonar, hipertensão sistêmica e fibrilação atrial. Seus níveis são preditivos de complicações da obesidade, diabetes, síndrome metabólica e fibrose miocárdica¹⁶⁹⁻¹⁷¹.

O diagnóstico de insuficiência cardíaca crônica pode ser excluído na presença de uma dosagem de BNP < 35 pg/mL ou NTproBNP < 125 pg/mL. Para

o diagnóstico diferencial de dispneia aguda, a insuficiência cardíaca aguda pode ser excluída na presença de um BNP < 100 pg/mL ou NTproBNP < 300 pg/mL^{50,173}.

Em DF o primeiro trabalho usando dosagens de NT-pró-BNP é de 2006 com a ideia de usá-lo como marcador de gravidade de hipertensão pulmonar⁴⁹. Seus níveis foram medidos em 230 participantes do *National Institutes of Health (NIH) Sickle Cell Disease–Pulmonary Hypertension Screening Study* e em 121 amostras de pacientes arrolados a partir de 1996 no *MSH Patients' Follow-up Study*. Esse trabalho mostrou que o valor médio de NT-pró-BNP no paciente falciforme era superior ao da população controle (72 pg/mL X 29 pg/mL). Valores elevados foram correlacionados com marcadores ecocardiográficos de hipertensão pulmonar e de função ventricular direita. Apesar de estar correlacionado com marcadores de disfunção diastólica não foi demonstrada associação com alterações em fração de ejeção do ventrículo esquerdo ou de dimensões do ventrículo esquerdo. De forma mais significativa, valores elevados de NT-Pró-BNP foram correlacionadas com piores medidas funcionais (teste de caminhada de 6 minutos e pico de consumo de oxigênio) e com parâmetros de cateterismo cardíaco (pressões sistólica, diastólica e média da artéria pulmonar; resistência vascular pulmonar e o gradiente de pressão transpulmonar) indicativos de hipertensão pulmonar. O impacto sobre a mortalidade foi avaliado no braço do estudo avaliando o grupo do *MSH Patients' Follow-up Study*. Após 40 meses de seguimento a sobrevida cumulativa foi de 94% em pacientes com níveis de NT-pro-BNP de 30 pg/mL ou menos (25º percentil) e 93% naqueles com níveis entre 30 pg/mL e 160 pg/mL. Já nos pacientes com NT-pro-BNP maior que 160 pg/mL (75º percentil) a sobrevida foi de 74%. Houve correlação na análise multivariada com a VRT e com valores de ferritina, sendo independente de outros parâmetros tipicamente associados com mortalidade (idade, hemoglobina fetal, idas ao serviço de emergência).

Voskaridou et al em 2007¹⁷⁴ e Mokhtar et al¹⁷⁵ (2010) observaram achados semelhantes em relação aos parâmetros ecocardiográficos de hipertensão pulmonar. Aliyu et al¹⁷⁵ (2010), na Nigéria, mostrou correlação com critérios de gravidade da doença, como observado também por Feld¹⁷⁷ em 2021 (com relação a alterações ecocardiográficas e espirométricas) e Minitti et al¹⁷⁸ em

2011, que estudou especialmente úlceras de membros inferiores. Takatsuki et al¹⁷⁹ mostrou correlação dos valores de NT-pró-BNP com marcadores de disfunção diastólica ao *Doppler* tecidual. Em contrapartida Van Beers et al¹⁸⁰, do grupo CURAMA, não encontrou associação entre VRT e valores de BNP/NT-pró-BNP. Nesse trabalho, que incluiu também genótipos mais brandos, o nível dos biomarcadores foi correlacionado com o grau de anemia e com disfunção renal mas não com alterações ecocardiográficas. Trabalho posterior desse mesmo grupo encontrou associação com mortalidade, mas novamente não encontrou associação com alterações ecocardiográficas de HP¹⁸¹.

Machado et al⁴⁹, em 2011, mediu o NT-Pró-BNP em uma parte da coorte de *Cooperative Study of Sickle Cell Disease*. No grupo de pacientes adultos com valores de NT-pró-BNP maior que 160 pg/ml (27,6% da população) a mortalidade foi maior do que do restante da coorte (risco relativo de morte foi de 6,94). No grupo pediátrico a relação foi menor, tanto pela particularidade de valores normalmente mais altos na infância (especialmente antes de 1 ano de idade) quanto a maior reserva cardio-pulmonar da criança, tornando esses órgãos menos vulneráveis às intercorrências vaso-oclusivas. Em 2014 Gladwin et al confirmou associação prognóstica entre mortalidade e valores do NT-pró-BNP em uma coorte conjunta de adultos dos EUA e Reino Unido¹⁸².

Além do uso na previsão de gravidade clínica, Parent et al³⁶ propõe que esse biomarcador possa ser usado em algoritmos para prever necessidade de cateterização cardíaca em pacientes com suspeita de hipertensão pulmonar. Esse trabalho ajudou a mostrar que o mecanismo da HP em DF é multifatorial e que o ecocardiograma pode superestimar a real prevalência ao usar um corte de 2,5 m/s de VRT. Para melhorar o desempenho diagnóstico e minimizar a realização de cateterismos não-diagnósticos a proposta, não validada prospectivamente, mas também aventada por Rai¹⁸³, seria de acoplar a dosagem de NT-pró-BNP e teste de caminhada de 6 minutos (T6CM) ao ecocardiograma. Pacientes com VRT maior que 2,9 deveriam fazer cateterismo pela alta probabilidade de diagnóstico de HP. Nos pacientes com VRT entre 2,5 e 2,9 o cateterismo deveria ser realizado caso a dosagem de NT-pró-BNP fosse maior que 164,5 pg/mL ou T6CM fosse executado com menos de 333 metros.

Minitti et al¹⁷⁸ usou o NT-pró-BNP como marcador indireto da resposta da doença falciforme a ação farmacológica do Senicapoc. Outros estudos com medicações também estão usando o NT-pró-BNP como parâmetro de melhora. Além disso seu uso vem sendo proposto na identificação de pacientes elegíveis para transplante de medula óssea e para acompanhamento após o tratamento¹⁸⁴. Em menos de 20 anos desde a primeira descrição do seu uso o NT-pró-BNP tornou-se um marcador extremamente importante em DF.

3.3.2 NOVOS BIOMARCADORES

3.3.2.1 ST2 solúvel

ST2 (*supression of tumorigenicity-2*) é um membro da família de receptores da Toll-like/IL-1, descrito em 1989 por Tominaga¹⁸⁵. O próprio descobridor questiona o nome da molécula preferindo chamar de “Serum Stimulation-2”, pois quando descrito sua ação principal era na mediação da resposta inflamatória do tipo 2¹⁸⁶. Em 2005 foi descrito que seu ligando é a interleucina 33(IL-33). Dois anos antes Weinberg demonstrou a elevação do ST2 solúvel em modelos animais de IAM¹⁸⁸.

O ST2 é expresso em duas isoformas: uma solúvel (ST2s) e outra ligada à membrana (receptor ST2 ou ST2L)¹⁸⁶. Este é o ligando da IL-33 que age no miocárdio inibindo a apoptose, reduzindo a fibrose cardíaca e a hipertrofia miocárdica por meio de um efeito antagônico à angiotensina II e fenilefrina¹⁸⁸. A IL-33 é constitucionalmente expressa nos núcleos de diversos tipos celulares e serve como sinalizador de perigo, uma “alarmina”, sendo liberada após lesão tecidual¹⁹⁰. O ST2 solúvel é produzido por cardiomiócitos lesados e por fibroblastos e age como um falso receptor, uma armadilha (*decoy*) solúvel, que sequestra a IL-33 reduzindo sua disponibilidade e a consequente ativação do ST2L¹⁶⁴. A IL-33 quando em sua posição na heterocromatina reprime a transcrição do ST2 solúvel. A hipótese é de que quando há lesão tecidual a IL-33 é liberada de sua posição nuclear e libera o bloqueio da produção de ST2s¹⁹⁰.

O equilíbrio entre a IL33 e o ST2 solúvel mantém a resposta inflamatória equilibrada. O excesso de ST2 solúvel está ligado à supressão dos efeitos

benéficos da IL-33 no miocárdio e vem sendo estudado na última década como um biomarcador de importância diagnóstica e prognóstica no Infarto Agudo do Miocárdio e na Insuficiência Cardíaca¹⁶⁴.

O nível normal de ST2 solúvel é de 35 ng/mL, com 95% dos indivíduos com valores abaixo deste nível¹⁹¹. Acredita-se que valores de ST2 superiores a 70 ng/ml estão ligados à ativação das vias pró-fibróticas e de remodelamento cardíaco. Há uma variação circadiana, com valores mais altos no período noturno e mais elevados nos homens¹⁹². De forma marcante não há interferência da função renal na dosagem, uma característica que o diferencia do NT-pró-BNP¹⁹³.

Como o ST2s está envolvido em vários braços da resposta imune, ele não é específico do sistema cardiovascular. O ST2s está elevado^{186,193} na sepse, neoplasias malignas, doenças fibrosantes, como dermatite atópica, infecção crônica por hepatite C, asma e após transplante alogênico de medula óssea, com papel prognóstico na doença crônica do enxerto versus hospedeiro¹⁹⁴.

Em 90% dos pacientes com IC aguda há elevação da ST2 solúvel, com mortalidade diretamente proporcional aos seus valores. Em pacientes com dosagens no 90º percentil a mortalidade em um ano é de 50%. Além do valor prognóstico, que se mantém tanto na IC com fração de ejeção (FE) reduzida quanto na de FE normal, quedas de ST2s durante tratamento são preditivos de resposta e de taxas de reinternação. Em pacientes com IC crônica o valor de ST2s se mantém preditivo¹⁹⁵.

Apesar da ST2s estar implicada na sinalização pró-fibrótica do coração suas rápidas variações não mostram a quantidade total de fibrose mas sim o quanto as vias pró-fibróticas estão ativadas¹⁹¹. Como sinaliza esse tipo de evento agudo é atraente imaginar que é um biomarcador interessante quando somado com outros exames que avaliaram remodelamento cardíaco. Não há trabalho sobre ST2s em doenças falciformes apesar de ser conhecido o fato de que a IL-33 está aumentada na DF¹⁹⁶.

3.3.2.2 Galectina-3

Galectinas são uma classe de 15 proteínas diferentes, expressas de forma variada no reino animal, que se ligam especificamente aos açúcares do tipo β -galactosídeo, também denominadas S-Lecitinas pela sua dependência de ligação por pontes dissulfeto¹⁹⁷. Todas as galectinas compartilham um domínio de reconhecimento de carboidratos (CRDs) de aproximadamente 130 aminoácidos. Com base no número e na organização dos CRDs, os membros da família Galectina são classificados em três subtipos: o grupo protótipo (que tem só um CRD), o grupo de repetição em tandem (compostos por uma única cadeia polipeptídica repetida que forma dois CRDs distintos, mas homólogos) e o grupo quimera (também contém um CRD muito longo, responsável pela formação de multímeros). A galectina -3 (GAL-3) é pertencente a este último tipo, sendo a única representante deste grupo nos vertebrados.

A maioria das lecitinas é ligada à membrana, mas a GAL-3 é solúvel, com funções intra e extracelulares e com um arranjo molecular único, podendo ter configuração pentamérica, o que a permite se associar a múltiplos ligandos com formação de redes¹⁹⁷.

A solubilidade da GAL-3 permite sua expressão em diversos compartimentos celulares¹⁹⁸. Essa molécula é primariamente localizada no citoplasma mas pode migrar para o núcleo ou se difundir para o espaço extravascular e circulação. No núcleo está envolvido no *splicing* e na regulação gênica, promovendo secreção de proteínas envolvidas na angiogênese e na inflamação, agindo nas interações celulares e com o tecido intersticial. Está envolvido em várias vias de sinalização pró-fibrótica sendo expressa em monócitos transformados em macrófagos e com sua presença ligada a persistência de receptores de citocinas e de hormônios nas membranas celulares, o que facilitaria essa programação. No citoplasma se liga a proteínas responsáveis pela sobrevivência da célula como o BCL2¹⁹⁹. Por ser expressa em uma ampla gama de tecidos, incluindo células do sistema imune, células epiteliais e neurônios é intuitivo imaginar seu envolvimento em diferentes tipos de doença¹⁹⁷.

Em 2004²⁰⁰ a GAL-3 foi identificada em estudos com *microarray* como uma molécula expressa em modelos animais de insuficiência cardíaca. Trabalhos mais refinados mostraram que a fonte da GAL-3 em miocárdio em evolução para insuficiência eram os macrófagos²⁰¹. Em 2006 foi demonstrada sua elevação em pacientes com IC²⁰². Vários trabalhos mostram seu papel prognóstico em diferentes doenças cardiovasculares^{197,203}.

No estudo de Framingham as concentrações medianas de GAL-3 em mulheres foi de 14,3 ng/mL e em homens de 13,1 ng/mL²⁰⁴. A concentração de 27,5 ng/mL é o percentil 97,5^o, sendo considerado o valor de corte para este biomarcador e sua elevação ao longo do tempo foi preditora de evolução para IC¹⁹⁷. O uso da GAL-3 na predição de desfechos em IAM é controverso, mas alguns estudos colocam este marcador com bom desempenho na predição de desenvolvimento de insuficiência cardíaca¹⁹⁷, mortalidade²⁵⁴ e na exclusão de insuficiência cardíaca na investigação de dispneia na emergência. Outros estudos não encontram esses mesmos efeitos e ainda ressaltam que não é um exame capaz de diferenciar IC com FE alterada e de IC com fração preservada^{197,206}. Alguns estudos vêm demonstrando o papel da GAL-3 na perpetuação da fibrilação atrial e como um dos moduladores do risco de trombose nessa situação, presumivelmente por ser um ligante do Fator de Von Willebrand^{207,208}.

Na área de hemoglobinopatias há um estudo de Ricchi et al, que em 2016 tentou correlacionar aumento de GAL-3 em pacientes com Talassemia Major com fibrose à RNM cardíaca²⁰⁹. Apesar dos valores elevados esse grupo não conseguiu mostrar correlação. Na doença falciforme, especificamente, Lee mostrou aumento da expressão dessa molécula em tecidos de autópsia de pacientes com síndrome torácica aguda que apresentavam fibrose pleural e pulmonar²¹⁰. Polimorfismos da GAL-3 associados com diminuição da expressão tecidual de GAL-3 foram associados com mais crises dolorosas e quadros infecciosos em crianças falciformes²¹¹. Wadghi, em 2018, mostrou aumento dos valores de GAL-3 em crianças falciformes em crise vaso-oclusiva com valores paralelos a troponina I²¹² com Koyuncu utilizando a dosagem após 48 horas de crise como preditora de gravidade e tempo de internação²¹³.

3.3.3 Troponinas de alta sensibilidade

A troponina foi descrita em 1965²¹⁴, com exames confiáveis para sua dosagem desenvolvidos no final dos anos 90²¹⁵. Essa molécula é constituída por 3 cadeias polipeptídicas (troponina C, T e I)²¹⁵ e forma junto com a miosina e a tropomiosina a fibra muscular fina do sarcômero. Troponina C (TnC) tem esse nome por ser a subunidade ligante do *cálcio* neutralizando a supressão da interação contrátil entre a miosina e a actina induzida pela troponina I-tropomiosina. A troponina I (TnI) é a subunidade proteica que tem essa ação *inibitória* da contração muscular na ausência do cálcio. A TnI é uma molécula globular que se liga a TnC, TnT e actina. As mudanças conformacionais da TnC são transmitidas à TnI para liberar sua inibição da actina quando o cálcio está presente. A Troponina T (TnT) tem o sítio de ligação com a *tropomiosina*, liberando a contração muscular.

A musculaturas esquelética e cardíaca se valem do mesmo arranjo molecular em sua maquinaria contrátil. As troponinas cardíacas (cTn) T e I são isoformas específicas do músculo cardíaco²¹⁶. Devido a sua alta sensibilidade e especificidade em identificar lesão miocárdica as cTns se tornaram os biomarcadores de escolha no diagnóstico da lesão miocárdica. Nos últimos anos foram desenvolvidos *kits* com sensibilidade cada vez maior para detecção dessas cTn circulantes, denominados hs-cTn (*high sensitivity cardiac troponin*)²¹⁵.

O uso das hs-cTn levou a uma melhora na acurácia do diagnóstico do IAM. O aumento da sensibilidade, porém, levou a sua detecção não somente em pacientes com suspeita de infarto. Na verdade, a definição de hs-cTn é a capacidade de detectar troponina em *pelo menos 50%* de uma população saudável^{47,50}. Os valores que são considerados relevantes para o diagnóstico de IAM são aqueles acima do 99º percentil, um *cutt-off* incomum para exames laboratoriais convencionais. Valores acima deste percentil são detectados em outras doenças cardíacas e não cardíacas, com características prognósticas. Na população geral são encontradas elevações da hs-cTnT acima do 99º percentil em 5,2%-7,4% dos indivíduos entre 60 e 74 anos, sendo que essas elevações são relacionadas a um aumento da mortalidade²¹⁷.

Condições como doença arterial coronária crônica estável, doenças cardíacas não isquêmicas (como miocardites, insuficiência cardíaca, taqui ou bradiarritmias, dissecção de aorta, miocardiopatia hipertrófica, doenças infiltrativas e trauma cardíaco), sepsis, doença pulmonar obstrutiva crônica, acidente vascular cerebral, hemorragia intracraniana, tromboembolismo pulmonar, trauma, queimaduras extensas, insuficiência renal e COVID-19 apresentam elevações da hs-cTn com essas características prognósticas²¹⁸.

Pacientes internados por várias doenças apresentam uma maior frequência de elevação das cTn, sendo que a elevação da hs-cTnT foi significativamente mais frequente do que a elevação da hs-cTnI nos pacientes internados por outros diagnósticos que não a síndrome coronariana aguda. Em um estudo retrospectivo, avaliando 5696 pacientes internados em hospital geral, os autores encontraram elevação dos níveis de hs-cTnT acima do 99º percentil em 61,6% dos pacientes ²¹⁹.

As cTns são proteína específica do cardiomiócito, portanto, a sua elevação significa que houve lesão miocárdica. O mecanismo exato da liberação de troponina em outras situações que não IAM ainda não é completamente esclarecido. A principal via é a degradação gradual do cardiomiócito não viável que resulta na liberação da cTn. Dados recentes sugerem que este processo de renovação seria muito lento, com renovação de somente 40% dos cardiomiócitos durante a vida. Não é claro como seria o mecanismo de liberação da cTn de miócitos viáveis. As moléculas de cTn são muito grandes para atravessar a membrana e uma das hipóteses seria a formação de exossomos contendo pequenas moléculas de cTn que estariam livres no citoplasma.

Em uma minoria dos casos, a elevação de cTn pode ser um “falso positivo”. Isto pode ocorrer com a cTnT, principalmente em pacientes com processos de destruição maciça de músculo esquelético, como ocorre em doenças musculares. Durante a fase fetal, o músculo esquelético contém isoformas de cTnT em comum com o músculo cardíaco ^{220,221}. No adulto, isto desaparece. Porém, na presença de uma extensa destruição muscular ou miopatias, os genes que codificam estas isoformas podem ser reativados para promover a regeneração muscular, e a cTnT dosada pode ser proveniente do

músculo esquelético e não do músculo cardíaco. Este fenômeno não ocorre com a cTnI que é exclusiva do coração.

Adicionando complexidade há evidências sólidas de que a detecção de hs-cTn mesmo abaixo do 99º percentil é associada com maior risco de complicações cardiovasculares e mortalidade de longo prazo em pacientes de prevenção primária. A hs-cTnT teria associação maior com mortalidade geral e a hs-cTnI com a mortalidade cardiovascular^{222,223}.

Pouco estudos avaliaram o papel da cTn em pacientes com doença falciforme. Aslam et al estudaram 32 pacientes avaliando a troponina I convencional em pacientes com crise dolorosa, encontrando valores alterados em apenas 2 pacientes, ambos com dor torácica²²⁴. Dessap et al avaliaram também a troponina I convencional em 70 pacientes com síndrome torácica aguda⁴⁶, encontrando uma correlação entre a troponina a VRT no ecocardiograma. Outro estudo com 6 pacientes avaliou a troponina T convencional em pacientes com crise e sem dolorosa e não encontrou valores alterados em nenhum paciente²²⁵.

Há poucos estudos na literatura sobre a medida das troponina de alta sensibilidade (hs-cTn) nas doenças falciformes fora de episódios vaso-oclusivos e nenhum prospectivo. A dosagem da hs-cTn I ou T poderia auxiliar na determinação de prognóstico tanto em pacientes crônicos com DF como no episódio de crise dolorosa. É pertinente considerar que os ensaios anteriores não possuíam sensibilidade suficiente para detectar essas alterações. Trabalho recente na Nigéria²²⁶ observou a presença de hs-cTnT aumentada (acima do 99º percentil) em crianças falciformes em crise vaso-oclusiva (82,4%) e em estado basal (17,6%) enquanto outro trabalho²²⁷ viu relação com parâmetros de hemólise. Entender o comportamento da troponina de alta sensibilidade com suas características analíticas próprias auxiliará na sua potencial utilização como biomarcador na DF.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Aspectos éticos

Após aprovação do projeto pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (com análise prévia do Comissão Científica do InCor sob o número SDC-COP 102/19/008, registrado na Plataforma Brasil sob o número 19496619.6.0000.0068 foram convidados a participar do estudo pacientes adultos com formas graves de doença falciforme (SS e S β^0) acompanhados no Ambulatório de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) . Os pacientes foram selecionados após avaliação dos critérios de inclusão e exclusão com os procedimentos do estudo iniciados após apresentação e aceitação do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (disponível no apêndice).

4.2 Casuística

Foram incluídos 126 pacientes consecutivos. Todos os casos tiveram suas informações clínicas e laboratoriais disponíveis em prontuário revisadas e realizaram os procedimentos do protocolo.

4.2.1 Critérios de inclusão

- Pacientes com idade acima de 18 anos, com diagnóstico comprovado de doença falciforme por eletroforese de hemoglobina em gel alcalino com genótipos SS e S β^0 .

4.2.2 Critérios de exclusão

- Pacientes que tenham tido crise dolorosa com necessidade de atendimento em pronto-socorro ou hospital-dia nas últimas 4 semanas.

- Pacientes fora de programa transfusional que tenham recebido transfusão de sangue no último mês.

- Pacientes em programa de diálise.

- Pacientes gestantes.
- Pacientes com problemas psiquiátricos ou cognitivos que não permitam consentimento adequado.

4.3 Métodos

4.3.1 Visão geral

Todos os dados foram incluídos em uma plataforma eletrônica no sistema REDCap® (Research Electronic Data Capture) para posterior análise estatística. As informações coletadas consistem em:

- 1) Avaliação clínica (incluindo dados antropométricos e sinais vitais);
- 2) Avaliação laboratorial (exames hematológicos e bioquímicos);
- 3) Análise eletrocardiográfica;
- 4) Análise ecocardiográfica;
- 5) Determinação do Índice de Gravidade PRe-MSCD;
- 6) Dosagem de biomarcadores cardíacos

Além da entrevista com os pacientes, os dados obtidos foram provenientes da revisão do prontuário físico (acessado no SAME – Serviço de Arquivos Médicos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e do protocolo assistencial do Ambulatório de Doenças da Hemoglobina do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP), do prontuário eletrônico (ProntMed®) e das prescrições do SIGH® (Serviço Integrado de Gestão Hospitalar).

A medida de sinais vitais, dados antropométricos, coleta de exames laboratoriais e realização do eletrocardiograma foram feitos no Centro de Pesquisa Clínica da Disciplina de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. O eletrocardiograma foi laudado por um cardiologista independente. A ecocardiografia com dopplerfluxometria foi realizada no Centro de Pesquisas Clínicas do InCor por 2 cardiologistas. A leitura dos exames foi efetuada exclusivamente por um quarto cardiologista independente.

Os exames laboratoriais de rotina, incluindo NT-pró-BNP, foram obtidos a partir daqueles realizados no Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP e no Laboratório de Hematologia Geral do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

Os exames de biomarcadores cardíacos (hs-Tcl, ST2s e GAL-3) foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP.

4.3.2 Avaliação clínica

Foram obtidos dados antropométricos e clínicos relacionados às principais complicações da doença.

4.3.2.1 Dados antropométricos

Foram registrados idade, sexo, peso, altura, superfície corpórea e índice de massa corpórea (IMC) de todos os pacientes. De acordo com o IMC os pacientes foram classificados nas seguintes categorias: baixo peso ($IMC \leq 18,5$), peso normal (IMC entre 18,5 e 24,9), sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9) e obesidade (obesidade grau 1 – IMC entre 30 e 34,9; obesidade grau 2 – IMC entre 35 e 39; obesidade grau 3 - $IMC \geq 40$).

4.3.2.2 Sinais vitais

Foram aferidas as medidas de pressão arterial (sistólica e diastólica em mmHg) e saturação de oxigênio por oximetria digital. As medidas foram feitas em posição sentada após 10 minutos de repouso. As aferições foram feitas com um monitor multiparamétrico *Welch Allyn-Conex Spot Monitor* (Welch Allyn, Inc. Skaneateles Fall, NY). De acordo com o valor de pressão arterial os pacientes foram subclassificados de acordo com as diretrizes da *European Society of Cardiology* (ESC) e da *European Society of Hypertension* (ESH).

4.3.2.3 Características e complicações

As histórias clínicas dos pacientes foram revisadas por questionário e por revisão dos prontuários. Foram registrados a idade e circunstâncias do

diagnóstico bem como a classificação genotípica (SS ou S β^0). Apesar de se tratar de um exame laboratorial a porcentagem de Hemoglobina Fetal (HbF) foi registrada como dado da história por não ter sido efetuado no momento do estudo. Foi optado por considerar a HbF mais antiga executada no laboratório de Hematologia, com o paciente tendo ao menos 12 anos de idade, momento de estabilização das porcentagens. Os eventos complicadores foram registrados utilizando as definições abaixo descritas adotadas no ambulatório ²²⁸.

a) Acidente vascular encefálico (AVE)

Presença de alterações clínicas e tomográficas compatíveis com AVE em qualquer momento da vida sendo subclassificados em isquêmicos (AVEi) ou hemorrágicos (AVEh). Para os pacientes oriundos dos serviços de pediatria o diagnóstico foi considerado confirmado se presente no relatório de encaminhamento para o serviço de adultos. A idade do paciente à época do diagnóstico (único ou primeiro evento), presença de doença de Moyamoya, aneurismas e convulsões (associadas ou não à AVE prévio) foram registradas.

b) Priapismo

Presença em qualquer momento da vida do indivíduo de ereção dolorosa, por período superior a 4 horas consecutivas ou em padrão “claudicante”, com ciclos seguidos de ereção e detumescência mas com menos de 4 horas de duração. Foi obtida também a informação da necessidade de drenagem ou procedimento cirúrgico para alívio do priapismo ou para controle de complicações relacionadas.

c) Úlceras de membros inferiores

Presença de solução de continuidade cutânea de membros inferiores ativa há pelo menos 6 meses ou cicatrizada após período similar.

d) Osteonecrose de cabeça femoral

Registro em prontuário ou em relatório de radiografia, tomografia computadorizada ou ressonância nuclear magnética de deformação característica da cabeça femoral sem história prévia de traumatismo.

e) Síndrome torácica aguda (STA)

Eventos pulmonares agudos acompanhados de febre, sinais e sintomas respiratórios com novos infiltrados pulmonares aos exames radiológicos.

f) Doença retiniana

As doenças da retina foram diagnosticadas pela presença de alterações típicas à avaliação oftalmológica periódica de acordo com a classificação de Goldberg. A retinopatia foi classificada como proliferativa se foram detectadas lesões estágios III e IV de Goldberg, caracterizados respectivamente, pela presença de neovascularização retiniana em *Sea Fan* e hemorragia vítrea.

g) Episódio dolorosos

Foi registrado se o paciente apresentou pelo menos 1 episódios dolorosos nos últimos 12 meses. Presença de dor crônica foi definida pela persistência do quadro doloroso com mais de 3 meses de duração sem estímulo nódico evidente e com necessidade de analgesia documentada.

h) Doença tromboembólica

Presença de trombose venosa profunda diagnosticada por ultrassonografia com dopplerfluxometria ou a presença de tromboembólica diagnosticada por angiotomografia computadorizada.

i) Doença biliar

O antecedente de calculose biliar foi registrado, sendo avaliada a presença de calculose, idade do diagnóstico e a necessidade de colecistectomia.

j) Intubação orotraqueal de emergência

O antecedente de necessidade de intubação orotraqueal de emergência foi definido IOT fora de contexto cirúrgico ou de preparo de exames.

k) Disfunção renal

Registrado se paciente precisou em algum momento realizar terapia de substituição renal.

4.3.2.4 Tratamento

A) Programa transfusional

Os pacientes foram avaliados quanto a necessidade de programa transfusional – definido como a utilização de terapia transfusional com o objetivo de prevenção de complicações, tanto primária quanto secundária. As indicações foram registradas. O tipo de programa transfusional foi dividido nos seguintes grupos:

- a) Transfusão simples (onde o paciente recebe a transfusão com o objetivo de elevação da hemoglobina e consequente diluição da hemoglobina S);
- b) Transfusão com troca manual (onde a diluição de HbS é obtida por transfusão precedida ou seguida por sangria terapêutica por flebotomia);
- c) Transfusão com troca automatizada (eritrocitoafereze – a diluição de HbS é alcançada pela troca de sangue automatizada).

B) Hidroxiureia

A utilização da hidroxiureia e o motivo de sua indicação foram avaliadas. A dose média diária em mg/kg foi anotada. Pacientes que estão em programa transfusional e em uso de hidroxiureia foram agrupados à parte.

Foram assinalados os pacientes que não recebem hidroxiureia, sendo subclassificados em quem jamais usou ou quem teve suspenso a medicação (planejamento de gestação, toxicidade hematológica, úlcera de membros inferiores ou problema de aderência ao uso da medicação)

C) Suporte

Pacientes que não estão em programa transfusional ou em uso de hidroxiureia (incluídos os que nunca receberam ou tiveram hidroxiureia suspensa há mais de 3 meses).

4.3.3 Exames laboratoriais

4.3.3.1 Exames hematológicos

Hemogramas com contagem diferencial de leucócitos, contagem de reticulócitos e eritroblastos foram feitas no Laboratório de Hematologia Geral do Serviço de Hematologia do HCFMUSP.

O hemograma foi efetuado em contador de células automatizado (Beckman Coulter GEN'S). Em todos os casos foi realizada a inspeção do esfregaço de sangue periférico corado pelo Leishman. A contagem de reticulócitos foi expressa como contagem absoluta de reticulócitos e índice de produção de reticulócitos (IPR). A fórmula do IPR é a que se segue:

$$(\% \text{ de reticulócitos}) \times \frac{(\text{Hematócrito do paciente})}{(\text{hematócrito normal})} \times \frac{1}{\text{Fator de maturação}}$$

Onde

Hematócrito normal masculino – 45%

Hematócrito normal feminino – 40%

Fator de maturação – 1,0 – se hematócrito maior que 35%

1,5 – se hematócrito entre 25-35%

2,0 – se hematócrito entre 20-25%

2,5 – se hematócrito menor que 20%

Valores de IPR < 1 denotam falta de resposta medular à anemia, IPR >3 demonstram resposta medular

4.3.3.2 Exames bioquímicos

Foram avaliados os seguintes exames de rotina colhidos durante o estudo e nas avaliações periódicas no Ambulatório de Hemoglobinopatias do HCFMUSP.

A) Exames da homeostase do ferro: ferro sérico (Fe), capacidade total de ligação do ferro (CTLF), saturação do ferro da transferrina (SatTf) e ferritina (FTI)

B) Exames de função renal: uréia (U), ácido úrico e creatinina (Cr). Foi estimado o ritmo de filtração glomerular (RFG) pela fórmula do Estudo de Coorte de Doença Falciforme da Jamaica (ECDFJ) validado em nosso serviço ^{229,230}.

$$RFG = 192.914,04 \times [(Creatinina\ sérica\ em\ mg/dL)^{-0,425} \times (altura\ em\ centímetros)^{-1,533}] \times 1,14 \text{ (caso sexo masculino)}$$

C) Exames de lesão hepática: aspartato-aminotransferase (AST), alanina-aminotransferase (ALT), gama-glutamil-transferase (GGT), fosfatase alcalina (FA) e albumina (alb).

D) Exames de hemólise: desidrogenase láctica (DHL), aspartato-aminotransferase (AST) e bilirrubinas totais e bilirrubinas conjugadas (direta) e não-conjugadas (indireta). A contagem de reticulócitos, que é efetuada entre os exames hematológicos, será analisada entre os parâmetros hemolíticos.

Os valores de bilirrubinas e a relação entre bilirrubinas direta e indireta foram divididos em 4 grupos:

- a- Padrão 1 – Bilirrubina não-conjugada acima do valor superior de normalidade / bilirrubina conjugada dentro do limite de normalidade (**BI elevada > BD normal**);
- b- Padrão 2 - Bilirrubina não-conjugada acima do valor superior de normalidade / bilirrubina conjugada acima do valor superior ao normal mas com valor inferior à bilirrubina não-conjugada (**BI elevada > BD elevada**);
- c- Padrão 4 - Bilirrubina não conjugada com valor igual ao da bilirrubina conjugada (**BI elevada = BD elevada**);
- d- Padrão 4 - Bilirrubina não conjugada acima do valor superior de normalidade / bilirrubina conjugada acima do valor superior de normalidade e com valor igual ou superior à bilirrubina não-conjugada (**BI elevada < BD elevada**)

4.3.4 Eletrocardiografia

Foi realizado eletrocardiograma (ECG) convencional em repouso com 12 derivações em todos os pacientes. O aparelho de eletrocardiograma foi um PageWriter TC30 e os exames foram registrados em velocidade de 25 mm/segundo com profundidade de 1 mV/cm. Os traçados obtidos foram estocados digitalmente, eventuais exames sem arquivo digital foram registrados fotograficamente.

No ECG foram analisados os índices gerados pelo *software* do aparelho. Os traçados de ECG interpretados por um cardiologista. Os parâmetros registrados foram:

- 1) Intervalo RR;
- 2) Intervalo PR;
- 3) Duração de QRS (QRSd) ;
- 4) Intervalo QT;
- 5) Intervalo QT corrigido por fórmula de Bazett, se pacientes entre as frequências cardíacas de 60-90 bpm ($QTc = QT \text{ medido} / \sqrt{RR}$);
- 6) Intervalo QT corrigido por fórmula de Friderichia caso frequência cardíaca menor que 60 ou maior que 90 bpm ($QTc = QT \text{ medido} / RR^{1/3}$);
- 7) Intervalo QT corrigido por Fórmula de Sagie;
- 8) Eixo P;
- 9) Eixo QRS;
- 10) Eixo T;
- 11) Ritmo cardíaco;
- 12) Presença de Bloqueio Atrioventricular (BAV; sendo classificados em BAV de 1º grau, BAV de 2º grau Mobitz 1 ou 2 e BAV de 3º grau);

13) Presença de Bloqueio de Ramo (BRD - Bloqueio de Ramo Direito completo ou incompleto; BRE - Bloqueio de Ramo Esquerdo completo ou incompleto; Atraso de Condução Intraventricular não específico e BDAS - bloqueio divisional antero-superior);

14) Inversão de onda T (nas derivações V2-V6 e em DII,DIII, avF e avL);

15) Presença de onda Epsilon;

16) Critérios de Hipertrofia Ventricular Direita (Desvio do eixo direito de $+110^\circ$ ou mais; Onda R dominante em V1 ($> 7\text{mm}$ de altura ou relação R/S > 1); Onda S dominante em V5 ou V6 ($> 7\text{mm}$ de profundidade ou relação R/S < 1); Duração do QRS $< 120\text{ms}$ (ou seja, alterações não devidas ao Bloqueio de ramo direito); Aumento do átrio direito (P pulmonale); Padrão de *Strain* do ventrículo direito - infra ST / inversão da onda T nas derivações precordial direita (V1-4) e inferior (II, III, aVF); S1 S2 Padrão S3 - desvio do eixo mais à direita com ondas S dominantes nas derivações I, II e III; Ondas S profundas nas derivações laterais (I, aVL, V5-V6).

17) Presença de ondas Q patológicas; sinais de infarto antigo; extrasístoles ventriculares e extraventriculares;

18) Hipertrofia ventricular esquerda (HVE) com utilização dos critérios de Sokolow-Lyon (Soma da profundidade da Onda S em V1 com onda R de V5 ou V6 $\geq 35\text{ mm}$ ou Onda R de aVL $\geq 11\text{ mm}$)

4.3.5 Ecocardiografia

Os ecocardiogramas foram realizados no Centro de Pesquisas do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo por 2 cardiologistas especializados em ecocardiografia. Além do ecocardiograma bidimensional, modo-M, *Doppler* pulsado, contínuo, em cores e tecidual, foram analisadas a deformação miocárdica (*Strain*) pela movimentação dos pontos de cinza miocárdicos durante o ciclo cardíaco (técnica STE - *Speckle Tracking*). O aparelho utilizado foi o Ultrassom Vivid iq 4D Ultra Edition - GE Healthcare (Milwaukee, WI).

Os pacientes foram examinados em decúbito lateral esquerdo, usando as incidências padrão: paraesternal esquerdo nos eixos longo e curto e janelas apicais 4, 3 e 2 câmaras. Cuidados especiais foram dados para a aquisição de imagens de boa qualidade. Três ciclos cardíacos foram gravados durante manobras de apneia. Para fins de padronização, nas imagens adquiridas no plano longitudinal e eixo curto, a porção basal correspondeu aquelas no nível dos folhetos mitrais, enquanto a apical, a imediatamente proximal à obliteração luminal do ventrículo esquerdo no fim da sístole. As imagens foram arquivadas digitalmente e analisadas *off-line* com o Software EchoPAC versão 204 por uma terceira cardiologista cega para os demais dados clínicos dos pacientes.

Foram avaliadas dimensões cavitárias, espessura de paredes, espessura do septo, funções sistólicas e diastólicas dos ventrículos direito e esquerdo de acordo com as diretrizes da Sociedade Americana de Ecocardiografia²³⁰. A Massa Ventricular Esquerda foi estimada pelo método do cubo e indexada para a superfície corpórea. O volume atrial esquerdo foi calculado usando a função AFI-LA (**A**utomated **F**unctional **I**maging of the **L**eft **A**trium) e indexada pela superfície corpórea. Os volumes ventriculares esquerdos e a fração de ejeção biplanar foram estimadas usando a função *auto-EF*, que calcula pelo método de Simpson biplano modificado pela detecção automática das bordas endocárdicas. Ajustes foram realizados em casos de detecção sub-ótima das bordas. Na Quadro 4 estão os parâmetros volumétricos e as dimensões do VE analisados com seus valores de referência.

Quadro 4 - Parâmetros volumétricos e de função de ventrículo esquerdo

Parâmetros	Valores de Referência		
	Geral	Masculino	Feminino
Diâmetro da raiz da aorta (mm)	-	31-37	21-25
Diâmetro do AE (mm)	-	30-40	27-38
Volume do AE indexado (mL/m ²)	16-34	-	-
Diâmetro sistólico de VE (mm)	-	25-40	22-35
Diâmetro diastólico de VE (mm)	-	42-58	38-52
Volume diastólico final de VE indexado (mL/m ²)	-	34-74	29-61
Volume sistólico final de VE indexado (mL/m ²)	-	21-61	14-42
Septo interventricular (mm)	-	06-10	06-09
Parede posterior do VE (mm)	-	04-10	06-09
Espessura relativa das paredes	< 0,42*	-	-
Massa Ventricular indexada (g/m ²)	-	49-115	43-95
Fração de encurtamento (%)	-	27-45	25-43
Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (%)	-	52-72	54-74
Volume Sistólico indexado (mL/m ²)	51±7	-	-
Débito Cardíaco (L/min)	4-8	-	-
Índice Cardíaco (L/min/m ²)	2,5-4	-	-

Fonte: Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64

*utilizado em conjunto com massa ventricular para determinar hipertrofia ventricular e tipo de remodelamento
 Abreviaturas – AE – átrio esquerdo; g/m² – gramas por metro quadrado; L/min – litros por minuto, L/min/m² – litros por minuto por metro quadrado; mm – milímetros; mm/m² – milímetros por metro quadrado VD – ventrículo direito; VE – ventrículo esquerdo

A dimensão máxima do ventrículo direito e do átrio direito foram estimadas na incidência apical de 4 câmaras modificada com foco para estas câmaras. Os diâmetros basais, médios e longitudinais do ventrículo direito foram registrados. A pressão de átrio direito foi avaliada através da medida da veia cava inferior (VCI) na janela subcostal proximal à entrada das veias hepáticas e da magnitude do colapso inspiratório (VCI ≤ 2,1 cm que colapsa > 50 % - pressão de 3 mmHg; VCI >2,1 cm com colapso < 50 % tem pressão estimada em 15 mmHg; diâmetros e colapsos inspiratórios intermediários indicam pressão estimada em 8 mmHg). No Quadro 5 estão os parâmetros de volume e dimensões das câmaras direitas analisadas com seus valores de referência.

Quadro 5 - Parâmetros de volumes e dimensões de câmaras direitas

Parâmetros	Valores de Referência		
	Geral	Masculino	Feminino
Diâmetro da região basal de VD corte apical (mm)	25-41		
Diâmetro médio cavitário do VD corte apical (mm)	19-35		
Diâmetro do eixo longo do VD em corte apical (mm)	59-83		
Volume do AD indexado (ml/m ²)		25±7	21±6
Volume do VD indexado (ml/m ²)		35-87	32-74

Abreviaturas : AD – átrio direito, mm – milímetros; mm/m² – milímetros por metro quadrado VD – ventrículo direito

Referência: Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64

A função sistólica de ventrículo direito foi avaliada pelas medidas do TAPSE (*tricuspid annular plane systolic excursion*), FAC (*fractional area change*) e pelo MPI (*Myocardial Performance Index*) do VD.

A TAPSE foi medida no plano longitudinal na janela apical padrão de 4 câmaras. Essa medida se baseia no movimento normal da tricúspide em direção ao ápice do VD (excursão sistólica) durante a sístole desta câmara. A FAC, que guarda similaridades com fração de ejeção, é definida pelo cálculo [(área diastólica final - área sistólica final) /área diastólica final) x100], tendo sido obtida traçando o endocárdio do VD tanto na sístole quanto na diástole a partir do ânulo da tricúspide, ao longo da parede livre até o ápice e depois de volta ao anel, ao longo do septo interventricular. Cuidado adicional foi tomado para traçar a parede livre abaixo da trabeculações ventriculares. O MPI foi calculado da seguinte forma: (tempo de contração isovolumétrica + tempo de relaxamento isovolumétrico) /tempo de ejeção do VD). A velocidade do refluxo tricúspide (VRT), uma medida indireta da pressão sistólica da artéria pulmonar, foi obtida a partir da visualização na janela apical de quatro câmaras pela imagem com *Doppler* colorido. Após a direção do refluxo ter sido identificada o cursor foi alinhado ao longo de sua direção e os sinais de *Doppler* contínuo obtidos. No Quadro 6 estão os parâmetros de função de ventrículo direito analisados com seus valores de referência

Quadro 6 - Parâmetros de avaliação da função do ventrículo direito

Parâmetros	Valores de Referência
Velocidade de regurgitação da tricúspide (m/s)*	<2,5
TAPSE (mm)	≥ 17
FAC (%)	≥ 35
MPI-VD	≤0,54

Referência: Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64

* Valor geral na população é de 2,8 m/s – valor de 2,5 associado com características prognósticas na doença falciforme

Abreviaturas – FAC – *fractional área change*, MPI – *myocardial performance index*; TAPSE - *tricuspid annular plane systolic excursion*

O padrão de fluxo mitral foi obtido usando *Doppler* pulsado em corte apical de 4 câmaras estimando a onda E (que mede a velocidade de esvaziamento rápido do átrio esquerdo no início da diástole), onda A (que mede a contribuição da contração atrial para o esvaziamento do átrio), e a relação E/A, o tempo de relaxamento isovolumétrico (TRIV) o tempo de desaceleração da onda E. A disfunção diastólica foi classificada como presente ou ausente de acordo com as diretrizes internacionais. Por meio do *Doppler* tecidual foram obtidas as velocidades e' das porções septais e laterais do ânulo mitral. O quociente da velocidade da onda E mitral sobre a média das velocidades e' septal e lateral resultou na relação E/ e' , que é um marcador para detecção de elevação de pressão de enchimento do VE. Como valores de E/ e' maiores que 8 foram associados com mortalidade em DF optou-se por destacar esse dado como variável categórica de forma separada. Na Quadro 7 estão os parâmetros de função diastólica analisados com seus valores de referência.

Quadro 7 - Parâmetros de avaliação de função diastólica de ventrículo esquerdo

Parâmetros	Valores de Referência
Relação E/A da válvula mitral	$\geq 0,8$
TRIV (ms)	65 \pm 20
Tempo de desaceleração da onda E (ms)	160-220
e' lateral (cm/s)	<7
e' septal (cm/s)	< 10
Relação E/e'	<14

Referência: Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64
 Abreviaturas: TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico

A deformação miocárdica (*Strain*) foi avaliada *off-line* por meio da técnica STE mapeando manualmente a região de interesse com a função AFI nos planos longitudinais apical longo, 2 câmaras e 4 câmaras. Como a contração, apesar de evento ativo, gera encurtamento, o número resultante é negativo. Para fins de cálculo e análise os resultados serão exibidos como dados modulares. O GLS (*Global Longitudinal Strain*) foi definido como o valor da curva média do *Strain* durante o fechamento da válvula aórtica usando os sinais do *Doppler*²³². O GLS ventricular direito e de parede livre de VD também foram medidos. A região de interesse (ROI) é estimada automaticamente após traçar o final da diástole com pontos anatomicamente definidos e pode ser ajustada para se adequar à espessura da parede livre do VD e do septo. O rastreamento adequado foi verificado em tempo real e corrigido ajustando o ROI ou corrigindo manualmente o contorno para garantir o rastreamento ideal.

O valor de GLS de ventrículo esquerdo foi utilizado para compor com a pressão arterial sistólica os índices de trabalho miocárdico²³². De forma simplificada o trabalho é definido fisicamente como o produto da força (pressão arterial) versus o deslocamento (*Strain*). Esses valores são colocados em sistema de coordenadas, onde a força (pressão sistólica como marcador indireto da pressão sistêmica) está na ordenada enquanto o deslocamento (*Strain*) é plotado na abscissa. A área gráfica resultante é o trabalho. Essas curvas são calculadas automaticamente no STE e os dados são sincronizados aos tempos

de eventos valvares observados ao *Doppler*. Um gráfico *bull's eye* é gerado, com os demais valores calculados a partir da alça de pressão/*Strain* (Figura 3) . Os índices derivados são assim definidos:

Global Work Index (GWI - índice de trabalho global):

Trabalho total do coração entre o fechamento e a abertura da válvula mitral, sem considerar se é efetivo ou não para a função de bomba propulsora;

Global Constructive Work (GCW - trabalho construtivo global): Representa o trabalho que contribui para a função de bomba propulsora do coração (a soma do trabalho realizado durante todo o encurtamento sistólico com o trabalho negativo durante a fase de alongamento do relaxamento isovolumétrico);

Global Wasted Work (GWW - trabalho global desperdiçado):

Representa o trabalho que não contribui para a função de bomba propulsora cardíaca – a combinação de alongamento das fibras durante a sístole com encurtamento durante o relaxamento isovolumétrico (ou seja, contração contra a válvula aórtica fechada)

Global Work Efficiency (GWE, eficiência global do trabalho) – a fração do GCW (Trabalho construtivo global) sobre o somatório do GCW+GWW. Este índice é expresso em porcentagem.

É importante notar que quando se fala de “trabalho” a unidade internacional recomendada seria o Joule. O trabalho que está sendo aqui medido não leva em conta a espessura e a curvatura da parede miocárdica e considera a pressão sistólica sistêmica como equivalente à pressão sistólica intraventricular. A unidade resultante (mmHg) é derivada da multiplicação da pressão sistólica pelo *Strain* (que é um número relativo).

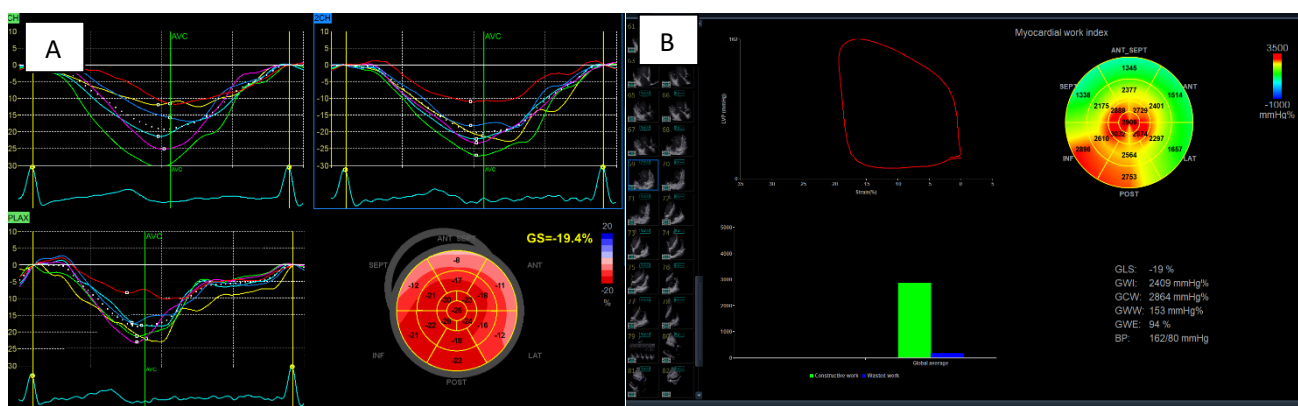


Figura 3 – A- Gráfico *bull's eye* formulado a partir da avaliação de deformação dos diversos segmentos miocárdicos. Da derivação das diferentes curvas é gerado o GLS (*Global Longitudinal Strain*); B – Curva de pressão e deformação – geração do gráfico de trabalho miocárdico

O *Strain* de átrio esquerdo foi avaliado através da técnica de STE, gerando 3 índices:

- *Strain* do átrio esquerdo com *função reservatório* (*Strain* positivo gerado pelo enchimento passivo do ventrículo que alcança seu pico na sístole pouco antes da abertura da válvula mitral);
- *Strain* do átrio esquerdo com *função de conduto* (*Strain* negativo gerado pelo esvaziamento passivo do AE após a abertura da válvula mitral);
- *Strain* do átrio esquerdo com *função contrátil* (*Strain* negativo gerado pela contração atrial com o esvaziamento ativo de átrio esquerdo)

A função diastólica do átrio esquerdo foi estudada pelo índice de rigidez atrial, que é um quociente do valor E/e' (utilizado para avaliar a pressão de enchimento do ventrículo esquerdo) da válvula mitral pelo valor do *Strain* atrial com função reservatório. Além disso, foi estudado volume máximo do AE (V_{max}). O V_{max} foi estimado após sincronização do registro no final da onda T no eletrocardiograma, coincidindo com a abertura da válvula mitral. No Quadro 9 estão os parâmetros de STE analisados com seus valores de referência.

Quadro 9 - Parâmetros de Deformação Cardíaca por análise de *Speckle Tracking*

Parâmetros	Referência		
	Geral	Masculino	Feminino
Global Longitudinal <i>Strain</i> VE (%)*	> 16-18	-	-
Global Work Index (mmHg)	1292-2505	1270-2428	1310-2538
Global Constructive Work (mmHg)	1582-2881	1650-2807	1543-2924
Global Work Waste (mmHg)	226±28	238±33	239±39
Global Work Efficiency (%)	91±0,8	90±1,6	91±1
Global Longitudinal <i>Strain</i> VD (parede livre)(%)*	27±4,1	-	-
Global Longitudinal <i>Strain</i> VD (%)*	24,2±2,9	-	-
Strain AE função reservatório (%)	39-41	-	-
Strain AE função conduíte (%)*	21-25	-	-
Strain AE função contração (%)*	16-19	-	-
Volume máximo de AE (mL/m2)	15-37	-	-
Rigidez AE	<0,16	-	-

* valores negativos

Referências -Manganaro R et al. Echocardiographic reference ranges for normal non-invasive myocardial work indices: results from the EACVI NORRE study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2019 May 1;20(5):582-590
 Meris A et al. Timing and magnitude of regional right ventricular function: a speckle tracking-derived strain study of normal subjects and patients with right ventricular dysfunction. *J Am Soc Echocardiogr*. 2010;23:823–831
 Pathan F et al. Normal Ranges of Left Atrial Strain by Speckle-Tracking Echocardiography: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Soc Echocardiogr*. 2017 Jan;30(1):59-70.e8

Abreviaturas – AE – átrio esquerdo; STE - speckle tracking; VD – ventrículo direito; VE – ventrículo esquerdo

4.3.6 Índice de gravidade PRe-MSCD

Foi optado pela a utilização do escore PReMSCD ²³⁵(*A Phenotypic Risk Score for Prediction of Mortality in Sickle Cell Disease*), que integra 9 valores clínicos, laboratoriais e ecocardiográficos:

Idade > 50 anos;

IMC ≥ 35 ;

Frequência cardíaca > 85;

Ureia > 46 (BUN>20);

Fosfatase alcalina > 90 unidades/L;

Velocidade de refluxo da tricúspide (VRT) > 3 m/seg;

Pressão de átrio direito > 5 mmHg;

Espessamento septal > 10 mm;

Pico da velocidade E da válvula mitral ≤ 80 cm/segundo.

A pontuação pode ir de 0 a 9 de acordo com a presença ou não desses fatores de risco. A VRT pode não ser mensurável em uma porcentagem significativa dos pacientes. A maior parte dessas informações faltantes são em pacientes com velocidades abaixo de 3 m/seg. Nos pacientes da casuística verificamos valores prévios de ecocardiograma para observar essa informação e checamos resultado de NT-pró-BNP, que é proposto como substituto da velocidade de refluxo na ausência deste parâmetro.

Pacientes de baixo risco (score 0 e 1) tem mortalidade predita (com intervalo de confiança de 95%) de 1,5 % (0-3%) em 2 anos e 3,2% (0,8-5,5%) em 4 anos. Indivíduos com score 2 e 3 (intermediário 1) tem mortalidade predita de 2 anos de 4% (1,4-6,5%) e de 11,2% (6,6-15,6%) em 4 anos. Pacientes com score 4 (Intermediário 2) tem mortalidade predita de 2 anos de 15,2% (3,2-25,7%) e de 35,1% (16,4-49,7%) em 4 anos. Aqueles com score ≥ 5 (alto risco) tem mortalidade predita de 2 anos de 32,4% (14,7-46,4%) e de 74,8% (53,3-86,4%) em 4 anos.

4.3.7 Dosagem de biomarcadores

Foram coletadas amostras de sangue (aproximadamente 15ml - 2 tubos secos e 1 tudo EDTA) para dosagem da hs-cTnT e I, NT-Pró-BNP, ST2 e galectina-3 no mesmo dia da realização do ecocardiograma. A troponina T de alta sensibilidade foi dosada utilizando o kit da Roche (*Elecsys, Roche diagnostics, Mannheim, Germany*), a troponina I de alta sensibilidade foi dosada utilizando o kit da Siemens (*Advia Centaur immunoassay system Advia Centaur High-Sensitivity Troponin I, Siemens Healthineers*). A Galectina-3 foi dosada utilizando o kit da Abcam (*Human Galectin-3 ELISA Kit, Cambridge, United Kingdom*) com sensibilidade de 13,3 pg/mL. O ST2S foi dosado kit da Abcam (*Human ST2 ELISA Kit (IL1RL1), Cambridge, United Kingdom*) com sensibilidade de 22,06 pg/mL.

As dosagens laboratoriais foram realizadas no laboratório de análises clínicas do Instituto do Coração (Incor) e no laboratório central ICHC. Os

resultados das troponinas estão em ng/L. Todos os valores detectáveis a partir de 2,5 ng/L para a troponina I e 3 ng/L para troponina T serão registrados. O limite do 99º percentil (utilizado para diagnóstico de isquemia miocárdica) é de 14 ng/L para hs-cTnT e 40 ng/L para hs-cTnI.

Os valores de ST2 e Galectina -3 estão em ng/mL, com valores de normalidade (95º percentil) para ST2 foi de 35 ng/mL e para Galectina-3 de 27,5 ng/mL.

4.3.8 Análise estatística

4.3.8.1 Tipo de estudo

Trata-se de estudo transversal.

4.3.8.2 Determinação do tamanho da casuística

Para planejamento amostral consideramos que os indivíduos sem cardiopatia significativa teriam menos de 5% de detecção de hs-cTnT ou hs-cTnI acima do 99º percentil, enquanto o grupo com cardiopatia significativa teria hs-cTnT ou hs-cTnI mensurável em pelo menos 25% das amostras. Estimamos a amostra em 123 pacientes fixando um alfa de 0,5 e um poder de 0,8²³⁶.

4.3.8.3 Análise de resultados

As características quantitativas avaliadas foram descritas com uso de medidas resumo (média, desvio padrão, mediana e quartis) e as características qualitativas foram descritas com uso de frequências absolutas e relativas para todos os pacientes²³⁶.

Foi criado um indicador de hemólise com uso do primeiro fator da análise de componentes principais das variáveis AST, bilirrubina indireta, DHL e reticulócitos absolutos²³⁷.

Foram calculadas as correlações de Spearman dos marcadores com cada uma das características quantitativas avaliadas para verificar a existência de correlação entre elas e descritos os biomarcadores segundo cada característica

qualitativa com uso de medidas resumo e comparados os biomarcadores entre as categorias das variáveis com uso de testes Mann-Whitney²³⁶. Foram criados modelos lineares generalizados com distribuição de Poisson para as troponinas e distribuição gama para os demais biomarcadores com função de ligação logarítmica para explicar conjuntamente a relação das características avaliadas nos biomarcadores ²³⁸, sendo selecionadas as variáveis para entrar nos modelos conforme relevância clínica e também terem apresentado nível descritivo inferior a 0,10 ($p < 0,10$) nas análises bivariadas. Os modelos finais foram selecionados com uso do método *Stepwise Backward* com critérios de entrada e saída das variáveis em 5% ²³⁹.

As análises foram realizadas com uso do software IBM-SPSS for Windows versão 22.0 e tabulados com uso do software Microsoft-Excel 2013 e os testes foram realizados com nível de significância de 5%.

5 RESULTADOS

Participaram do estudo 126 pacientes. Na Tabela 1 está o sumário das características demográficas e antropométricas. Trata-se de uma população de adultos (média etária de 37,2 anos) predominantemente do sexo feminino (57,9%) (Figura 4– mostra a distribuição idade *versus* gênero). O paciente mais jovem tinha 18 anos e o mais velho 70, com 20 pacientes tendo mais de 50 anos. Pouco menos de um quinto (19,8%) da população é do genótipo S β ⁰ e os demais são SS. A mediana da idade ao diagnóstico foi de 2 anos (IIQ de 0,7 e 7 anos).

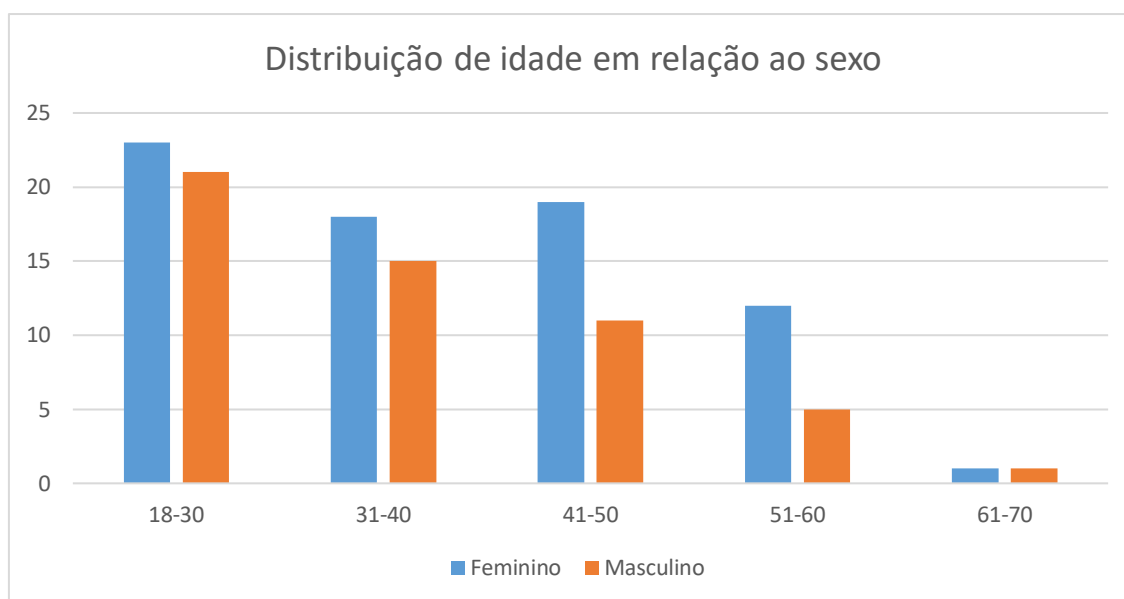
O IMC médio foi de 22,3, com pacientes de baixo peso (IMC \leq 18,5) representando 14,3% da casuística (18 indivíduos); pacientes com peso normal (IMC entre 18,6 e 24,9) correspondendo a 68,2% do total. Nos 22 pacientes restantes, 17 tinham sobrepeso (IMC entre 25 e 29,9), e 5 (3,9%) eram obesos (2 deles com obesidade grau 1 – IMC entre 30 e 34,9; 2 com obesidade grau 2 – IMC entre 35 e 39 e 1 paciente com obesidade grau 3 - IMC \geq 40). Dos 126 pacientes 78 (61,9%) eram normotensos; 20 (15,9%) tinham pressão sistólica elevada; 17 (13,4%) tinham hipertensão arterial estágio 1 e o restante (11 pacientes – 8,7%) tinha hipertensão arterial estágio 2. A saturação média de oxigênio foi de 91,6 %, com o valor mais baixo de 77%.

Tabela 1 - Características demográficas e antropométricas dos pacientes

Variável	Descrição (N = 126)
Idade (anos)	
média ± DP	37,2 ± 11,6
mediana (IIQ)	35 (28; 44,3)
Sexo, n (%)	
Masculino	53 (42,1)
Feminino	73 (57,9)
Genótipo da doença falciforme, n (%)	
SS	101 (80,2)
Sβ ⁰	25 (19,8)
Hemoglobina Fetal (%)	
média ± DP	6,47 ± 4,3
mediana (IIQ)	6 (2,7; 8,9)
IMC	
média ± DP	22,3 ± 4
mediana (IIQ)	22,2 (19,7; 23,9)
Pressão arterial média (mmHg)	
média ± DP	84,9 ± 9,9
mediana (IIQ)	84 (78; 93)
Saturação de Oxigênio (%)	
média ± DP	91,6 ± 4,3
mediana (IIQ)	92,5 (89; 95)

Abreviaturas: IMC – índice de massa corpórea

Figura 4 – Distribuição etária de acordo com sexo



A Tabela 2 mostra o padrão de complicações clínicas dos pacientes. Aproximadamente um quinto teve AVEi e destes um terço apresentou evolução para doença de Moya-Moya. A idade média ao diagnóstico de AVEi foi de $16 \pm 14,59$ anos contrastando com uma mediana de 10 anos (IIQ 17;75), explicado por uma distribuição bimodal, onde um grupo tem 21 indivíduos que tiveram AVEi entre 4 e 14 anos e um segundo grupo estão 7 pacientes que apresentaram o primeiro AVEi entre 29 e 52 anos.

A maior parte dos pacientes já apresentou STA, com 10 pacientes (7,9%) com história de intubação orotraqueal de urgência. Somente 5 pacientes da casuística tinham diagnóstico de hipertensão pulmonar confirmada em cateterismo de artéria pulmonar. A história pessoal de úlceras de membros inferiores estava presente em um terço dos pacientes e metade destes tinham úlcera ativa. Entre os pacientes do sexo masculino pouco menos de um terço dos pacientes tiveram priapismo recorrente e destes mais de 80% precisaram de drenagem cirúrgica. A complicação listada mais frequente foi a calculose biliar, vista em 77% dos pacientes, as mais incomuns são AVE hemorrágico e retinopatia grave. Pouco mais de um terço dos pacientes tiveram pelo menos 1 crise no último ano e dor crônica foi observada em aproximadamente 36% dos pacientes.

Tabela 2 – Características das complicações clínicas dos pacientes

Variável	Descrição (N = 126)
AVEi, n (%)	28(22,2)
Moya-Moya, n (%)	10 (7,9)
AVEh, n (%)	3(2,4)
STA, n (%)	90 (71,4)
Crises no ano, n (%)	49 (38,9)
Dor crônica, n (%)	46 (36,5)
Necrose avascular, n (%)	35 (27,8)
Osteomielite , n (%)	14 (11,1)
Úlceras de MMII - história, n (%)	34 (27)
Úlceras em atividade, n (%)	18 (14,3)
Retinopatia Goldberg ≥ 3 , n (%)	6 (4,8)
Trombose Venosa Profunda , n (%)	10 (7,9)
Calculose biliar, n (%)	97 (77)
Priapismo recorrente, n (%)*	16 (30,2)
Necessidade de drenagem cirúrgica , n (%)	13 (24,5)

* sexo masculino – N=53

ABREVIATURAS – AVE – Acidente Vascular Encefálico; AVEh - Acidente Vascular Encefálico Hemorrágico; AVEi - Acidente Vascular Encefálico Isquêmico; MMII – Membros inferiores; STA – Síndrome Torácica Aguda

Na Tabela 3 está descrito o tratamento dos pacientes. Mais da metade da população (57,9%) estava em uso de hidroxiureia, sendo que em 60 pacientes essa era a estratégia terapêutica exclusiva e em 13 estava combinado com a transfusão. A modalidade transfusional mais utilizada foi a transfusão com troca manual, utilizada por 23 pacientes, seguida pelo uso da eritrocitoafereze em 14 pacientes. Somente 1 paciente recebia transfusão simples em seu tratamento.

Tabela 3 – Estratégias de tratamento utilizadas pelos pacientes da casuística

Variável	Descrição (N = 126)
Hidroxiureia, n (%)	
Em uso	73 (57,9)
Indicação por crises vaso-oclusivas recorrentes	49 (38,9)
Indicação por dano orgânico crônico	24 (19)
Não está em uso	53 (42,1)
Nunca usou	25 (19,8)
Suspenso por toxicidade	9 (7,1)
Suspenso por falta de aderência ao tratamento	3 (2,4)
Suspenso por úlcera de membros inferiores	14 (11,1)
Suspenso para planejamento reprodutivo	2 (1,6)
Programa transfusional, n (%)	
Estratégia de tratamento, n (%)	
Suporte	29 (23,1)
Terapia exclusiva hidroxiureia	60 (47,6)
Transfusão	38 (30,1)
Transfusão simples	1 (0,8)
Eritrocitoferese	7 (5,5)
Transfusão de troca simples	17 (13,5)
Hidroxiureia com eritrocitoferese	7 (5,5)
Hidroxiureia com transfusão de troca	6 (4,7)

Nas Tabelas seguintes (4-7) estão descritos os resultados dos exames laboratoriais hematológicos e de bioquímica, que estão divididos em exames de avaliação de hemólise, função renal, função e lesão hepática, perfil de ferro e inflamação. Após isso virão as Tabelas com os parâmetros eletrocardiográficos (Tabelas 8 e 9) e ecocardiográficos (Tabelas 10-15) e o escore de PRe-MSCD (Tabela 16).

Para alguns parâmetros houve informações incompletas. No caso dos exames laboratoriais isso foi devido a ausência de coleta nos 30 dias que precederam a coleta dos biomarcadores. No eletrocardiograma um dos exames foi realizado e registrado em condições técnicas inadequadas e não foi apropriado para análise. No caso do ecocardiograma houve informações incompletas em decorrência de janela de visualização inadequada, sinal de

refluxo t nupe ou ritmo card cio anormal que impedia a leitura de alguns parâmetros. No apêndice A estão listadas estas informa es e sua frequência.

No hemograma (Tabela 4) foi observado um valor médio de Hb 8,28 g/dL, sendo o menor valor de 4 g/dL e o maior de 11,8 g/dL, com presença de eritroblastose mediana de 2,6 a cada 100 leucócitos, a menor contagem sendo de 0 EOC/100 leucócitos (3 pacientes) e a maior contagem 156 EOC/100 leucócitos. Nos exames de hemólise (Tabela 5) foi visto o padrão habitual de eleva o de AST, da bilirrubina indireta com a DHL elevada em média 2,4 vezes o valor de referência. O  ndice de produ o reticulocitária médio foi de 3,61.

Tabela 4 – Distribui o dos resultados do hemograma

Variável	Descri�o (N = 126)
Hemoglobina	
média \pm DP	8,28 \pm 1,38
mediana (IIQ)	8,3 (7,4; 9,3)
Eritroblastos	
média \pm DP	10,7 \pm 23,1
mediana (IIQ)	2,6 (1,3; 7,7)
Plaquetas	
média \pm DP	372,3 \pm 139,9
mediana (IIQ)	354 (281,8; 472)
Leucócitos	
média \pm DP	9 \pm 3,5
mediana (IIQ)	8,7 (6,4; 10,9)
Neutrófilos	
média \pm DP	4,78 \pm 2,5
mediana (IIQ)	4,2 (2,78; 6,2)
Linfócitos	
média \pm DP	2,8 \pm 1,01
mediana (IIQ)	2,6 (1,9; 3,5)

Tabela 5 – Distribuição dos resultados dos exames hematológicos e de bioquímica ligados a hemólise

Variável	Descrição (N = 126)
DHL	
média ± DP	520,5 ± 337,6
mediana (IIQ)	433,5 (324,8; 598,8)
Bilirrubina não-conjugada	
média ± DP	2,25 ± 2,61
mediana (IIQ)	1,4 (0,78; 2,55)
AST	
média ± DP	45 ± 23,5
mediana (IIQ)	38 (28; 54)
Reticulócitos absolutos	
média ± DP	309,9 ± 175,4
mediana (IIQ)	271 (178,5; 407)
Índice de produção reticulocitária	
média ± DP	3,61 ± 2,12
mediana (IIQ)	3,1 (2; 4,9)

ABREVIATURAS: AST- Aspartato Aminotransferase; DHL – Desidrogenase láctica

Na Tabela 6 estão os valores dos exames de função renal. O valor mais baixo do ritmo de filtração glomerular (RFG) foi de 58 mL/minuto enquanto o maior foi de 131 mL/minuto.

Tabela 6 – Distribuição dos resultados de exames de função renal

Variável	Descrição (N = 126)
Creatinina	
média ± DP	0,7 ± 0,3
mediana (IIQ)	0,6 (0,52; 0,8)
Uréia	
média ± DP	25±13,9
mediana (IIQ)	22 (17;28)
RFG	
média ± DP	97,1 ± 15,5
mediana (IIQ)	99 (86,8; 108)
Ácido Úrico	
média ± DP	5,3 ± 1,9
mediana (IIQ)	5,2 (3,8; 6,5)

ABREVIATURAS – RFG – Ritmo de Filtração Glomerular

Os exames de função e lesão hepática, ferritina e provas inflamatórias estão exibidos na Tabela 7. Hipergamaglobulinemia policlonal foi comum mas em 3 pacientes foi observado gamopatia monoclonal. Somente 4 pacientes da casuística tinham valores de BD dentro dos valores de referência, sendo que em 10 (7,9%) pacientes foi observada inversão do padrão das bilirrubinas com hiperbilirrubinemia direta (bilirrubina direta maior que a indireta).

Tabela 7 – Distribuição dos resultados de exames de inflamação, perfil de ferro e função/lesão hepática

Variável	Descrição (N = 126)
Ferritina*	
média ± DP	1481,6 ± 2205,5
mediana (IIQ)	728 (268; 1380)
Gamaglobulina	
média ± DP	1,64 ± 0,48
mediana (IIQ)	1,6 (1,3; 1,8)
Proteína C Reativa	
média ± DP	6,7 ± 8,5
mediana (IIQ)	4,3 (2; 8,3)
ALT	
média ± DP	26,7 ± 17
mediana (IIQ)	23 (15; 29,3)
AST	
média ± DP	45 ± 23,5
mediana (IIQ)	38 (28; 54)
Fosfatase alcalina	
média ± DP	104,8 ± 48,7
mediana (IIQ)	89 (75; 123,5)
Albumina	
média ± DP	4,42 ± 0,47
mediana (IIQ)	4,4 (4,2; 4,7)
Bilirrubina conjugada	
média ± DP	0,94 ± 0,96
mediana (IIQ)	0,7 (0,5; 1)
Padrão de bilirrubinas, n (%)	
Tipo 1 BI>BD	5 (4)
Tipo 2 BI>BDAnI	102 (81)
Tipo 3 BI=BDAnI	9 (7,1)
Tipo 4 BI<BD	10 (7,9)

* Nem todos possuem a informação (N para Ferritina=125)

ABREVIATURAS: ALT – Alanina Aminotransferase; AST- Aspartato Aminotransferase; BD – bilirrubina direta (conjugada); BDAnI - bilirrubina direta (conjugada) acima do valor de referência; BI – Bilirrubina indireta (não-conjugada)

Nas Tabelas 8 e 9 estão descritos os exames eletrocardiográficos. Foram vistos somente 24 (18.9%) eletrocardiogramas normais. BAV de 1º grau foi

observado em 9,6% dos pacientes e distúrbios de condução ventricular em 26,4% da população. Um paciente apresentou ritmo de fibrilação atrial, dois pacientes tinham ritmo atrial ectópico. Presença de onda Epsilon foi observada em 10,4%. Havia 40 pacientes com onda Q patológica, mas somente 2 com critérios de IAM progressivo. A prevalência de HVE ao eletrocardiograma foi de 45,6%. Nenhum exame mostrou sinais de hipertrofia ventricular direita, com um paciente apresentando sobrecarga biatrial. Cinco pacientes apresentavam intervalo QT maior que 480 ms.

Tabela 8 - Descrição dos resultados dos índices eletrocardiográficos

Variável	Descrição (N=126)
RR (ms)*	
média ± DP	854±126
mediana (IIQ)	856 (759;938)
PR (ms)*	
média ± DP	164±22
mediana (IIQ)	163 (148;175)
Duração do QRS (ms)*	
média ± DP	94±9
mediana (IIQ)	94(88;98)
QT (ms)*	
média ± DP	404±31
mediana (IIQ)	404,5(383;422,75)
QTcB (ms)*	
média ± DP	440±23
mediana (IIQ)	438(423;455,5)
QTcF (ms)*	
média ± DP	427±22
mediana (IIQ)	428(411;442)

* Nem todos possuem a informação - N dos parâmetros faltantes P=125 RR =112; QTcF=113

Tabela 9 – Resultado dos exames de eletrocardiografia

Variável	Descrição (N = 126)
BAV 1o grau , n (%)*	12 (9,6)
Bloqueio de ramo, n (%)*	
Sem bloqueio de ramo	92 (73,6)
Atraso de condução intraventricular não-específico	2 (1,6)
BRE incompleto	9 (7,2)
BRE completo	2 (1,6)
BRD incompleto	15 (12)
BRD completo	4 (3,2)
Bloqueio divisional antero-superior	1 (0,8)
Onda Epsilon, n (%)*	13 (10,4)
HVE por escore de Sokolow-Lyon, n (%)*	57 (45,6)

* Nem todos possuem a informação (N=125)

ABREVIATURAS: BRD - bloqueio de ramo direito; BRE - bloqueio de ramo esquerdo; HVE – hipertrofia ventricular esquerda

Nas Tabelas 10 a 15 estão descritos os resultados dos exames ecocardiográficos. Nos exames de parâmetros volumétricos de câmaras esquerdas foi observada a presença de HVE segundo os critérios da *American Society of Echocardiography* em 24,6% dos pacientes. Estão descritos os demais valores de dimensão e massa, com valores próximos ou pouco acima dos valores de referência da população geral, observação que se aplica também para os valores de volume e pressão das câmaras direitas. As dimensões e volumes atriais esquerdos tem valores médios superiores aos valores de referência.

Tabela 10 – Parâmetros volumétricos das câmaras esquerdas dos pacientes.

Variável	Descrição (N = 126)
Diâmetro da raiz da aorta (mm)	
média ± DP	30,8 ± 3,3
mediana (IIQ)	31 (29; 33)
Diâmetro do átrio esquerdo (mm)	
média ± DP	39,2 ± 4,7
mediana (IIQ)	39 (36; 42)
Diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo (mm)	
média ± DP	51,2 ± 5,1
mediana (IIQ)	51 (48; 53)
Diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo (mm)	
média ± DP	32,6 ± 4,6
mediana (IIQ)	32 (30; 34)
Massa Ventricular indexada (g/m²)	
média ± DP	96,9 ± 21,9
mediana (IIQ)	94 (81,2; 109,3)
Septo interventricular(mm)	
média ± DP	9,26 ± 1,01
mediana (IIQ)	9 (9; 10)
Parede posterior do ventrículo esquerdo (mm)	
média ± DP	8,76 ± 0,95
mediana (IIQ)	9 (8; 9)
Espessura relativa das paredes	
média ± DP	0,34 ± 0,05
mediana (IIQ)	0,34 (0,31; 0,38)
Hipertrofia excêntrica, n (%)	
Não	95 (75,4)
Sim	31 (24,6)
Volume diastólico final de ventrículo esquerdo indexado (mm/m²)	
média ± DP	84,7 ± 20,5
mediana (IIQ)	82,7 (70,6; 94,8)
Volume sistólico final de ventrículo esquerdo indexado (mL/m²)	
média ± DP	29,8 ± 9,1
mediana (IIQ)	28,4 (24; 34,8)
Volume de Átrio esquerdo indexado* (mL/m²)	
média ± DP	40,8 ± 10,2
mediana (IIQ)	39,5 (34,5; 44,4)

* Nem todos possuem a informação

Os parâmetros funcionais de VE (Tabela 11) estavam normais, com valores de débito e índice cardíaco nos limites superiores da normalidade. Os parâmetros de volume e dimensões do VD (Tabela 12) também estavam nos limites superiores da normalidade.

Tabela 11 – Parâmetros de função das câmaras esquerdas dos pacientes

Variável	Descrição (N = 126)
Fração de encurtamento (%)	
média ± DP	36,8 ± 2,7
mediana (IIQ)	37 (34,8; 39)
Fração de ejeção (%)	
média ± DP	0,66 ± 0,04
mediana (IIQ)	0,66 (0,63; 0,7)
Volume Stroke indexado*(ml/m²)	
média ± DP	52,6 ± 11,6
mediana (IIQ)	51,5 (45,3; 59,4)
Débito Cardíaco* (L/min)	
média ± DP	6,38 ± 1,57
mediana (IIQ)	6,1 (5,5; 7,2)
Índice cardíaco* (L/min/m²)	
média ± DP	3,76 ± 0,88
mediana (IIQ)	3,58 (3,18; 4,41)

* Nem todos possuem a informação

Tabela 12 – Parâmetros de volumes e dimensões de câmaras direitas

Variável	Descrição (N = 126)
Diâmetro da região basal de VD corte apical (mm)	
média ± DP	37,7 ± 3,7
mediana (IIQ)	38 (35; 40)
Diâmetro médio cavitário do VD corte apical(mm)	
média ± DP	29,2 ± 4,9
mediana (IIQ)	29 (26; 33)
Diâmetro do eixo longo do VD em corte apical(mm)	
média ± DP	72,1 ± 7,8
mediana (IIQ)	74 (68; 78)
Volume do átrio direito indexado (mL/m²)	
média ± DP	28,7 ± 7,7
mediana (IIQ)	27,4 (23,9; 33,3)
Volume do ventrículo direito indexado*(mL/m²)	
média ± DP	28 ± 6,9
mediana (IIQ)	28 (22,4; 33)
Diâmetro da Veia Cava Inferior (mm)	
média ± DP	19,3 ± 4
mediana (IIQ)	20 (17; 22)

* Nem todos possuem a informação

Os parâmetros funcionais das câmaras direitas (Tabela 13) também estavam, em geral, no limite da normalidade. No estudo por Dopplerfluxometria da válvula mitral (tabela 14) 13,8% dos pacientes tinham critérios de disfunção diastólica, com 22,3% tendo relação E/e' acima de 8. Dos 105 pacientes com VRT mensurável, 35 tinham valores maiores ou iguais a 2,5 m/seg, com 10 tendo valores de pelo menos 2,8 m/seg.

Tabela 13 – Características ecocardiográficas para avaliação de função de VD

Variável	Descrição (N = 126)
Velocidade de regurgitação da tricúspide* (m/s)	
média ± DP	2,25 ± 0,51
mediana (IIQ)	2,31 (1,86; 2,58)
TAPSE (mm)	
média ± DP	23,7 ± 3,4
mediana (IIQ)	24 (21; 26)
FAC (%)	
média ± DP	44,2 ± 5
mediana (IIQ)	43 (41; 46)
MPI-VD*	
média ± DP	0,31 ± 0,11
mediana (IIQ)	0,26 (0,22; 0,38)
Pressão do átrio direito	
média ± DP	8,4 ± 2,9
mediana (IIQ)	10 (5; 10)

ABREVIATURAS – TAPSE- *tricuspid annular plane systolic excursion*, FAC - *fractional area change*, MPI (*Myocardial Performance Index*) do VD

* Nem todos possuem a informação

As medidas de deformação por *Speckle Tracking* e índices de trabalho derivados (Tabela 15) estavam dentro dos valores de referência excetuando o índice de rigidez atrial que estava elevado em 68,3% dos pacientes. Os valores de *Strain* atrial estavam dentro dos limites de referência para a função conduto, mas valores reduzidos para as funções reservatório e de contração

Tabela 14 - Descrição das características dopplerfluxométricas da válvula mitral

Variável	Descrição (N = 126)
Pico de velocidade A da válvula mitral	
média ± DP	0,56 ± 0,16
mediana (IIQ)	0,54 (0,46; 0,65)
Relação EA da válvula mitral	
média ± DP	1,77 ± 0,82
mediana (IIQ)	1,59 (1,37; 2)
TRIV	
média ± DP	104,2 ± 13,6
mediana (IIQ)	104 (96; 110)
Tempo de desaceleração da onda E	
média ± DP	195,1 ± 47,7
mediana (IIQ)	197,5 (168,5; 229,3)
Disfunção diastólica, n (%)*	
Ausente	106 (86,2)
Grau 1	9 (7,3)
Grau 2	8 (6,5)
e' lateral*	
média ± DP	0,14 ± 0,13
mediana (IIQ)	0,11 (0,1; 0,14)
e' septal*	
média ± DP	0,17 ± 0,08
mediana (IIQ)	0,16 (0,12; 0,2)
Relação E/e' *	
média ± DP	6,84 ± 2,22
mediana (IIQ)	6,32 (5,37; 7,52)
E/e' categórica para valor de 8 n (%)*	
< 8	94 (77,7)
≥ 8	27 (22,3)

ABREVIATURAS :TRIV – tempo de relaxamento isovolumétrico

* Nem todos possuem a informação

Tabela 15 - Características dos resultados de análise do *Strain/Speckle tracking*

Variável	Descrição (N = 126)
Global Longitudinal Strain de VD parede livre*	
média ± DP	28,3 ± 3,6
mediana (IIQ)	27,8 (25,3; 30,7)
Global Longitudinal Strain de VD*	
média ± DP	24,1 ± 2,9
mediana (IIQ)	23,5 (22,1; 25,4)
Global Longitudinal Strain VE*	
média ± DP	20,5 ± 1,6
mediana (IIQ)	20,5 (19,8; 21,5)
Global Work Index*	
média ± DP	1972,7 ± 294,1
mediana (IIQ)	1904 (1769; 2136)
Global Constructive Work*	
média ± DP	2220,8 ± 322,6
mediana (IIQ)	2190 (1999; 2351)
Global Work Waste*	
média ± DP	73,6 ± 50,2
mediana (IIQ)	64 (41; 88)
Global Work Efficiency*	
média ± DP	96 ± 3,1
mediana (IIQ)	97 (96; 97)
Strain Átrio Esquerdo Volume reservatório*	
média ± DP	32,6 ± 6,6
mediana (IIQ)	33 (28; 37)
Strain do átrio esquerdo Valores conduto*	
média ± DP	22,4 ± 5,9
mediana (IIQ)	22 (19; 26)
Strain do átrio esquerdo Valores contração*	
média ± DP	10 ± 3,1
mediana (IIQ)	10 (8; 12)
Volume atrial esquerdo máximo*	
média ± DP	68,6 ± 18,4
mediana (IIQ)	65 (54,5; 77)
Rigidez atrial*	
média ± DP	0,22 ± 0,11
mediana (IIQ)	0,19 (0,15; 0,24)

* Nem todos possuem a informação

Com os resultados da avaliação clínica, exames laboratoriais e de ecocardiograma foi calculado o escore de gravidade PRe-MSCD (Tabela 16). A maior parte dos pacientes (44%) se concentrou nos escores de risco

intermediário 1. O segundo grupo mais representado era o de baixo risco (35,7%).

Tabela 16 Distribuição dos pacientes de acordo com o Escore PRe-MSCD

Variável	Descrição (N = 126)
Escore PRe-MSCD	
média ± DP	1,94 ± 1,11
mediana (IIQ)	2 (1; 3)
Baixo risco	
Escore 0 n (%)	9 (7,1)
Escore 1 n (%)	36 (28,6)
Intermediário 1	
Escore 2 n (%)	49 (38,9)
Escore 3 n (%)	19 (15,1)
Intermediário 2	
Escore 4 n (%)	11(8,7)
Alto Risco	
Escore 5 n (%)	2 (1,6)

Abreviaturas – PRe-MSCD - A Phenotypic Risk Score for Prediction of Mortality in Sickle Cell Disease

Na Tabela 17 estão descritos os resultados das dosagens de biomarcadores. Foram detectados valores de Hs-cTn T de alta sensibilidade (hs-cTnT) em 55,6% das amostras e Hs-cTn I (hs-cTnI) em 56,3% dos casos. Em 3 das 70 amostras positivas para hs-cTnT (2,38%) havia valores acima do percentil 99º (> 14 ng/mL), em 2 das 71 amostras positivas para hs-cTnI (1,58%) estavam acima deste percentil (>40ng/L). As demais medidas estavam entre os valores mínimos de detecção dos métodos (3 ng/L para hs-cTnT e 2,5 ng/L para hs-cTnI) e o 99º percentil.

Tabela 17 – Descrição dos resultados das dosagens dos biomarcadores cardíacos

Variável	Descrição (N = 126)
hs-cTnT (ng/L)	
média ± DP	3,81 ± 4,18
mediana (IIQ)	4 (0; 6)
hs-cTnT, n (%)	
Indetectável (<3ng/L)	56 (44,4)
Detectável	70 (55,6)
hs-cTnI (ng/L)	
média ± DP	5,76 ± 14,62
mediana (IIQ)	3 (0; 5)
hs-cTnI, n (%)	
Indetectável (<2,5ng/L)	55 (43,7)
Detectável	71 (56,3)
NT-PRO-BNP (ng/L)	
média ± DP	243,1 ± 625,8
mediana (IIQ)	102,5 (51,5; 235,3)
ST2 (ng/mL)	
média ± DP	19,4 ± 11,3
mediana (IIQ)	15,8 (11,8; 21,9)
Galectina 3 (ng/mL)	
média ± DP	33,6 ± 26,3
mediana (IIQ)	24,4 (19,2; 39,3)

Na Tabela 18 é mostrada distribuição das detecções de hs-cTn T e I, sendo possível observar que 35 pacientes tinham amostras negativas para ambas as hs-cTn e 50 tem amostras positivas para os dois biomarcadores. Os 41 restantes são pacientes que tiveram valores divergentes para alguma das hs-cTn, estando divididos de forma praticamente igual.

Tabela 18 – Tabela 2x2 mostrando a distribuição das medidas de valores de hs-cTn

		hs-cTnI	
		Detectável	Não-detectável
hs-cTnT	Detectável	50	20
	Não-detectável	21	35

O valor mediano do NT-pró-BNP foi de 102,5 ng/L. O menor valor registrado foi de 10 pg/mL enquanto o maior valor foi de 5860 ng/L. Um total de 47 pacientes (37%) apresentava valor acima de 160 ng/L. Estavam acima do valor de corte de referência da população geral (125 ng/L) 44% dos pacientes.

O valor médio de ST2s estava dentro dos valores de referência da literatura com 11 % dos pacientes apresentando valores acima de 35 ng/mL. Em relação à galectina-3, 42,8% das amostras estavam com valores acima de 27,5 ng/mL. Todos os biomarcadores tiveram sua correlação avaliadas com as variáveis clínicas, laboratoriais, eletrocardiográficas e ecocardiográficas. Para facilitar a compreensão descreveremos as análises das hs-cTns e pró-NT-BNP em separado dos novos biomarcadores (ST2 e GAL-3).

As Tabelas 19 a 38 mostra a comparação dos biomarcadores hs-cTn T, hs-cTn I e NT-pró-BNP com os diferentes parâmetros. Os parâmetros quantitativos foram analisados com o teste de correlação de *Spearman*. As características qualitativas foram comparadas com os biomarcadores pelo teste de *Mann-Whitney*. Diferentes parâmetros avaliados apresentaram correlações estatisticamente significativas com os biomarcadores ($p < 0,05$), sendo destacados em negrito.

Na Tabela 19 é observada a correlação com características demográficas e antropométricas, com os três biomarcadores mostrando correlação com a idade.

Na Tabela 20 está o resultado das comparações demográficas qualitativas. É observado que NT-pró-BNP apresentou valores maiores em pacientes do sexo feminino. Não são observadas correlações com complicações neurológicas (Tabela 21). Em relação às outras complicações órgão-específicas os três biomarcadores se correlacionaram com a história de úlceras de membros inferiores (Tabela 22).

Tabela 19 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com características quantitativas demográficas e antropométricas

Correlação		hs-cTn T	hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Idade	r	0,452	0,310	0,508
	p	<0,001	<0,001	<0,001
Hemoglobina Fetal	r	-0,087	-0,024	0,010
	p	0,333	0,792	0,913
IMC	r	0,081	0,167	0,000
	p	0,367	0,062	1,000
Pressão arterial média	r	0,255	0,201	0,080
	p	0,004	0,024	0,373
Saturação de O ₂	r	-0,236	-0,163	-0,231
	p	0,008	0,069	0,009

Abreviatura – IMC – Índice de massa corpórea

Tabela 20- Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características demográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	sexo		
	Masculino	Feminino	
hs-cTn T	4,4 ± 4,26 4 (0; 6,5)	3,38 ± 4,1 0 (0; 6)	0,177
hs-cTn I	5,9 ± 16,5 3 (0; 5)	5,7 ± 13,2 3 (0; 5,5)	0,576
NT-Pró-BNP	226 ± 797 70 (46; 177)	255,6 ± 469,9 149 (66; 249,5)	0,005
	Subtipo de DF		
	SS	Sβ ^o	
hs-cTn T	3,86 ± 4,27 4 (0; 6)	3,6 ± 3,87 4 (0; 5,5)	0,805
hs-cTn I	6,3 ± 15,9 3 (0; 5,5)	3,6 ± 7,7 0 (0; 4)	0,239
NT-Pró-BNP	249,1 ± 685,5 106 (52,5; 221)	219 ± 285,2 90 (47; 321)	0,811

Tabela 21 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações neurológicas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	AVEi		
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,94 ± 4,36 4 (0; 6,25)	3,36 ± 3,52 4 (0; 5,75)	0,633
hs-cTn I	6 ± 16,1 3 (0; 5)	4,8 ± 7,5 3 (0; 5,8)	0,662
NT-Pró-BNP	271,5 ± 706,1 90,5 (49,8; 241,3)	143,9 ± 93,5 123 (66,3; 226,5)	0,662
	AVEh		
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,8 ± 4,2 4 (0; 6)	4,33 ± 4,04 5 (0; *)	0,694
hs-cTn I	5,9 ± 14,8 3 (0; 5)	2,3 ± 4 0 (0; *)	0,638
NT-Pró-BNP	242,4 ± 633,2 96 (50; 232)	273,7 ± 149 242 (143; *)	0,110
	Moya-Moya		
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,8 ± 4,17 4 (0; 6)	3,9 ± 4,48 4 (0; 5,75)	0,913
hs-cTn I	5,7 ± 15,1 3 (0; 5)	6,5 ± 7,2 5 (0; 10,8)	0,160
NT-Pró-BNP	250,6 ± 651 98,5 (52; 234,3)	157 ± 125,5 136,5 (38,8; 270,3)	0,960

Tabela 22 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações órgão-alvo específicas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Necrose avascular		
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,36 ± 3,83 4 (0; 5)	4,97 ± 4,84 5 (0; 9)	0,053
hs-cTn I	6,6 ± 16,8 3 (0; 5)	3,5 ± 5,3 0 (0; 5)	0,395
NT-Pró-BNP	278,8 ± 729,5 106 (52; 236)	150,5 ± 137,3 81 (45; 235)	0,479
Úlceras de MMII			
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,01 ± 3,74 0 (0; 5)	5,97 ± 4,58 5,5 (4; 8,25)	<0,001
hs-cTn I	4,4 ± 11,5 1,5 (0; 4)	9,5 ± 20,6 4,5 (0; 8,3)	0,003
NT-Pró-BNP	178,1 ± 332,5 86,5 (49,3; 211,8)	419,3 ± 1065,3 149,5 (75,3; 305,8)	0,025
Retinopatia Goldberg			
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,79 ± 4,25 4 (0; 6)	4,17 ± 2,4 4 (3; 6,25)	0,648
hs-cTn I	5,9 ± 15 3 (0; 5)	3,5 ± 3,4 3 (0; 7,3)	0,820
NT-Pró-BNP	248 ± 640,9 94 (50; 235,8)	145,2 ± 64,6 118,5 (98,3; 214,3)	0,481
Priapismo recorrente			
	Não	Sim	p
hs-cTn T	4,13 ± 4,55 4 (0; 6)	4,19 ± 3,56 4 (0; 6,75)	0,725
hs-cTn I	6,4 ± 19,3 3 (0; 5)	2,8 ± 2,6 3 (0; 4,8)	0,945
NT-Pró-BNP	273,1 ± 938,9 76,5 (45,8; 160)	87 ± 75,2 61,5 (34,5; 124,3)	0,280

Não se observou correlação dos níveis de hs-cTn ou de NT-pró-BNP com o tipo de tratamento (Tabela 23). Foram testadas tanto as diferentes estratégias quanto programa transfusional versus hidroxiureia exclusivamente

Tabela 23 - Hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características de tratamento (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Programa Transfusional		p
	Não	Sim	
hs-cTn T	3,97 ± 4,41	3,45 ± 3,62	0,627
	4 (0; 7)	4 (0; 5,25)	
hs-cTn I	5 ± 13,6	7,5 ± 16,8	0,311
	3 (0; 5)	3 (0; 5,3)	
NT-Pró-BNP	286,2 ± 743,3	143,4 ± 96	0,730
	91 (49,3; 239,8)	114,5 (66; 230,5)	
Hidroxiureia			
Variável	Sim	Não	p
hs-cTn T	4,01 ± 4,2	4 ± 3,1	0,630
	4 (0; 6)	4 (0; 6)	
hs-cTn I	5 ± 13,6	6,7 ± 13	0,390
	3 (0; 5)	3 (0; 5,3)	
NT-Pró-BNP	290 ± 718	158 ± 76	0,415
	94 (50; 260,3)	109 (58; 215)	

Em relação aos exames laboratoriais hematológicos (Tabela 24) foi observada correlação da hemoglobina com hs-cTnT e NT-pró-BNP. Além disso, NT-pró-BNP foi correlacionada com os neutrófilos.

Tabela 24 – Correlações de Spearman dos valores de hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP com as características hematológicas quantitativas

Correlação		Hs-cTn T	Hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Hemoglobina	r	-0,184	-0,096	-0,388
	p	0,039	0,287	<0,001
Eritroblastos	r	-0,063	0,060	-0,048
	p	0,482	0,507	0,595
Plaquetas	r	-0,105	-0,014	-0,110
	p	0,243	0,875	0,218
Leucócitos	r	0,024	0,038	0,146
	p	0,794	0,671	0,102
Neutrófilos	r	0,019	0,067	0,178
	p	0,834	0,457	0,046
Linfócitos	r	0,054	-0,007	0,057
	p	0,550	0,942	0,527

Na Tabela 25 são mostradas as correlações dos valores das hs-cTns e NT-pró-BNP com os parâmetros de hemólise. Para melhor comparação além dos marcadores tradicionais de hemólise também foi feita a *Análise de Componentes Principais* para criação de um Índice de Hemólise calculado pela fórmula abaixo:

$$\text{Índice de hemólise} = (0,391 \times \text{padAST}) + (0,354 \times \text{padBilirrubina}) + (0,374 \times \text{padDHL}) + (0,306 \times \text{padReticulócitos absolutos})$$

As variáveis utilizadas na fórmula mostram o valor padronizado dos marcadores de hemólise pela modelagem estatística (valor da variável – média)/Desvio padrão.

Tabela 25 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros de hemólise

Correlação		Hs-cTn T	Hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Desidrogenase láctica	r	0,100	0,165	0,287
	p	0,263	0,064	0,001
ALT	r	-0,071	-0,038	-0,219
	p	0,431	0,673	0,014
Bilirrubina não-conjugada	r	-0,259	-0,045	0,038
	p	0,003	0,617	0,676
Reticulócitos absolutos	r	-0,006	0,038	0,183
	p	0,944	0,670	0,041
Índice de produção reticulocitária	r	-0,047	0,039	0,058
	p	0,603	0,667	0,516
Índice de hemólise	r	0,006	0,126	0,190
	p	0,944	0,162	0,034

Somente o NT-pró-BNP apresentou correlação estatisticamente significativa com o Índice de Hemólise. A hs-cTnT foi inversamente correlacionada com os valores de bilirrubina não-conjugada.

Em relação aos parâmetros inflamatório/ ferritina/ função e lesão hepática (Tabela 26) a hs-cTnT apresentou correlação estatisticamente significativa com fosfatase alcalina e proteína C reativa. Houve uma correlação inversa entre albumina e hs-cTnT e NT-pró-BNP.

Tabela 26 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros de ferro/inflamação e lesão/função hepática

Correlação		hs-cTn T	hs-cTn I	NT-PRO-BNP
ALT	r	-0,071	-0,038	-0,219
	p	0,431	0,673	0,014
AST	r	0,098	0,167	0,067
	p	0,275	0,062	0,454
Fosfatase alcalina	r	0,206	0,139	0,062
	p	0,021	0,120	0,492
Albumina	r	-0,182	-0,076	-0,217
	p	0,041	0,397	0,015
Bilirrubina conjugada	r	0,036	0,073	0,112
	p	0,685	0,419	0,211
Ferritina	r	0,024	0,030	0,160
	p	0,795	0,738	0,077
Gamaglobulina	r	-0,058	0,057	0,000
	p	0,519	0,529	0,998
Proteína C Reativa	r	0,260	0,099	-0,014
	p	0,004	0,279	0,883

Nos exames de função renal (Tabela 27) houve correlação estatisticamente significativa entre ureia, creatinina, ácido úrico e RFG (inversamente) com hs-cTnT e NT-pró-BNP. No conjunto de todos os exames laboratoriais a hs-cTnI apresentou correlação somente com os valores de ácido úrico.

Tabela 27 - Correlações de Spearman dos valores de hs-cTn T, hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de parâmetros da função renal

Correlação		hs-cTn T	hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Ureia	r	0,325	0,090	0,546
	p	<0,001	0,317	<0,001
Creatinina	r	0,367	0,158	0,247
	p	<0,001	0,077	0,005
RFG Falciforme	r	-0,211	-0,097	-0,202
	p	0,018	0,282	0,023
Ácido Úrico	r	0,341	0,194	0,212
	p	<0,001	0,030	0,017

Nos índices eletrocardiográficos (tabela 28) o intervalo QT tanto bruto quanto corrigido mostrou correlação com hs-cTnI. Em relação às características eletrocardiográficas (tabela 29) nenhum dos biomarcadores (hs-cTn T, hs-cTn I e NT-pro-BNP) apresentou correlação estatisticamente significativa.

Tabela 28 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas dos índices do eletrocardiograma

		RR	PR	QRS	QT	QTcB	QTcF
hs-cTnT	r	-.026	.093	.086	.000	.039	-.033
	p	.790	.309	.346	.998	.665	.730
hs-cTnI	r	.111	.082	.161	.249	.188	.208*
	p	.245	.365	.071	.005	.035	.027
NT-pro-BNP	r	-.048	-.027	.016	.052	.132	.125
	p	.612	.766	.858	.564	.142	.189

Tabela 29 - hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características eletrocardiográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	BAV 1o grau		
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,81 ± 4,31	3,75 ± 2,99	0,711
	4 (0; 6)	4,5 (0; 6)	
hs-cTn I	6,2 ± 15,4	2,5 ± 3,1	0,430
	3 (0; 5)	1,5 (0; 4,5)	
NT-Pró-BNP	253,3 ± 658,7	163,7 ± 143,5	0,530
	92 (50; 238,5)	118,5 (83; 209)	
Onda Epsilon			
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,98 ± 4,22	2,23 ± 3,79	0,123
	4 (0; 6)	0 (0; 5)	
hs-cTn I	6,2 ± 15,4	2,6 ± 3,4	0,498
	3 (0; 5)	0 (0; 5)	
NT-Pró-BNP	255,5 ± 660,6	151,8 ± 169,7	0,342
	107 (53,3; 234,3)	66 (41; 277,5)	
HVE por Sokolow-Lyon			
	Não	Sim	p
hs-cTn T	3,79 ± 4,1	3,81 ± 4,34	0,780
	4 (0; 7)	4 (0; 5,5)	
hs-cTn I	5,3 ± 12,8	6,4 ± 16,7	0,415
	1,5 (0; 5)	3 (0; 5)	
NT-Pró-BNP	280,4 ± 771,6	202,2 ± 397,2	0,494
	107 (56,3; 239,5)	90 (50; 232,5)	

Em relação ao ecocardiograma nos parâmetros quantitativos de câmara esquerda (Tabela 30) foram observadas várias correlações com dimensões cavitárias e volumes com a hs-cTnT e hs-cTnI. Ambas e o NT-pró-BNP foram correlacionados com a massa ventricular indexada e com o volume indexado do átrio esquerdo.

Tabela 30 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (dimensões e volumes de câmaras esquerdas)

Correlação		hs-cTn T	hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Diâmetro da raiz da aorta	r	0,182	0,180	0,013
	p	0,041	0,044	0,887
Diâmetro do átrio esquerdo	r	0,203	0,250	0,160
	p	0,022	0,005	0,073
Diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo	r	-0,001	0,148	-0,022
	p	0,992	0,099	0,805
Diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo	r	-0,029	0,132	-0,070
	p	0,744	0,140	0,435
Massa Ventricular indexada	r	0,271	0,303	0,205
	p	0,002	0,001	0,022
Septo interventricular	r	0,341	0,315	0,144
	p	<0,001	<0,001	0,109
Parede posterior do ventrículo esquerdo	r	0,306	0,331	0,125
	p	<0,001	<0,001	0,162
Espessura relativa das paredes	r	0,236	0,142	0,075
	p	0,008	0,112	0,401
Volume diastólico final de ventrículo esquerdo indexado	r	0,171	0,296	0,045
	p	0,055	0,001	0,620
Volume sistólico final de ventrículo esquerdo indexado	r	-0,013	0,209	-0,085
	p	0,882	0,019	0,343
Volume de Átrio esquerdo indexado	r	0,301	0,264	0,226
	p	0,001	0,003	0,011

Em relação aos índices funcionais (Tabela 31) todos os biomarcadores foram correlacionados com o volume sistólico (*stroke*) indexado. Houve uma correlação entre hs-cTnT e fração de ejeção. O NT-pró-BNP e a hs-cTnT foram correlacionados com o índice cardíaco.

Tabela 31 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras esquerdas)

Correlação		Troponina T	Troponina I	NT-PRO-BNP
Fração de encurtamento	r	0,075	-0,029	0,066
	p	0,405	0,746	0,466
Fração de ejeção	r	0,185	-0,002	0,165
	p	0,038	0,986	0,065
Volume <i>Stroke</i> indexado	r	0,339	0,300	0,250
	p	<0,001	0,001	0,005
Débito Cardíaco	r	0,238	0,177	0,108
	p	0,008	0,050	0,236
Índice cardíaco	r	0,288	0,155	0,194
	p	0,001	0,087	0,032

Em relação aos parâmetros quantitativos de câmara direita (Tabela 32) houve algumas correlações volumétricas com as hs-cTns mas somente a hs-cTnI foi associada com VRT. Os demais marcadores de desempenho das câmaras direitas não apresentaram correlação com esses biomarcadores (Tabela 33).

Tabela 32 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (dimensões e volumes de câmaras direitas)

Correlação		Hs-cTn T	Hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Diâmetro da região basal de VD corte apical	r	0,189	0,251	-0,055
	p	0,034	0,005	0,538
Diâmetro medio cavitário do VD corte apical	r	0,102	0,068	-0,056
	p	0,254	0,451	0,533
Diâmetro do eixo longo do VD em corte apical	r	0,100	0,047	-0,055
	p	0,264	0,604	0,543
Volume do átrio direito indexado	r	0,239	0,143	0,085
	p	0,007	0,109	0,343
Volume do ventrículo direito indexado	r	0,117	0,110	-0,118
	p	0,193	0,220	0,191

Correlação de Spearman

Tabela 33 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras direitas).

Correlação		hs-cTnT	hs-cTnI	NT-PRO-BNP
Velocidade de regurgitação da tricúspide	r	0,191	0,356	0,171
	p	0,051	<0,001	0,080
TAPSE	r	0,123	0,150	0,009
	p	0,170	0,093	0,919
Pressão do átrio direito	r	0,005	0,066	0,009
	p	0,956	0,465	0,922
FAC	r	-0,041	-0,103	-0,007
	p	0,649	0,252	0,940
MPI-VD	r	0,134	0,002	0,042
	p	0,158	0,981	0,658

Abreviaturas – FAC – *fractional área change*, MPI – *myocardial performance index*, TAPSE - *tricuspid annular plane systolic excursion*

Em relação aos parâmetros diastólicos (Tabela 34) os três biomarcadores foram correlacionados com o pico de velocidade A, e' septal (de forma inversa) e com a relação E/e'. O NT-pró-BNP e a hs-cTnT convergiram na relação E/A e somente o NT-pró-BNP teve correlação com o e' lateral.

Tabela 34 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTn I e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de dopplerfluxometria de válvula mitral –parâmetros diastólicos)

Correlação		Hs-cTn T	Hs-cTn I	NT-PRO-BNP
Pico de velocidade A da válvula mitral	r	0,253	0,176	0,308
	p	0,004	0,049	<0,001
Pico de velocidade E da válvula mitral	r	-0,078	-0,015	0,126
	p	0,390	0,867	0,161
Relação E/A da válvula mitral	r	-0,264	-0,111	-0,186
	p	0,003	0,218	0,037
TRIV	r	0,140	0,088	-0,078
	p	0,119	0,326	0,383
Tempo de desaceleração da onda E	r	0,063	0,046	-0,023
	p	0,485	0,612	0,801
e' lateral	r	-0,115	-0,164	-0,272
	p	0,210	0,072	0,003
e' septal	r	-0,232	-0,251	-0,315
	p	0,011	0,006	<0,001
Relação E/e'	r	0,190	0,243	0,442
	p	0,037	0,007	<0,001

Na avaliação de parâmetros qualitativos do ecocardiograma (Tabela 35) o NT-pró-BNP e hs-cTnI foram correlacionados com HVE. Os três biomarcadores foram correlacionados com disfunção diastólica e quando utilizado o *cut-off* de 8 para relação E/e' a hs-cTnI foi a única que não mostrava correlação.

Tabela 35 - hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP e resultado dos testes comparativos com características ecocardiográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	HVE Excêntrica		p
	Não	Sim	
hs-cTn T	3,56 ± 4,2 4 (0; 6)	4,58 ± 4,08 5 (0; 7)	0,129
hs-cTn I	4,3 ± 10,9 3 (0; 4)	10,3 ± 22,1 5 (0; 8)	0,006
NT-Pró-BNP	226,5 ± 658,6 85 (49; 212)	294 ± 518,9 161 (79; 254)	0,033
	Disfunção diastólica		p
	Não	Sim	
hs-cTn T	3,32 ± 3,62 4 (0; 6)	6,82 ± 5,74 7 (2; 10,5)	0,011
hs-cTn I	5,4 ± 15,3 3 (0; 5)	8,5 ± 11,3 5 (0; 11)	0,046
NT-Pró-BNP	162,6 ± 287,2 91,5 (49; 221,5)	434,9 ± 678,9 185 (88; 424)	0,007
	Relação E/e' > 8		p
	Não	Sim	
hs-cTn T	3,51 ± 4,09 4 (0; 5)	5,11 ± 4,14 6 (0; 8)	0,042
hs-cTn I	5,9 ± 16,3 3 (0; 5)	6,1 ± 8,2 4 (0; 8)	0,072
NT-Pró-BNP	153,9 ± 302,2 80,5 (46,5; 204,8)	365,9 ± 543,4 223 (129; 355)	<0,001

Na avaliação de deformação miocárdica (*strain*) de VD e VE não houve correlação com quaisquer dos biomarcadores (Tabela 36) . Houve correlação inversa de ambas hs-cTn com o *Strain* de átrio na função de reservatório e conduto, e direta com o volume atrial máximo e com a rigidez atrial. O NT-pró-BNP teve correlação com a rigidez atrial e com o *Strain* de átrio na função conduto (relação inversa).

Em relação ao trabalho miocárdico os três biomarcadores se correlacionaram com o índice global de trabalho (*Global Work Index*). Há alguma

discordância na correlação com o índice de trabalho construtivo (*Global Constructive Work*) e com o de trabalho desperdiçado. Somente a hs-cTnI foi correlacionada (de forma inversa) com a eficiência do trabalho (*Global Work Efficiency*)

Tabela 36 - Correlações de Spearman dos valores de Hs-cTn T, Hs-cTnI e NT-pro-BNP com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de *strain* e *speckle tracking*)

Correlação		Hs-cTn T	Hs-cTn I	NT-PRO-BNP
<i>Global Longitudinal Strain</i> de VD parede livre	r	0,048	0,059	0,157
	p	0,593	0,513	0,082
<i>Global Longitudinal Strain</i> de VD	r	0,005	0,020	0,121
	p	0,959	0,829	0,180
<i>Global Longitudinal Strain</i> VE	r	-0,055	-0,144	0,067
	p	0,543	0,111	0,463
<i>Global Work Index</i>	r	0,304	0,228	0,301
	p	0,001	0,011	0,001
<i>Global Constructive Work</i>	r	0,277	0,160	0,211
	p	0,002	0,077	0,019
<i>Global Work Waste</i>	r	0,114	0,230	0,255
	p	0,210	0,010	0,004
<i>Global Work Efficiency</i>	r	-0,064	-0,233	-0,169
	p	0,480	0,010	0,061
<i>Strain</i> Átrio Esquerdo Volume reservatório	r	-0,261	-0,181	-0,148
	p	0,003	0,043	0,100
<i>Strain</i> do átrio esquerdo Valores conduto	r	-0,225	-0,209	-0,217
	p	0,012	0,019	0,015
<i>Strain</i> do átrio esquerdo Valores contração	r	-0,073	0,042	0,029
	p	0,420	0,641	0,744
Volume atrial esquerdo máximo	r	0,265	0,281	0,175
	p	0,003	0,001	0,050
Rigidez atrial	r	0,296	0,243	0,395
	p	0,001	0,007	<0,001

Quando avaliados em relação ao escore prognóstico PRe-MSCD, os valores de hs-cTnT e NT-pró-BNP se correlacionaram com o escore (Tabela 37). São

apresentados também os gráficos em *box-plot* (Figuras 5-7) com a relação entre os biomarcadores e os valores dos escores.

Tabela 37 – Correlação de Spearman dos biomarcadores com o escore PRe-MSCD

Correlação		Troponina T	Troponina I	NT-PRO-BNP
Escore PRe-MSCD	r	0,354	0,172	0,228
	p	<0,001	0,054	0,010

Figura 5 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de hs-cTnI com o escore de gravidade PRe-MSCD

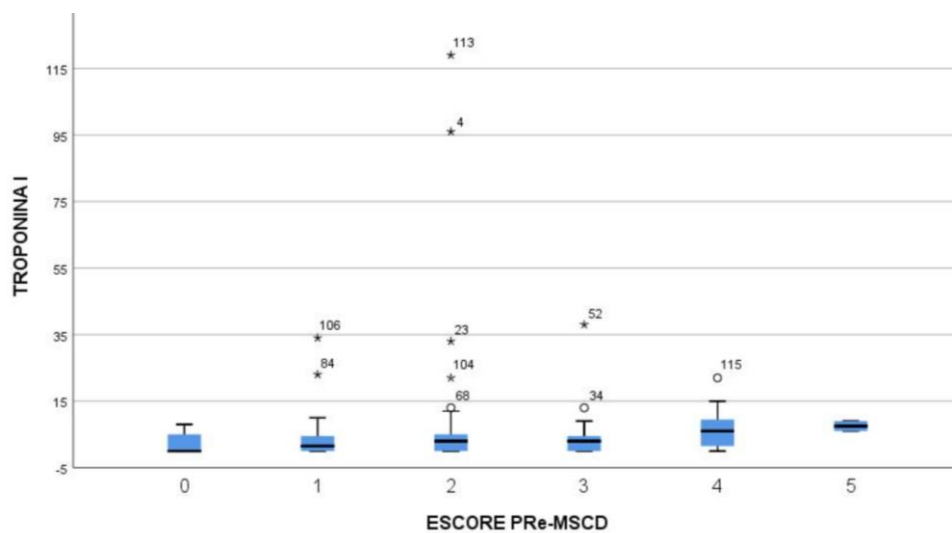


Figura 6 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de NT-pró-BNP com o escore de gravidade PRe-MSCD

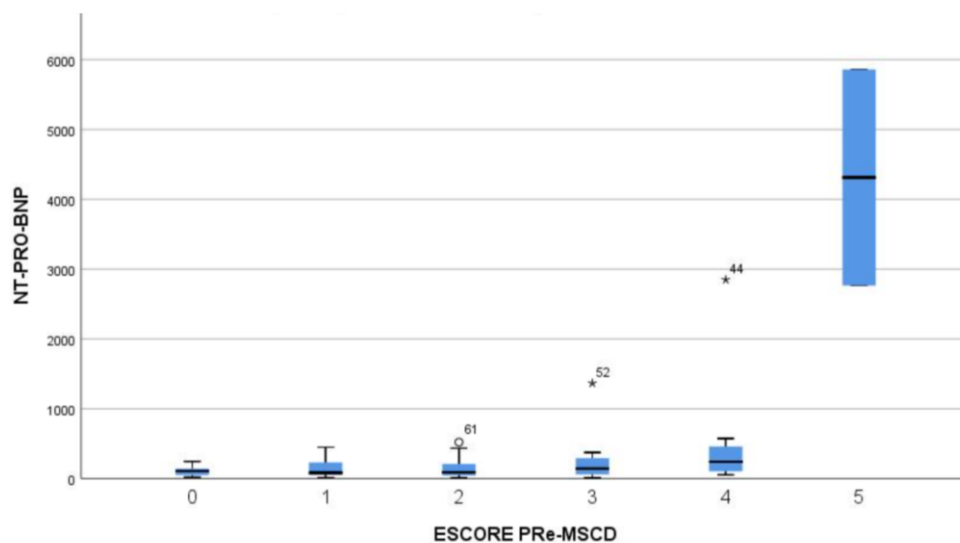
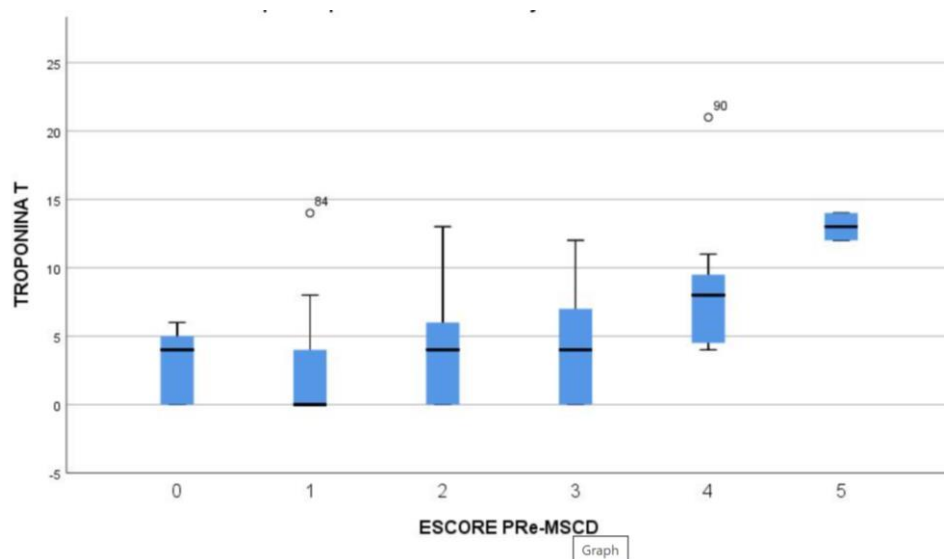


Figura 7 – Gráfico em Boxplot comparando os resultados dos valores de hs-cTnT com o escore de gravidade PRe-MSCD



Quando efetuada a análise multivariada (Tabela 38) foi constatado que nas variáveis demográficas a idade foi correlacionada com a hs-cTnT e hs-cTnI. No caso do NT-pro-BNP foi mantida correlação com o sexo feminino.

Nas variáveis laboratoriais foi mantida correlação da hs-cTnT e do NT-pró-BNP com o ácido úrico. Nenhum parâmetro laboratorial isolado foi correlacionado com a hs-cTnI, mas o índice de hemólise correlacionou-se com

esse biomarcador bem como o NT-pró-BNP. Nenhum dos parâmetros eletrocardiográficos foram correlacionados com os biomarcadores.

Nas características ecocardiográficas, tanto a hs-cTnT quanto a hs-cTnI foram correlacionadas com a massa ventricular indexada. A hs-cTnI foi correlacionado inversamente com o índice cardíaco. O NT-pró-BNP não se associou com nenhum parâmetro ecocardiográfico convencional.

Na avaliação de função diastólica tanto a hs-cTnT quanto a hs-cTnI foram correlacionadas com a relação E/A, sendo que hs-cTnT foi associada com o diagnóstico de disfunção diastólica.

Ambas hs-cTnT foram associadas positivamente com o *Global Work Index* e inversamente com o *Global Work Efficiency*. O NT-pró-BNP foi correlacionado com o *Global Work Index*.

O NT-pró-BNP se associou com a rigidez atrial; enquanto a hs-cTnT manteve correlação com o *Strain* de átrio esquerdo (diretamente com a função reservatório e inversamente com a função conduto).

No escore PRe-MSCD somente o NT-pró-BNP reteve a correlação com a hs-cTnT perdendo a correlação observada na análise bivariada.

Tabela 38. Modelos finais para explicar conjuntamente os valores de hs-cTnT, hs-cTnI e NT-pró-BNP segundo as características avaliadas nos pacientes com doença falciforme

Biomarcador	Variável	Exp(Coef.)	IC (95%)		p
			Inferior	Superior	
Troponina T*	Idade (anos)	1,03	1,02	1,03	<0,001
	Ácido Úrico	1,09	1,04	1,15	0,001
	Massa Ventricular indexada	1,01	1,00	1,01	0,020
	Relação EA da válvula mitral	0,73	0,59	0,92	0,006
	Global Work Index (x100)	1,04	1,01	1,07	0,018
	Global Work Efficiency	0,94	0,92	0,96	<0,001
Troponina I*	Disfunção diastólica	0,40	0,31	0,53	<0,001
	Idade (anos)	1,01	1,01	1,02	0,004
	Massa Ventricular indexada	1,02	1,02	1,03	<0,001
	Índice cardíaco	0,81	0,73	0,91	<0,001
	Relação EA da válvula mitral	0,74	0,61	0,89	0,001
	Global Work Index (x100)	1,07	1,04	1,10	<0,001
	Global Work Efficiency	0,96	0,94	0,98	<0,001
	Strain Átrio Esquerdo Volume reservatorio	1,05	1,02	1,07	<0,001
	Strain do átrio esquerdo Valores conduto	0,92	0,89	0,95	<0,001
Indicador de hemólise	1,24	1,14	1,34	<0,001	
NT-PRO-BNP	Sexo (Feminino)	2,11	1,52	2,92	<0,001
	Escore PRe MSCD	1,23	1,09	1,40	0,001
	Ácido Úrico	1,12	1,02	1,23	0,017
	Global Work Index (x100)	1,08	1,03	1,14	0,003
	Rigidez atrial	7,87	2,06	30,08	0,003
	Indicador de hemólise	1,16	1,00	1,34	0,048

MLG com distribuição gama; * MLG com distribuição Poisson; Todos os modelos utilizaram função de ligação logarítmica

Em relação aos biomarcadores ST2s e Gal-3 foram avaliadas as mesmas variáveis que os demais marcadores (Tabelas 39-59). Na Tabela 39 são vistas as características demográficas e antropométricas. A maior correlação observada foi com a saturação de oxigênio. Nas características demográficas qualitativas (Tabela 40) houve correlação da ST2s com o sexo masculino.

Tabela 39- Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com características quantitativas demográficas e antropométricas

Correlação		ST2s	Galectina 3
Idade	r	-0,110	0,106
	p	0,220	0,238
Hemoglobina Fetal	r	-0,141	-0,185
	p	0,115	0,039
IMC	r	-0,101	-0,065
	p	0,263	0,468
Pressão arterial média	r	0,096	0,046
	p	0,283	0,606
Saturação de O ₂	r	-0,238	-0,368
	p	0,007	<0,001

Tabela 40 - ST2s e Galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características demográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Sexo		
	Masculino	Feminino	
ST2s	24,7 ± 13	15,5 ± 7,9	<0,001
	21,7 (15,3; 32,1)	14,6 (10,6; 17,6)	
Galectina-3	32,9 ± 24,3	34 ± 27,8	0,984
	26,1 (18,3; 41,3)	24,1 (19,3; 38,7)	
Subtipo de DF			
	SS	Sβ ⁰	
ST2s	19 ± 10,8	20,9 ± 13	0,503
	15,7 (11,4; 21,6)	16,8 (12,8; 24,9)	
Galectina-3	34,6 ± 27,9	29,3 ± 18,3	0,316
	24,5 (19,4; 41,1)	22,6 (15,7; 36,3)	

Em relação às complicações clínicas neurológicas (Tabela 41) houve correlação entre aumento dos valores de GAL-3 e a prevalência de doença de Moya-Moya. Em relação a complicações dolorosas (Tabela 42) houve correlação da ST2s com ausência de episódios vaso-oclusivos agudos e da GAL-3 com ausência de dor crônica. Nenhum desses biomarcadores apresentou correlação com lesões órgão-específicas pesquisadas (Tabela 43) ou com o tipo de tratamento realizado (Tabela 44).

Tabela 41- ST2s e Galectina 3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações neurológicas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	AVEi		
	Não	Sim	p
ST2s	18,8 ± 11,6	21,5 ± 10	0,071
	15,4 (11,3; 21,4)	19,1 (14,8; 29,7)	
Galectina-3	33,4 ± 28,5	34,2 ± 16,6	0,148
	24 (17,9; 37,4)	27,4 (21,4; 47,2)	
AVEh			
	Não	Sim	p
ST2s	19,5 ± 11,4	14,7 ± 3,1	0,638
	15,7 (11,9; 21,9)	16,26 (11,12; *)	
Galectina-3	33,6 ± 26,5	31,8 ± 16,9	0,880
	24,4 (19,2; 39,1)	27,22 (17,62; *)	
Moya-Moya			
	Não	Sim	p
ST2s	19,2 ± 11,4	21,7 ± 9,1	0,146
	15,7 (11,4; 21,9)	19,3 (15,3; 25,4)	
Galectina-3	32,8 ± 26,8	42 ± 19,1	0,037
	24,1 (18,8; 37,5)	36,6 (24,9; 64,1)	

Tabela 42 - ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – Síndrome torácica aguda e complicações dolorosas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Síndrome Torácica Aguda		
	Não	Sim	p
ST2s	16,9 ± 8,9	20,3 ± 12	0,159
	15,2 (10,5; 19,9)	17,1 (12,3; 24,5)	
Galectina-3	33,2 ± 29,1	33,7 ± 25,3	0,409
	22,8 (17,9; 37,5)	26,4 (19,3; 40)	
Crises dolorosas			
	Não	Sim	p
ST2s	20,6 ± 11	17,4 ± 11,5	0,022
	16,9 (12,6; 25,1)	14,6 (11,1; 19,9)	
Galectina-3	34 ± 27,3	32,9 ± 24,9	0,962
	24,1 (19; 40,8)	27,4 (19,1; 38,6)	
Dor crônica			
	Não	Sim	p
ST2s	20,4 ± 11,8	17,6 ± 10	0,268
	16,3 (11,9; 24,6)	15,5 (11,5; 20,1)	
Galectina-3	36,2 ± 29	28,9 ± 20,4	0,032
	26,9 (21; 43,2)	21,1 (16,3; 34,1)	

Tabela 43- ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – complicações clínicas locais (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Necrose avascular		
	Não	Sim	p
ST2s	20,2 ± 11,5	17,2 ± 10,5	0,121
	16,8 (12; 24,4)	15 (11,2; 19,3)	
Galectina-3	34,7 ± 26,4	30,7 ± 26,4	0,140
	26,1 (20,3; 40,6)	20,9 (16,5; 39,1)	
Úlceras de MMII			
	Não	Sim	p
ST2s	18,8 ± 9,8	20,9 ± 14,6	0,781
	15,8 (12; 21,6)	15,9 (10; 26,3)	
Galectina-3	32,3 ± 26,2	37,1 ± 26,7	0,076
	23,8 (18,1; 37,3)	29,7 (21,1; 44,8)	
Retinopatia Goldberg			
	Não	Sim	p
ST2s	19,6 ± 11,5	15,7 ± 5,3	0,614
	16 (11,7; 21,9)	15,5 (12,9; 18,4)	
Galectina-3	33,9 ± 26,7	26,4 ± 15	0,492
	24,9 (19,2; 39,6)	21,9 (16,7; 33,5)	
Priapismo recorrente			
	Não	Sim	p
ST2s	24,2 ± 12,1	22,8 ± 11,9	0,677
	21,8 (15,4; 31,2)	19,8 (13,4; 29,9)	
Galectina-3	34,8 ± 26,1	28,3 ± 19,3	0,289
	26 (19; 50,4)	25,4 (13,1; 34,8)	

Tabela 44 - ST2s e Galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características clínicas qualitativas – tratamento (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	Programa Transfusional		
	Não	Sim	p
ST2s	18,6 ± 11,5	21,3 ± 10,6	0,065
	15,2 (11,3; 21,3)	17,9 (14,4; 28,8)	
Galectina-3	34,1 ± 30	32,4 ± 14,7	0,123
	23,8 (17,6; 39,6)	28 (21,5; 38,8)	
Hidroxiureia			
Variável	Sim	Não	p
ST2s	20,1 ± 9,4	22 ± 9,4	0,080
	16,1 (12; 24)	19 (15,6; 29,8)	
Galectina-3	34,1 ± 30	35 ± 16,3	0,250
	23,8 (17,6; 39,6)	26 (23,2; 37,9)	

Tanto a ST2s quanto a GAL-3 foram correlacionados com contagem de neutrófilos, sendo que a GAL-3 também apresentou correlação com a hemoglobina (Tabela 45). Em relação aos parâmetros de hemólise (Tabela 46) a GAL-3 foi significativamente correlacionada com todos os marcadores excetuando o IPR. A ST2s foi correlacionada com a bilirrubina não-conjugada e ambos biomarcadores foram correlacionados o índice de hemólise.

Tabela 45 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com características hematológicas quantitativas

Correlação		ST2s	Galectina 3
Hemoglobina	r	0,032	-0,254
	p	0,723	0,004
Eritroblastos	r	0,125	-0,049
	p	0,164	0,585
Plaquetas	r	-0,059	0,054
	p	0,510	0,550
Leucócitos	r	0,279	0,350
	p	0,002	<0,001
Neutrófilos	r	0,251	0,329
	p	0,005	<0,001
Linfócitos	r	0,065	0,147
	p	0,469	0,100

Tabela 46 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de parâmetros de hemólise

Correlação		ST2s	Galectina 3
Desidrogenase láctica	r	0,170	0,411
	p	0,057	<0,001
AST	r	0,400	0,377
	p	<0,001	<0,001
Bilirrubina não-conjugada	r	0,217	0,191
	p	0,015	0,032
Reticulócitos absolutos	r	0,175	0,238
	p	0,051	0,007
Índice de produção reticulocitária	r	0,124	0,155
	p	0,166	0,083
Índice de hemólise	r	0,368	0,419
	p	<0,001	<0,001

Na Tabela 47 estão as correlações com as características quantitativas de parâmetros de ferro/inflamação e lesão/função hepática. Ambos biomarcadores foram inversamente correlacionados com os valores de albumina, com o ST2s correlacionado com as gamaglobulinas, ALT e PCR. Em relação às enzimas hepáticas o ST2s foi correlacionado com a ALT e os dois biomarcadores estão correlacionados com o AST, como foi mostrado previamente nos exames de avaliação da hemólise. Em relação aos parâmetros de função renal (Tabela 48) houve correlação somente com a dosagem de ácido úrico.

Tabela 47 - Correlações de Spearman dos valores dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de parâmetros de ferro/inflamação e lesão/função hepática

Correlação		ST2s	Galectina 3
ALT	r	0,329	0,088
	p	<0,001	0,325
AST	r	0,400	0,377
	p	<0,001	<0,001
Fosfatase alcalina	r	0,189	0,126
	p	0,034	0,161
Albumina	r	-0,230	-0,209
	p	0,010	0,019
Bilirrubina conjugada	r	0,296	0,124
	p	0,001	0,166
Ferritina	r	0,045	0,069
	p	0,623	0,447
Gamaglobulina	r	0,221	0,002
	p	0,013	0,985
Proteína C Reativa	r	0,237	0,062
	p	0,009	0,496

Tabela 48 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de parâmetros da função renal

Correlação		ST2s	Galectina 3
Creatinina	r	0,025	-0,044
	p	0,778	0,622
RFG	r	0,036	0,041
	p	0,693	0,650
Ureia	r	0,009	0,109
	p	0,920	0,920
Ácido Úrico	r	0,316	0,303
	p	<0,001	0,001

Em relação aos parâmetros eletrocardiográficos (Tabela 49) não houve correlação desses biomarcadores com os parâmetros quantitativos, com o ST2s se correlacionado com presença HVE por Sokolow-Lyon (Tabela 50).

Tabela 49 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas dos índices do eletrocardiograma

		RR	PR	QRS	QT	QTcB	QTcF
ST2s	r	-0,045	0,036	0,037	--0,043	0,012	-0,094
	p	0,641	0,689	0,679	0,636	0,892	0,322
Galectina-3	r	0,033	0,030	0,153	0,012	-0,048	-0,026
	p	0,730	0,742	0,088	0,891	0,592	0,787

Tabela 50 - Descrição de ST2s e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características eletrocardiográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	BAV 1o grau		
	Não	Sim	p
ST2s	19,3 ± 11,4	20,6 ± 11,1	0,627
	15,7 (12; 21,8)	18,6 (11,2; 31)	
Galectina-3	33,1 ± 24,6	38,6 ± 40,7	0,947
	24,5 (19,1; 39,4)	24,1 (18; 46)	
Onda Epsilon			
	Não	Sim	p
ST2s	18,5 ± 10,6	26,8 ± 14,7	0,205
	15,5 (11,3; 21,5)	21 (15,8; 35,1)	
Galectina-3	32,2 ± 25,5	46 ± 31,4	0,210
	24,4 (19,2; 37,1)	50,4 (16; 68,8)	
HVE por Sokolow-Lyon			
	Não	Sim	p
ST2s	17,7 ± 10,5	21,5 ± 11,9	0,028
	15,1 (11; 20,3)	17,5 (12,4; 25,8)	
Galectina-3	32,9 ± 28	34,5 ± 24,5	0,296
	24,1 (17,7; 38,7)	26,1 (20,6; 45,6)	

No ecocardiograma convencional foi observada correlação com alguns parâmetros de dimensão do ventrículo esquerdo, especialmente por parte da GAL-3 (Tabela 51).

Tabela 51 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de ecocardiograma (câmaras esquerdas)

Correlação		ST2s	Galectina 3
Diâmetro da raiz da aorta	r	0,147	0,175
	p	0,101	0,050
Diâmetro do átrio esquerdo	r	0,122	0,099
	p	0,174	0,272
Diâmetro diastólico de ventrículo esquerdo	r	0,069	0,192
	p	0,445	0,031
Diâmetro sistólico de ventrículo esquerdo	r	0,092	0,223
	p	0,304	0,012
Massa Ventricular indexada	r	0,047	0,260
	p	0,600	0,003
Septo interventricular	r	-0,097	0,064
	p	0,280	0,480
Parede posterior do ventrículo esquerdo	r	0,005	0,109
	p	0,958	0,223
Espessura relativa das paredes	r	-0,069	-0,080
	p	0,441	0,373
Volume diastólico final de ventrículo esquerdo indexado	r	0,224	0,264
	p	0,012	0,003
Volume sistólico final de ventrículo esquerdo indexado	r	0,161	0,208
	p	0,072	0,019
Volume de Átrio esquerdo indexado	r	0,120	0,218
	p	0,181	0,014

Quando HVE é tratado como variável categórica, pelos critérios da *American Society of Echocardiography*, a GAL-3 mantém essa correlação (Tabela 52).

Tabela 52 – Descrição de ST2 e galectina-3 e resultado dos testes comparativos com características ecocardiográficas qualitativas (teste de *Mann-Whitney*)

Variável	HVE Excêntrica		
	Não	Sim	p
ST2s	19,1 ± 9,5 16,2 (12,1; 21,9)	20,3 ± 15,5 15,4 (9,8; 21,4)	0,424
Galectina-3	31,1 ± 22,6 23,5 (17,6; 37,6)	41,2 ± 34,8 29,7 (22,6; 44,1)	0,017
Disfunção diastólica			
	Não	Sim	p
ST2s	18,4 ± 9,9 15,5 (11,6; 21,5)	25,1 ± 17,1 18,1 (12,5; 39,5)	0,169
Galectina-3	33 ± 26,8 24,1 (18,5; 38)	39,4 ± 25 31,4 (22; 45,7)	0,082
Relação E/e' > 8			
	Não	Sim	p
ST2s	19,2 ± 11,3 15,5 (11,6; 22,4)	20 ± 11,8 16,9 (12,1; 21,4)	0,765
Galectina-3	30,3 ± 24 23,6 (17,9; 33,5)	44,8 ± 32,2 35,1 (23; 55,9)	0,003

Ambos biomarcadores se correlacionaram com o índice cardíaco (Tabela 53). Em contrapartida o ST2s se correlacionou, embora fracamente, com as dimensões cavitárias das câmaras direitas (Tabela 54), com nenhuma correlação por parte da GAL-3. Tanto ST2s quanto GAL-3 não se correlacionaram com parâmetros de função das câmaras direitas (Tabela 55).

Tabela 53 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina-3 com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras esquerdas)

Correlação		ST2s	Galectina 3
Fração de encurtamento	r	-0,005	-0,086
	p	0,952	0,336
Fração de ejeção	r	0,064	-0,042
	p	0,478	0,641
Volume <i>Stroke</i> indexado	r	0,220	0,163
	p	0,015	0,071
Débito Cardíaco	r	0,247	0,132
	p	0,006	0,147
Índice cardíaco	r	0,217	0,178
	p	0,016	0,048

Tabela 54 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (câmaras direitas)

Correlação		ST2s	Galectina 3
Diâmetro da região basal de VD corte apical	r	0,234	0,109
	p	0,008	0,226
Diâmetro medio cavitário do VD corte apical	r	0,163	0,206
	p	0,069	0,020
Diâmetro do eixo longo do VD em corte apical	r	0,183	0,014
	p	0,040	0,872
Volume do átrio direito indexado	r	0,224	0,103
	p	0,012	0,251
Volume do ventrículo direito indexado	r	0,262	0,113
	p	0,003	0,211

Tabela 55 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (função de câmaras direitas)

Correlação		ST2s	Galectina 3
Velocidade de regurgitação da tricúspide	r	0,128	0,147
	p	0,193	0,134
TAPSE	r	0,110	0,096
	p	0,221	0,285
Pressão do átrio direito	r	-0,034	0,071
	p	0,704	0,429
FAC	r	0,034	-0,149
	p	0,702	0,096
MPI-VD	r	-0,002	-0,094
	p	0,980	0,323

Em relação ao estudo *Doppler* de válvula mitral (Tabela 56), somente a GAL-3 foi associada com velocidade e' septal e com a relação E/e' . Quando o E/e' é tratado como variável categórica com valor de corte em 8 m/s a GAL-3 mantém essa correlação (vide tabela 52).

Tabela 56 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de dopplerfluxometria de válvula mitral)

Correlação		ST2s	Galectina 3
Pico de velocidade A da válvula mitral	r	0,108	0,090
	p	0,229	0,315
Pico de velocidade A da válvula mitral	r	0,164	-0,005
	p	0,670	0,956
Relação EA da válvula mitral	r	-0,037	0,060
	p	0,681	0,504
TRIV	r	-0,041	0,050
	p	0,650	0,580
Tempo de desaceleração da onda E	r	-0,061	0,070
	p	0,496	0,435
e' lateral	r	0,169	-0,123
	p	0,065	0,178
e' septal	r	0,076	-0,233
	p	0,407	0,010
Relação Ee'	r	-0,028	0,354
	p	0,758	<0,001

No estudo da deformação miocárdica (Tabela 57) não houve correlação da ST2s ou da GAL-3 com GLS, tanto do VD quanto do VE. ST2s foi correlacionado com o *strain* de átrio esquerdo nas funções de conduto e reservatório, enquanto a GAL-3 mostrou correlação com o volume atrial máximo e a rigidez atrial. Adicionalmente a GAL-3 mostrou correlação com *Global Work Waste* e conseqüentemente uma correlação inversa com o *Global Work Efficiency*.

Tabela 57 - Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com as características quantitativas de ecocardiograma (estudo de *strain* e *speckle tracking*)

Correlação		ST2s	Galectina 3
<i>Global Longitudinal Strain</i> de VD parede livre	r	0,028	-0,020
	p	0,761	0,822
<i>Global Longitudinal Strain</i> de VD	r	0,012	0,039
	p	0,894	0,664
<i>Global Longitudinal Strain</i> VE	r	0,097	-0,100
	p	0,283	0,269
<i>Global Work Index</i>	r	0,089	0,051
	p	0,330	0,575
<i>Global Constructive Work</i>	r	0,118	0,021
	p	0,195	0,818
<i>Global Work Waste</i>	r	0,021	0,251
	p	0,814	0,005
<i>Global Work Efficiency</i>	r	0,015	-0,216
	p	0,868	0,017
<i>Strain</i> Átrio Esquerdo Volume reservatorio	r	0,215	0,004
	p	0,016	0,967
<i>Strain</i> do átrio esquerdo Valores conduto	r	0,232	0,003
	p	0,009	0,977
<i>Strain</i> do átrio esquerdo Valores contração	r	0,085	-0,067
	p	0,343	0,456
Volume atrial esquerdo máximo	r	0,100	0,192
	p	0,265	0,032
Rigidez atrial	r	-0,118	0,240
	p	0,198	0,008

Tabela 58 Correlações de Spearman dos valores de ST2s e galectina 3 com os valores do Escore PRe-MSCD

Correlação		ST2s	Galectina 3
Escore PRe-MSCD	r	0,015	-0,017
	p	0,866	0,852

Em relação ao escore PRe-MSCD não houve correlação com ST2 ou GAL-3 (Tabela 58).

A análise multivariada (Tabela 59) a GAL-3 manteve a correlação entre os níveis de ácido úrico e a ausência de dor crônica, mantendo a relação E/e' como significativa. O ST2s foi correlacionado com o sexo feminino, com o índice cardíaco e com o *Strain* função reservatório do AE. A significância do índice de hemólise foi retida somente pelo ST2s.

Tabela 59 - Modelos finais para explicar conjuntamente os valores de ST2s e galectina-3 segundo as características avaliadas nos pacientes com doença falciforme

Biomarcador	Variável	Exp(Coef.)	IC (95%)		p
			Inferior	Superior	
ST2	Sexo (Feminino)	0,63	0,55	0,73	<0,001
	Índice cardíaco	1,11	1,02	1,21	0,015
	Strain Átrio Esquerdo Volume reservatorio	1,01	1,00	1,02	0,034
	Indicador de hemólise	1,17	1,09	1,27	<0,001
Galectina 3	Dor crônica	0,81	0,66	1,00	0,046
	Relação Ee' (≥ 8)	1,40	1,10	1,78	0,006
	Ácido Úrico	1,08	1,02	1,15	0,005

MLG com distribuição gama; * MLG com distribuição Poisson; Todos os modelos utilizaram função de ligação logarítmica

6 DISCUSSÃO

Esse é um estudo que comparou os valores de 5 biomarcadores cardíacos com características clínicas, laboratoriais, eletrocardiográficas e ecocardiográficas de uma população de adultos com formas graves de doença falciforme. Nosso objetivo era avaliar o quanto esses biomarcadores estavam elevados e se essa elevação é associada disfunção miocárdica ou com características clínicas gerais e de gravidade da doença Falciforme.

Um desses biomarcadores, o NT-pró-BNP, é amplamente disponível e de uso disseminado na prática médica. Vem sendo estudado há mais de 15 anos na Doença Falciforme e seus valores têm implicação prognóstica e diagnóstica nessa doença. Dois biomarcadores, o ST2s e a Galectina-3 (GAL-3), são de disponibilidade mais restrita. O interesse global nessas moléculas é decorrente da compreensão das suas funções nas vias de ativação de inflamação e fibrose na insuficiência cardíaca. A ST2s nunca foi avaliada na doença falciforme. A GAL-3 tem alguns poucos estudos clínicos e patológicos entre falciformes, mas sem avaliação no paciente fora de crise e como marcador de doença cardíaca.

Os dois biomarcadores restantes, a hs-cTnT e hs-cTnI, são ligados à lesão miocárdica. Além de serem usados no diagnóstico do IAM são importantes na estratificação de outras doenças cardíacas e da hipertensão pulmonar. A sensibilidade elevada dos *kits* de dosagem mais modernos permite que boa parte da população tenha níveis detectáveis de troponina. Mesmo esses valores abaixo dos *cut-offs* diagnósticos podem ter implicações prognósticas. Como visto na apresentação dos resultados, procuramos agregar a análise das hs-cTns junto ao NT-pro-BNP e estudamos os novos biomarcadores em separado.

Como visto na apresentação dos resultados, procuramos agregar a análise das hs-cTns junto ao NT-pro-BNP e estudamos os novos biomarcadores em separado.

A primeira preocupação é se a população estudada foi bem representativa do universo dos pacientes falciformes SS e S β ⁰. A predominância feminina já foi notada em outros artigos. Há aspectos similares aos da população geral, onde homens têm maior exposição ocupacional, mais comportamentos de risco com

mortes violentas, menor autocuidado e mais fatores de risco cardiovasculares²⁴⁰. Porém há fatores específicos da doença falciforme²⁴¹. A geração de óxido nítrico (NO) é maior com consumo menor nas mulheres; presumivelmente por efeito dos estrógenos²⁴². A depleção de NO causa disfunção endotelial, ativação plaquetária e aumento do tônus vasomotor levando a um fenótipo falciforme mais grave no sexo masculino, mortalidade precoce e desequilíbrio na representação dos sexos em idades mais avançadas. A Figura 1 da sessão de resultados sugere essa possibilidade mostrando, mesmo sem ter atingido significância estatística, a proporção maior de mulheres nos grupos etários mais velhos.

Outro ponto de preocupação foi em relação às medidas de pressão arterial que aparentemente são mais elevadas em nossa população do que no grupo de Pegelow, que estudou, nos anos 90, a história natural da PA no grupo cooperativo CCSSD¹⁴⁷. Como a PA foi utilizada em nossas estimativas de trabalho miocárdico essa informação é crucial. Quando nossa população é comparada com uma coorte mais contemporânea, com distribuição etária e genótipos semelhantes, há marcante similaridade na distribuição dos níveis pressóricos. Nossa classificação de HAS segue a preconizada pela força-tarefa da *American Heart Association* e do *American College of Cardiology*, mas Gordeuk et al em 2008¹⁴⁸ classificou HAS no Falciforme em 3 grupos; normal (pressão sistólica < 120 mmHg e < 70 mmHg), hipertensão relativa (pressão sistólica entre 120-139 mmHg ou diastólica entre 70-89 mmHg) e hipertensão (pressão sistólica ≥140 mmHg ou diastólica ≥90 mmHg). A distribuição respectiva de acordo com as categorias desse artigo foi de 46%, 44% e 10%. Utilizando esses critérios as proporções em nossa casuística foram muito semelhantes, respectivamente de 43%, 48,3% e 8,7%.

A prevalência de complicações crônicas e órgão-específicas foi semelhante à descrição de outras séries. O IMC, apesar de ser tradicionalmente normal ou abaixo do normal, vem registrando em coortes mais recentes uma prevalência maior de sobrepeso e obesidade, o que também observamos em nosso estudo²⁴³, refletindo a tendência populacional geral de ganho de peso.

O perfil clínico dos pacientes influencia as decisões em relação a tratamento e em nossa série aproximadamente um terço está em programa

transfusional. Além dos pacientes em profilaxia secundária por AVEi, há pacientes em regime transfusional por dano crônico de órgãos alvo, STA de repetição e colestase intrahepática.

O perfil laboratorial é bem semelhante ao descrito em outras populações²⁴⁴. Nos exames laboratoriais formulamos um Índice de hemólise por análise do componente principal. Essa é uma técnica da estatística multivariada que transforma um conjunto de variáveis originais em outro conjunto de variáveis de mesma dimensão denominadas de componentes principais. Cada componente principal é uma combinação linear das variáveis originais, são independentes entre si e estimadas com o propósito de reter o máximo de informação, em termos da variação total contida nos dados. A ideia é reduzir a massa de dados, com menor perda possível da informação²⁴⁵. Essa técnica foi utilizada em outros trabalhos para sumarizar as propriedades dos marcadores hemolíticos¹⁷⁷.

Os resultados dos exames eletrocardiográficos são similares ao de outras casuísticas⁷⁷, chamando a atenção a presença de ondas Epsilon em 10,4% dos pacientes. Ondas Epsilon são um achado característico da miocardiopatia arritmogênica do ventrículo direito e são caracterizadas por pequenas deflexões de baixa amplitude entre o final do complexo QRS e o início da onda T. Presumivelmente elas refletem potenciais de baixa amplitude causados pela excitação retardada de cardiomiócitos remanescentes no tecido intersticial fibroso e adiposo do VD. As ondas epsilon são associadas a cicatrizes endocárdicas e epicárdicas significativas²⁴⁶. Essa alteração foi descrita em 1979 por Fontaine¹⁴⁷. Hurst, em um artigo de revisão de 1998, coloca a doença falciforme como uma causa de onda epsilon, embora isso não tenha sido descrito em outros artigos²⁴⁸. A presença dessas ondas pode estar relacionada ao grau de fibrose observado em autópsias, modelos animais e em RNM do miocárdio de pacientes com DF.

Os ecocardiogramas mostram as características esperadas para esse grupo. Dimensões cavitárias e índices funcionais estão próximos ou acima do limite superior da normalidade. Como exemplo, o Índice Cardíaco foi de $3,76 \pm 0,88$ L/minuto, com os valores de referência na literatura reportados entre 2,5 e 4 L/minuto¹¹⁴. Em nossa casuística 35,7% dos pacientes tem Índice

Cardíaco acima deste valor de referência. Para efeitos de comparação, o Índice Cardíaco médio de um estudo da *World Alliance of Societies of Echocardiography Study* com 1450 adultos de 15 países foi de $2,6 \pm 0,58$ ²⁴⁹. Na nossa população 75% dos pacientes teriam o Índice Cardíaco acima dos valores de desvio-padrão desse estudo. Essa tendência reflete o padrão de circulação hiperdinâmica observado nesses pacientes.

Nossa prevalência de disfunção diastólica foi de 13,8%. Vários autores chamam a atenção de que as métricas usadas para avaliação de disfunção diastólica na DF estão alteradas pelas condições diferentes de carga dos pacientes¹⁴³. Quando se usa outros parâmetros, como níveis de corte diferentes para E/e', presença de e' septal baixa, dilatação de câmaras ou VRT elevada esses números podem aumentar e chegar a mais de 75%. Procuramos manter a classificação tradicional e explorar esses outros critérios nas análises seguintes. Na obtenção de dados chamou a atenção a ausência da leitura de VRT em 16,7% dos pacientes. Tecnicamente, apesar das janelas acústicas nos pacientes falciformes serem em geral apropriadas é esperado algum grau de leitura inadequada. A maior parte dos artigos em DF não reporta a taxa de não detecção, mas Liem estudou a reprodutibilidade deste método em pacientes falciformes encontrando uma taxa de não detecção de 10-17%, semelhante ao do nosso trabalho²⁵⁰.

Nossos pacientes foram classificados clinicamente de acordo com o escore PRe-MSCD. Como nosso estudo é transversal usamos esse método como um índice global de gravidade. Nesse escore, em particular, há a associação de informações clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas com características preditoras de mortalidade¹⁴³. Os outros escores disponíveis na literatura exigem informações genótípicas em geral não disponíveis ou não validadas²⁵¹. Na coorte do estudo que originou esse escore foram avaliados 600 pacientes, com 48% nos escores 0-1 ; 40,6% nos escores 2-3; 7% no escore 4 e 5,6% no escore 5. Em nosso grupo encontramos 35,7% nos escores 0-1; 44% nos escores 2-3; 8,7% no escore 4 e 1,6% no escore 5. Como temos poucos pacientes nos grupos mais graves, isso talvez possa limitar a extrapolação de alguns dados. O seguimento de nossa população permitirá avaliar de forma prospectiva o desempenho desse teste.

Todas essas informações clínicas mostram que nossa população é representativa do conjunto dos pacientes SS/Sβ⁰. Comparamos os biomarcadores com esses parâmetros. Em relação ao NT-pró-BNP foi observado um valor mediano de 102,55 pg/mL; acima do reportado por Machado et al que era de 72 pg/mL⁴⁹. Na avaliação das características demográficas e antropométricas houve correlação do NT-pró-BNP com idade, hipoxemia e sexo feminino. Tanto a idade quanto a hipoxemia são variáveis associadas com a gravidade na doença falciforme, com a idade sendo um fator de correção do NT-pró-BNP na população geral e uma tendência já descrita na DF. A correlação do sexo feminino com valores mais elevados não havia sido descrita na DF, mas é bem documentada na população geral, sendo provavelmente associado a influência dos hormônios sexuais na estocagem e liberação dos peptídeos natriuréticos^{252,253}. A correlação com sexo feminino persistiu na análise multivariada.

Todas as correlações laboratoriais que encontramos (Hemoglobina, neutrófilos, parâmetros de hemólise, parâmetros de disfunção renal, ácido úrico e fosfatase alcalina) são semelhantes às descritas na literatura. As alterações ecocardiográficas também vão ao encontro das evidências disponíveis, com aumento do NT-pró-BNP se correlacionado com aumento de câmaras e do índice cardíaco. O estiramento das câmaras cardíacas está associado a elevação do NT-pró-BNP, sendo isso ligado à circulação hiperdinâmica, anemia e disfunção diastólica⁴⁹. Utilizando o STE é possível ver uma boa correlação do NT-pró-BNP com rigidez atrial, recentemente descrita na literatura²⁵⁴. Esse índice, juntamente com a GWI e marcadores de hemólise e gravidade (ácido úrico) também persistiram na análise multivariada. Fica claro que o NT-pró-BNP, apesar das correlações, não substitui o ecocardiograma, mas é um biomarcador que sumariza diversos vetores fisiopatológicos da DF e tem um papel relevante no prognóstico. Isso se reflete no fato de ter mantido na análise multivariada a correlação com o escore preditivo de mortalidade PRe-MSCD. Nesse modelo, inclusive, na ausência de informações ecocardiográficas, o NT-pró-BNP pode ser usado como indicador indireto retendo o poder prognóstico¹⁴³. A observação convergente de vários fenômenos já observados por outros autores mostra que estamos revisitando características em uma população que podem ser

extrapoladas. Mesmo a magnitude das associações, que são relativamente baixas se assemelha ao de outros estudos. Tendo o NT-pró-BNP como essa baliza, avaliamos os outros biomarcadores.

Na análise das troponinas de alta-sensibilidade observamos a presença de hs-cTnT e hs-cTnI em mais de 50% das amostras, em um desempenho analítico que é esperado para *kits* de detecção de alta sensibilidade^{47,50,215}. Esses valores são diferentes dos previamente observados na literatura provavelmente pelo uso de ensaios com sensibilidade ou valores de corte diferente e a falta de padronização em relação à coleta. Aslam et al investigaram o nível de troponina na DF em 2009. Em pacientes com evento vaso-oclusivo, este autor encontrou elevação da troponina I em 2/32 pacientes. Lippi et al²²⁵ avaliaram a troponina T durante a crise e não encontraram elevação significativa, exceto em indivíduos com dor torácica. Wagdi et al²⁵⁵ em 2008 mediram a troponina I (CTnI) em crianças com evento vaso-oclusivo. O corte normal foi inferior a 0,6 ng/ml. Em sete casos a troponina I foi positiva (15,9%). Nlemadim²⁵⁵, estudando crianças com DF na Nigéria, encontrou elevação da troponina T em 17,6% das crianças em estado de equilíbrio. Houve detecção de Troponina T em 82,4% dos pacientes durante crise vaso-oclusiva e foi com alterações eletrocardiográficas sugestivas de isquemia miocárdica.

Esperavamos pela fisiopatologia da DF e do seu acometimento cardíaco uma grande quantidade de pacientes com valores de hs-cTn acima do 99º percentil, mas menos de 3% das amostras atingiram esses valores, uma proporção semelhante à observada na população geral mais idosa²¹⁷. Essa informação é importante no desenho de estudos que avaliem a distribuição de valores da troponina durante eventos vaso-oclusivos ou em complicações crônicas de órgãos-alvo.

Quando optamos por dosar esses dois tipos de hs-cTn a ideia era explorar as diferenças prognósticas delas quando avaliadas fora do contexto da investigação do IAM. Apesar de controvérsias a hs-cTnT é mais associada com a mortalidade global enquanto a hs-cTnI seria mais associada à mortalidade cardiovascular²¹⁹. Nosso trabalho é transversal e não teria a função de responder essa questão mas utilizamos um índice de gravidade que poderia ser usado

como indicador indireto de mortalidade. Somente a hs-cTnT mostrou correlação com o índice de gravidade PRe-MSCD e com marcadores de disfunção renal que também são associados com mortalidade na DF. Na análise multivariada essa correlação não se manteve. Nosso grupo de pacientes classificados com escores de alto risco era relativamente baixo e esse efeito pode ter sido perdido. Seria interessante a avaliação de grupos maiores para verificar a possibilidade da utilização desse biomarcador na estimativa de gravidade. Kaur e cols²⁵⁵, realizaram um estudo retrospectivo e mostraram uma correlação entre os níveis de troponina I e as alterações da perfusão miocárdica na RM. Este autor encontrou maior mortalidade no grupo com troponina I detectável, com OR de 2,6. A natureza retrospectiva desse trabalho e o viés de seleção pelas ressonâncias terem sido feitas em investigação de dor torácica limitam a extrapolação.

As duas troponinas se correlacionaram com idade e ácido úrico. O ácido úrico, como comentaremos mais tarde, correlacionou-se com todos os biomarcadores, refletindo seu papel como um marcador indireto de gravidade da doença.

As troponinas foram correlacionadas com vários parâmetros de volume e dimensões ventriculares. O aumento de massa ventricular pode ser associado com elevação dos valores de troponina tanto pelo estresse sobre a parede como por pequenas áreas isquêmicas associadas a insuficiência relativa da perfusão e oxigenação. O IC aumentado correlacionado diretamente com os valores de troponinas reflete provavelmente a circulação hiperdinâmica e suas repercussões sobre a musculatura cardíaca.

Como comentado esperávamos que a hs-cTnI pudesse ser associada com mais marcadores de doença cardiovascular. Interessantemente foi o único biomarcador associado a VRT, uma observação que Mekontso-Dessap et al⁴⁶ fizeram em seu estudo sobre troponina I durante evento vaso-oclusivo, teve correlação com marcadores de disfunção diastólica (relação E/A – o que compartilhou com a hs-cTnT) e com marcadores de disfunção atrial. As relações aqui foram fisiologicamente apropriadas – o *Strain* da função reservatório teve correlação direta com a hs-cTnI, refletindo estiramento do átrio e inversamente

proporcional a função conduto, mostrando diminuição da complacência dessa câmara.

Contrastando com o paradigma *hs-cTnT sistêmico/hs-cTnI cardiovascular* a hs-cTnI emergiu na análise multivariada como correlacionada com o índice de hemólise obtido por análise de componentes principais. Essa correlação com a hs-cTnI pode estar refletindo a vasculopatia induzida pela hemólise com pequenos graus contínuos de agressão ao músculo cardíaco. Akkus et al avaliou retrospectivamente a presença de troponina I detectável em pacientes falciformes com crise vaso-oclusiva. Em 51/63 pacientes que este autor avaliou, havia troponina I detectável e isso foi correlacionado com anemia, menor contagem de plaquetas, marcadores de hemólise. Uma outra correlação com as duas troponinas, fortemente associada com hemólise, mas que não se manteve na multivariada, foi com úlceras de membros inferiores, que é comumente associada a vasculopatia induzida pela hemólise.

Em suma, apesar de algumas evidências de um papel prognóstico distinto para cada tipo de hs-cTn, não conseguimos mostrar diferenças entre as duas em nossa casuística após a análise multivariada. Os dois biomarcadores foram correlacionados com massa ventricular e com parâmetros de disfunção diastólica, mas sem capacidade discriminatória, mesmo quando consideramos as troponinas como variáveis categóricas.

O que se manteve na análise multivariada foi um padrão que pode ter utilidade na compreensão fisiopatológica da cardiopatia no falciforme. Tanto a hs-cTnI quanto a hs-cTnT foram diretamente correlacionadas com o GWI (*Global Work Index*) e inversamente correlacionados com o GWE (*Global Work Efficiency*). Esses índices são derivados da análise de trabalho miocárdico obtidos por ecocardiograma, um tipo de técnica que vem sendo usada muito recentemente e que integra as informações de deformação miocárdica obtidas por STE com curvas de volume-pressão não invasivas. Não há artigos sobre doença falciforme e análise de trabalho miocárdico com essa técnica. Nossa casuística é relativamente pequena e talvez estejamos vendo um fenômeno incipiente; mas esse padrão de aumento do GWI com redução do GWE é compatível com um aumento de trabalho cardíaco e maior consumo de energia

com a função miocárdica não envolvida ou insuficiente em sua função de bomba propulsora do coração. Se a eficiência está reduzida é porque esse consumo de energia está sendo dissipado ou desperdiçado, não sendo usado na propulsão do sangue, ou seja, uma disfunção contrátil sistólica. Para manter altos níveis de trabalho miocárdico com uma parede ventricular hipertrofiada o paciente falciforme tem de manter um regime hiperdinâmico. Em um determinado momento a pressão sobre a parede ventricular aumenta muito ou o equilíbrio entre oferta e consumo de oxigênio não se mantém. Nessas duas situações pode haver liberação de troponina do tecido miocárdico. O que a análise de trabalho miocárdico e os valores de troponina parecem ter mostrado foi um desequilíbrio mecano-energético que se traduziu por diminuição da eficiência miocárdica (GWE) mediada possivelmente ou por estiramento excessivo do cardiomiócito ou por morte celular. A imagem que vem à mente é a do trabalho de Tap et al¹⁵², que fez microscopia eletrônica em biópsias endomiocárdicas de pacientes falciformes. O aspecto era de áreas com cardiomiócitos viáveis entremeados com regiões fibrosadas. Nesses cardiomiócitos havia acúmulo de glicogênio e sinais de incapacidade de gerar ATP por hipoxemia, uma aparente expressão ultramicroscópica desse desacoplamento mecano-energético. Trabalho recente mostrou associação de elevação de troponina acima do 99º percentil em pacientes falciformes com indícios de doença microvascular coronária avaliada por ressonância de miocárdio. Apesar da limitação de ser um trabalho retrospectivo e com pacientes egressos de crise e síndrome torácica aguda houve associação com mortalidade ²⁵⁵.

Como biomarcadores adicionais avaliamos a GAL-3 e o ST2s. Apesar do uso crescente na avaliação de IC na população geral o desempenho delas na cardiopatia da DF é pouco descrito.

A GAL-3 mostrou correlação de forma irregular com dimensões cavitárias e com alterações de *Strain* do átrio esquerdo. Foi correlacionada com alterações de *Doppler* tecidual, especialmente os parâmetros *e'* septal e na relação *E/e'*. Também houve correlação da GAL-3 com aumento do GWW (*Global Wasted Work*) levando a redução da eficiência do trabalho miocárdico. Esse efeito no trabalho miocárdico não se manteve significativo na análise multivariada, mas os parâmetros de disfunção diastólica permaneceram. A GAL-3 é um marcador de

IC, tanto sistólica quanto diastólica, mas também é um marcador de ativação das vias de indução de fibrose. Estudos prévios em outras doenças mostram associação entre GAL-3, disfunção diastólica e fibrose à RNM²⁵⁶. É interessante especular se haveria relação entre esses achados e a fibrose miocárdica como vista em estudos de RNM na DF. Estudo em talassemia não confirmou essa associação²⁰⁹. A associação com relação E/e' é importante no seguimento por ser associada com mortalidade geral na DF.

A GAL-3 não é uma molécula específica do tecido cardíaco. Na população geral sua utilização na doença cardíaca é útil se excluído doenças que podem estar associadas com fibrose ou inflamação. É um biomarcador na esclerose sistêmica²⁵⁷ e na doença enxerto contra hospedeiro²⁵⁸. A doença falciforme previsivelmente é uma doença com vias pró-fibróticas ativadas. Por isso é interessante observar modificações da GAL-3 em parâmetros não cardiológicos. A GAL-3 foi correlacionada com anemia e neutrofilia, o que é associado com gravidade da doença. Como é uma molécula ligada a recrutamento e motilidade dos granulócitos²⁵⁹; provavelmente essa elevação é associada ao fenótipo inflamatório que caracteriza as doenças falciformes.

Em relação aos parâmetros de hemólise houve associação da GAL-3 com todos os índices hemolíticos, exceto o IPR. Apesar de não ter mantido significância na análise multivariada houve correlação inicial com o índice hemolítico. A GAL-3 é implicada na mediação da eritrofagocitose, com modelos animais GAL-3 *null* exibindo baixas taxas de clareamento de eritrócitos opsonizados, que é um dos mecanismos de destruição das hemácias senescentes que está exaltado na DF²⁶⁰.

Nos parâmetros de função renal, houve correlação entre GAL-3 e os níveis de ácido úrico, que foi mantida na análise multivariada. O ácido úrico se correlacionou com todos os biomarcadores, mantendo significância na análise multivariada somente com o NT-pró-BNP e com a GAL-3. O ácido úrico *per se* é um biomarcador²⁶¹, refletindo a gravidade da doença tanto pelo aumento dos metabólitos da purina decorrente da eritropoese acelerada da doença falciforme quanto em estágios mais tardios associados a disfunção renal e ao desacoplamento oxidativo que pode ocorrer na hipertensão pulmonar²⁶².

Nas variáveis clínicas houve correlação de GAL-3 com doença de Moya-Moya. Essa complicação, em geral observada em pacientes que apresentaram AVE isquêmico prévio, é caracterizada por uma circulação colateral extensa e estava presente em um subgrupo de 10 pacientes, representando 7,9% da nossa casuística. Há alguns trabalhos que relacionam expressão de GAL-3 com angiogênese, especificamente na remodelação vascular pós-hipóxia²⁶⁴. Há várias linhas de evidência que mostram papel desta molécula em outras lesões vasculares. Não foi uma correlação que se manteve na análise multivariada, mas é um subgrupo pequeno cuja significância pode ter se perdido, mas que merece um estudo à parte.

O resultado mais difícil de conciliar foi o achado de valores mais *reduzidos* de GAL-3 em pacientes com dor crônica. É um resultado contra intuitivo, pois em estudos prévios a GAL-3 foi elevada em sítios de vaso-oclusão e aumentada nas amostras de sangue de pacientes em crise dolorosa, inclusive com possível implicação prognóstica²¹⁰⁻²¹². Além disso, vem sendo demonstrado o papel dessa molécula em modelos de dor neuropática²⁶⁴. Nossa expectativa era de que a dor crônica fosse associada com valores normais ou elevados de GAL-3.

Reavaliemos os registros dos pacientes e excluimos a possibilidade de inversão dos dados na análise estatística. O fato dessa variável ter mantido a correlação mesmo após a análise multivariada diminui o risco de ser um achado aleatório.

Como as amostras foram coletadas *fora* de crise, não esperávamos aumentos ligados a vaso-oclusão aguda, mas alguma variável clínica ou terapêutica poderia estar influenciando os dados. Conjecturamos se os pacientes poderiam estar usando tratamentos mais agressivos que mudaram a história natural da doença e reduziram a GAL-3. Não houve, porém, correlação dos valores desse biomarcador com o uso de transfusão ou hidroxiureia.

Em seguida avaliamos se quaisquer outras medicações poderiam influenciar os níveis de GAL-3. Dentre as medicações contínuas que esses pacientes fazem uso está a morfina e outros derivados opioides. Wang et al, em 2003, mostraram em modelo experimental que o uso de morfina reduzia o recrutamento de neutrófilos para o espaço alveolar através da inibição da síntese

de GAL-3 e NF-Kappa B ²⁶⁵. Daven e Khalili, em 2010, em outro modelo experimental, mostraram que a morfina muda o padrão de resposta inflamatória na infecção por HIV e entre achados não esperados havia a falta de elevação dos valores de GAL-3 em sítios de infecção²⁶⁶. Boa parte dos pacientes falciformes com dor crônica usam continuamente doses elevadas de opioides ²⁶⁷. Questionamos se esse uso intenso e prolongado poderia reduzir os valores de GAL-3. Como esse resultado não era antecipado não tínhamos instrumentos para avaliar qual a dose média de opioides para correlacionar com os valores de GAL-3, mas esta é uma área de investigação posterior para entendermos se este mecanismo é plausível.

A última molécula avaliada foi a ST2s (ST2 solúvel). Em nossa casuística o ST2s está acima dos valores de referência em pouco mais de 10% dos pacientes. Nossas coletas foram feitas no período da manhã, onde, por variação circadiana os valores de ST2s são mais baixos¹⁹². Dos 14 pacientes com ST2 acima de 35 ng/mL 10 são do sexo masculino, um achado que manteve significância na análise multivariada. A elevação de ST2s no sexo masculino é bem descrita na literatura¹⁹¹. Nas variáveis clínicas houve correlação da ST2 com episódio vaso-oclusivo no último ano. Todos os pacientes admitidos no estudo não tinham crise nos 30 dias que antecederam a coleta. A causa desta correlação não é clara, mas como a ação do ST2s é ligada ao sequestro da IL-33 ¹⁹⁰, seria interessante avaliar a dinâmica desses 2 marcadores durante e após um episódio vaso-oclusivo. Nos exames laboratoriais hematológicos houve correlação da ST2 com neutrófilos. O eixo ST2s/IL33 está ligado à migração e ativação dos neutrófilos²⁶⁸, mas não encontramos na literatura a associação de neutrofilia com elevação da ST2s. Esse achado não se manteve na análise multivariada.

A ST2s se correlacionou com parâmetros associados à resposta inflamatória (gamaglobulina, albumina e proteína-C-reativa). A modulação da resposta inflamatória é o papel seminal dessa via. O paradigma Th1/Th2 foi bastante explorado desde o começo deste século e há uma tendência à ativação da resposta Th2 na DF²⁶⁹. A ação do eixo ST2s/IL-33 como citocina é dirigir a resposta imune para o polo Th2¹⁸⁶. A interação do ST2s nesse eixo é interessante para avaliar se ela exerce alguma influência na resposta imune

dessa população. Essa correlação, porém, não se manteve na análise multivariada. Uma das grandes vantagens do ST2s na IC é a sua independência da função renal e em nossa análise realmente não houve correlação, excetuando com o ácido úrico.

O ST2s não mostrou correlação com volumes e diâmetros de câmaras esquerdas, mas se correlacionou com índices funcionais, tendo ocorrido o oposto nas câmaras direitas. São resultados inconsistentes que dificultam interpretação mais racional. Na análise multivariada o *Strain* de AE (volume reservatório) e o IC se mantiveram significativos, dois parâmetros associados à circulação hiperdinâmica decorrente da anemia hemolítica. O ST2s não se correlacionou com o valor de Hemoglobina, mas houve uma correlação significativa com marcadores de hemólise. Essa observação não foi previamente descrita.

É bem documentada a elevação da IL-33 em pacientes com doença falciforme e em bolsas de sangue estocadas de doadores da comunidade¹⁹⁶. É um achado intrigante pois se postula que a IL-33 seja liberada dos núcleos celulares²⁶⁹. A fonte de ST2s na hemólise também não seria clara, pois a hipótese mais em voga é de que a IL-33 atua como repressor da síntese da ST2s na heterocromatina. Para explicar a presença de ST2s na hemólise teríamos que assumir que há ST2s no citoplasma do eritrócito independente da liberação da IL-33, ou este é derivado de algum grau de hematopoese ineficaz na medula óssea ou, por fim, seria um marcador de dano tecidual ligado e possivelmente induzido pela hemólise.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Nosso estudo foi feito sem uma população controle que poderia realçar as alterações tanto do ecocardiograma convencional quanto do *Strain/Speckle Tracking*. Apesar de termos reunido uma casuística significativa para um estudo unicêntrico ainda assim tivemos sub-representação de alguns grupos populacionais, como por exemplo pacientes com escore PRe-MSCD de mau prognóstico ou com complicações específicas como a doença de Moya-Moya.

Apesar de termos encontrados achados estatisticamente significantes nossas correlações não são fortes. A doença falciforme é muito complexa e a rede de interações permite antever que dificilmente um marcador será dominante. Nossas correlações, no entanto, tiveram magnitude semelhante às encontradas pelo NT-pró-BNP, uma molécula com uso consagrado.

8 CONCLUSÕES

Nosso trabalho mostrou as características de diversos biomarcadores cardíacos. Além das características já observadas no NT-pró-BNP, descrevemos a correlação do sexo feminino com valores mais elevados, ainda não descrita em pacientes com Doença Falciforme; utilizando o *Speckle Tracking* foi possível estabelecer boa correlação com rigidez atrial, corroborando dados recentemente descritos na literatura e demonstramos a correlação com o escore preditivo de mortalidade PRe-MSCD.

Concluimos que a distribuição das troponinas de alta sensibilidade é semelhante à da população geral com poucos pacientes com valores além do 99º percentil. Do ponto de vista fisiopatológico foi possível observar que a hs-cTn foi associada com os sinais ecocardiográficos de circulação hiperdinâmica e com indícios de lesão miocárdica flagrada pela análise de trabalho miocárdico. Do ponto de vista prático o uso das hs-cTn, idealmente de uma forma seriada, talvez possa selecionar grupos de pacientes que se beneficiem de avaliação cardiológica mais pormenorizada, com técnicas ecocardiográficas mais sofisticadas ou com RNM. Há possibilidade de que no seguimento, como já é sugerido em grupos retrospectivos, que as hs-cTns (especialmente a T) tenham papel prognóstico na mortalidade geral. É especulativo se mudanças de tratamento, seja da doença falciforme em geral ou da disfunção cardíaca especificamente, possam mudar a história natural desta condição, mas há evidências de que parte das alterações é reversível, como observado em alguns pacientes após TMO ou terapia gênica.

Os novos biomarcadores cardíacos (ST2s e galectina-3) são menos específicos da doença cardíaca, mas mostraram relação com características clínicas onde podem potencialmente ser úteis. A galectina-3 pode ter associação com a imunomodulação decorrente do uso de opioides e a ST2s

apresentou correlação com marcadores de hemólise, não previamente descrita e que pode ter papel relevante na avaliação da vasculopatia associada a hemólise²⁷⁰.

Como achado original adicional observamos ondas épsilon no eletrocardiograma, o que pode ser uma evidência de fibrose miocárdica. Esse achado realça que métodos menos sofisticados também podem gerar informações relevantes.

REFERÊNCIAS

- 1) Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, Smith WR, Panepinto JA, Weatherall DJ, Costa FF, Vichinsky EP. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Mar 15;4:18010
- 2) Pauling L, Itano HA, et al. Sickle cell anemia a molecular disease. *Science*. 1949 Nov 25;110(2865):543-8
- 3) Ingram VM. A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemia haemoglobin. *Nature*. 1956 Oct 13;178(4537):792-4

- 4) Marotta CA, Wilson JT, Forget BG, Weissman SM. Human β -globin messenger RNA. III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. *J Biol Chem*. 1977 Jul 25;252(14):5040-53
- 5) Allison AC. Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Br Med J*. 1954;1(4857):290-294
- 6) Itano HA, Neel JV. A new inherited abnormality of human hemoglobin. *Proceedings of Natl Acad Sci* 1950;36:613-7
- 7) Pass KA, Lane PA, Fernhoff PM, Hinton CF, Panny SR, Parks JS, Pelias MZ, Rhead WJ, Ross SI, Wethers DL, Elsas LJ 2nd. US newborn screening system guidelines II: follow-up of children, diagnosis, management, and evaluation. Statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN). *J Pediatr*. 2000 Oct;137(4 Suppl):S1-46
- 8) Yawn BP, Buchanan GR, Afenyi-Annan AN, et al. Management of Sickle Cell Disease: Summary of the 2014 Evidence-Based Report by Expert Panel Members. *JAMA*. 2014;312(10):1033–1048
- 9) Dykes G, Crepeau RH, Edelstein SJ. Three-dimensional reconstruction of the fibres of sickle cell haemoglobin. *Nature*. 1978 Apr 6;272(5653):506-10
- 10) Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sickle cell disease. *Lancet*. 2017 Jul 15;390(10091):311-323
- 11) Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010 Dec 11;376(9757):2018-31
- 12) Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, Klug PP. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med*. 1994 Jun 9;330(23):1639-44
- 13) Lubeck D, Agodoa I, Bhakta N, Danese M, Pappu K, Howard R, Gleeson M, Halperin M, Lanzkron S. Estimated Life Expectancy and Income of Patients With Sickle Cell Disease Compared With Those Without Sickle Cell Disease. *JAMA Netw Open*. 2019 Nov 1;2(11):e1915374
- 14) Mancini EA, Culbertson DE, Yang YM, Gardner TM, Powell R, Haynes J Jr, Shah AK, Mankad VN; Investigators of the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Causes of death in sickle cell disease: an autopsy study. *Br J Haematol*. 2003 Oct;123(2):359-65
- 15) McClish DK, Penberthy LT, Bovbjerg VE, Roberts JD, Aisiku IP, Levenson JL, Roseff SD, Smith WR. Health related quality of life in sickle cell patients: the PiSCES project. *Health Qual Life Outcomes*. 2005 Aug 29;3:50.
- 16) Holdford D, Vendetti N, Sop DM, Johnson S, Smith WR. Indirect Economic Burden of Sickle Cell Disease. *Value Health*. 2021 Aug;24(8):1095-1101
- 17) Salih KMA. The impact of sickle cell anemia on the quality of life of sicklers at school age. *J Family Med Prim Care*. 2019 Feb;8(2):468-471
- 18) Silva-Pinto AC, Costa FF, Gualandro SFM, Fonseca PBB, Grindler CM, Souza Filho HCR, Bueno CT, Caçado RD. Economic burden of sickle cell disease in Brazil. *PLoS One*. 2022 Jun 16;17(6):e0269703

- 19) GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*. 2020 Oct 17;396(10258):1204-1222; disponível em 22/08/2022: https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/sickle-cell-disorders-level-4-cause
- 20) Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008 Jun;86(6):480-7
- 21) McGann PT. Sickle cell anemia: an underappreciated and unaddressed contributor to global childhood mortality. *J Pediatr*. 2014 Jul;165(1):18-22
- 22) Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia *Arch Intern Med (Chic)*. 1910 VI(5)517–521
- 23) Cook JE, Meyer J. Severe anemia with remarkable elongated and sickle-shaped red blood cells and chronic leg ulcer. *Arch Intern Med (Chic)*. 1915;XVI(4):644–651
- 24) Mason VR. Sickle cell anemia. *JAMA*. 1922;79(16):1318–20
- 25) Sydenstricker VP; Mulherin WA; Houseal RW. Sickle cell anemia. Report of two cases in children, with necropsy in one case. *Am J Dis Child* 1923;26:132-54
- 26) Klinefelter HF. The heart in Sickle Cell Anemia. *Am J Med* 1942;20:334-51
- 27) Wintrobe MM. The cardiovascular system in anemia – with a note on the particular abnormalities in sickle cell anemia. *Blood* 1946;11:21-8
- 28) Margolies MP. Sickle cell anemia; a composite study and survey. *Medicine (Baltimore)*. 1951 Dec;30(4):357-433
- 29) Lindsay JJ, Mechel JC, Patterson H. The cardiovascular manifestations of sickle cell anemia. *Arch Int Med* 1974;133:643-51
- 30) Falk RH, Hood WB Jr. The heart in sickle cell anemia. *Arch Intern Med*. 1982 Sep;142(9):1680-4
- 31) Martins WA, Mesquita ET, Cunha DM, Ferrari AH, Pinheiro LAF, Romêo LJ. Alterações cardiovasculares na anemia falciforme. *Arq. Bras. Cardiol*. 1998;70(5): 365-370
- 32) Tsironi M, Aessopos A. The heart in sickle cell disease. *Acta Cardiol*. 2005 Dec;60(6):589-98
- 33) Gladwin MT, Sachdev V. Cardiovascular abnormalities in sickle cell disease. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Mar 27;59(13):1123-33
- 34) Poludasu S, Ramkissoon K, Salciccioli L, Kamran H, Lazar JM. Left ventricular systolic function in sickle cell anemia: a meta-analysis. *J Card Fail*. 2013 May;19(5):333-41
- 35) Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML, Shizukuda Y, Plehn JF, Minter K, Brown B, Coles WA, Nichols JS, Ernst I, Hunter LA, Blackwelder WC, Schechter AN, Rodgers GP, Castro O, Ognibene FP. Pulmonary hypertension as a risk factor

- for death in patients with sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2004 Feb 26;350(9):886-95
- 36) Parent F, Bachir D, Inamo J, Lionnet F, Driss F, Loko G, Habibi A, Bennani S, Savale L, Adnot S, Maitre B, Yaïci A, Hajji L, O'Callaghan DS, Clerson P, Girot R, Galacteros F, Simonneau G. A hemodynamic study of pulmonary hypertension in sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2011 Jul 7;365(1):44-53
 - 37) Fonseca GH, Souza R, Salemi VM, Jardim CV, Gualandro SF. Pulmonary hypertension diagnosed by right heart catheterisation in sickle cell disease. *Eur Respir J.* 2012 Jan;39(1):112-8
 - 38) Rai P, Niss O, Malik P. A reappraisal of the mechanisms underlying the cardiac complications of sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer.* 2017 Nov;64(11)
 - 39) Niss O, Quinn CT, Lane A, et al. Cardiomyopathy With Restrictive Physiology in Sickle Cell Disease. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2016;9(3):243-252
 - 40) Niss O, Fleck R, Makue F, Alsaied T, Desai P, Towbin JA, Malik P, Taylor MD, Quinn CT. Association between diffuse myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in sickle cell anemia. *Blood.* 2017 Jul 13;130(2):205-213
 - 41) Leight L, Snider TH, Clifford GO, Hellems HK. Hemodynamic studies in sickle cell anemia. *Circulation.* 1954 Nov;10(5):653-62
 - 42) Roy SB, Bhatia MI, Mathur VS, Virmani S. Hemodynamic Effects of Chronic Severe Anemia. *Circulation.* 1963 Sep;28:346-56
 - 43) Duke M, Abelmann WH. The hemodynamic response to chronic anemia. *Circulation.* 1969 Apr;39(4):503-15
 - 44) Caughey MC, Ataga KI, Hinderliter AL. Sickle Cardiomyopathy: The Missing Forest in the Trees. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2016 Mar;9(3):253-4
 - 45) Mansi IA, Rosner F. Myocardial infarction in sickle cell disease. *J Natl Med Assoc.* 2002 Jun;94(6):448-52
 - 46) Mekontso Dessap A, Leon R, Habibi A, Nzouakou R, Roudot-Thoraval F, Adnot S, Godeau B, Galacteros F, Brun-Buisson C, Brochard L, Maitre B. Pulmonary hypertension and cor pulmonale during severe acute chest syndrome in sickle cell disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 Mar 15;177(6):646-53
 - 47) Thygesen K et al.; Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology /American College of Cardiology /American Heart Association /World Heart Federation Task Force for the Universal Definition of Myocardial I. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *Circulation.* 2018;138(20):e618-e51
 - 48) McDonaugh B, Whyte MB. The Evolution and Future Direction of The Cardiac Biomarker. *EMJ Cardiol.* 2020;8[1]:97-106
 - 49) Machado RF, Anthi A, Steinberg MH, Bonds D, Sachdev V, Kato GJ, Taveira-DaSilva AM, Ballas SK, Blackwelder W, Xu X, Hunter L, Barton B, Waclawiw M, Castro O, Gladwin MT; MSH Investigators. N-terminal pro-brain natriuretic

- peptide levels and risk of death in sickle cell disease. *JAMA*. 2006 Jul 19;296(3):310-8
- 50) McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A; ESC Scientific Document Group. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J*. 2021 Sep 21;42(36):3599-3726
 - 51) Varat MA; Adolph RJ; Fowler NO. Cardiovascular effects of anemia. *Am Heart J* 1972;83(3)415-26
 - 52) Daiber A, Münzel T. Interplay of the red blood cell and vascular endothelial nitric oxide synthase system to combat cardiac complications of anemia. *Basic Res Cardiol*. 2020 Jun 12;115(4):44
 - 53) Jankowska EA, Ponikowski P. Molecular changes in myocardium in the course of anemia or iron deficiency. *Heart Fail Clin*. 2010 Jul;6(3):295-304
 - 54) Niss O, Quinn CT. The Cardiomyopathy of Sickle Cell Disease *in* Inusa B. P. D. *Sickle Cell Disease - Pain and Common Chronic Complications* [Internet]. London: IntechOpen; 2016 [cited 2022 Aug 23]. 282 p. Chapter 6 Available from: <https://www.intechopen.com/books/5318> doi: 10.5772/62012
 - 55) Liu L, Zhang D, Li Y. LncRNAs in cardiac hypertrophy: From basic science to clinical application. *J Cell Mol Med*. 2020 Oct;24(20):11638-11645
 - 56) Olszewski TM. James Herrick (1861-1954): Consultant physician and cardiologist. *J Med Biogr*. 2018 May;26(2):132-6
 - 57) Savitt TL, Goldberg MF. Herrick's 1910 Case Report of Sickle Cell Anemia: The Rest of the Story. *JAMA*. 1989;261(2):266–271
 - 58) Serjeant GR. The emerging understanding of sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2001 Jan;112(1):3-18
 - 59) Siddiqi AE, Jordan LB, Parker CS. Sickle cell disease--the American saga. *Ethn Dis*. 2013 Spring;23(2):245-8
 - 60) Archibald RG. A case of sickle cell anemia in Sudan. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1926; 19(7)389-93
 - 61) Castro, AS. Anemia de Hematias Falciformes. *Jornal de Pediatria*, v. 1, n. 11, pp. 247-445, jan. 1934
 - 62) Azevedo AP. Anemia drepanocitica. *O Hospital* 1935;7:1181-91
 - 63) Huck, J.G. Sickle cell anemia. *Bulletin of Johns Hopkins Hospital*. 1923;34:335-44
 - 64) Anderson WW, Ware RL. Sickle cell anemia. *Am J Dis Child*. 1932;44(5):1055–1070
 - 65) Hamman, L.: A case of severe anemia with cardiac manifestations. *South. M. J*. 26: 665, 3934

- 66) Winsor T, Burch GE. The electrocardiogram and cardiac state in sickle cell anemia. *Am Heart J* 1945;685-696
- 67) Uzsoy NK. Cardiovascular findings in patients with sickle cell anemia. *Am J Cardiol.* 1964 Mar;13:320-8
- 68) Oliveira E, Gómez-Palatino. Falcemic cardiopathy report of a case. *Am J Cardiol* 1963;11 686-9
- 69) Gerry JL, Bulkley BH, Hutchins GM. Clinicopathologic analysis of cardiac dysfunction in 52 patients with sickle cell lung anemia. *Am J Cardiol* 1978;42:211-6A
- 70) Wood JC, Tyszka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. Myocardial iron loading in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease. *Blood.* 2004 Mar 1;103(5):1934-6
- 71) Hankins JS, McCarville MB, Hillenbrand CM, Loeffler RB, Ware RE, Song R, Smeltzer MP, Joshi V. Ventricular diastolic dysfunction in sickle cell anemia is common but not associated with myocardial iron deposition. *Pediatr Blood Cancer.* 2010 Sep;55(3):495-500
- 72) Inati A, Musallam KM, Wood JC, Sheikh-Taha M, Daou L, Taher AT. Absence of cardiac siderosis by MRI T2* despite transfusion burden, hepatic and serum iron overload in Lebanese patients with sickle cell disease. *Eur J Haematol.* 2009 Dec 1;83(6):565-71
- 73) Junqueira FP, Fernandes JL, Cunha GM, T A Kubo T, M A O Lima C, B P Lima D, Uellendhal M, Sales SR, A S Cunha C, L R de Pessoa V, L C Lobo C, Marchiori E. Right and left ventricular function and myocardial scarring in adult patients with sickle cell disease: a comprehensive magnetic resonance assessment of hepatic and myocardial iron overload. *J Cardiovasc Magn Reson.* 2013 Sep 19;15(1):83
- 74) Badawy SM, Liem RI, Rigsby CK, Labotka RJ, DeFreitas RA, Thompson AA. Assessing cardiac and liver iron overload in chronically transfused patients with sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2016 Nov;175(4):705-713
- 75) de Montalembert M, Ribeil JA, Brousse V, Guerci-Bresler A, Stamatoullas A, Vannier JP, Dumesnil C, Lahary A, Touati M, Bouabdallah K, Cavazzana M, Chauzit E, Baptiste A, Lefebvre T, Puy H, Elie C, Karim Z, Ernst O, Rose C. Cardiac iron overload in chronically transfused patients with thalassemia, sickle cell anemia, or myelodysplastic syndrome. *PLoS One.* 2017 Mar 3;12(3):e0172147
- 76) Baroldi G. High resistance of the human myocardium to shock and red blood cell aggregation (sludge). *Cardiologia.* 1969;54(5):271-7
- 77) Gualandro SFM, Fonseca GHH, Gualandro DM. Cardiopulmonary complications of sickle cell disease. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29(3):291-8
- 78) Zimmerman, SL; Barnett, RN. Sickle cell anemia simulating coronary occlusion. *Ann. Int. Med.,* 1944, 21, 1045-9.

- 79) Jones HL, Wetzel FE, Black BK. Sick cell Anemia with striking electrocardiographic abnormalities and other unusual features, with autopsy. *Ann Intern Med* 1948; 29(5):928-35
- 80) Woodruff AW. Sick cell anaemia with complicating coronary infarction. *Proc R Soc Med*. 1970 Dec;63(12):1314
- 81) McCormick WF. Massive nonatherosclerotic myocardial infarction in sick cell anemia. *Am J Forensic Med Pathol*. 1988 Jun;9(2):151-4
- 82) Martin CR, Cobb C, Tatter D, Johnson C, Haywood LJ. Acute myocardial infarction in sick cell anemia. *Arch Intern Med*. 1983 Apr;143(4):830-1.
- 83) Saad ST, Arruda VR, Junqueira OO, Schelini FA, Coelho OB. Acute myocardial infarction in sick cell anaemia associated with severe hypoxia. *Postgrad Med J*. 1990 Dec;66(782):1068-70
- 84) Martin CR, Johnson CS, Cobb C, Tatter D, Haywood LJ. Myocardial infarction in sick cell disease. *J Natl Med Assoc*. 1996 Jul;88(7):428-32
- 85) Robard I, Mansencal N, Soulat G, Deblaise J, El Mahmoud R, Dubourg O. Myocardial infarction with normal coronary arteries in double heterozygous sick cell disease. *Int J Cardiol*. 2015 Feb 1;180:120-1
- 86) Pavlů J, Ahmed RE, O'Regan DP, Partridge J, Lefroy DC, Layton DM. Myocardial infarction in sick cell disease. *Lancet*. 2007 Jan 20;369(9557):246
- 87) Pivatto Jr. F, Krepsky AM, Piardi DS, Mossmann M, Gus M, Wainstein MV. ST-Segment Elevation Myocardial Infarction with Extensive Coronary Thrombus in a Patient with Sick Cell Anemia. *Rev Bras Cardiol Invasiva*. 2014;22(4):390-3
- 88) Lee S, Kaplin S, Tamis-Holland J, Talebi S. MINOCA in a Patient with Sick Cell Disease. *Am J Med*. 2020 Aug;133(8):e425-e426
- 89) Pannu R, Zhang J, Andraws R, Armani A, Patel P, Mancusi-Ungaro P. Acute myocardial infarction in sick cell disease: a systematic review. *Crit Path Cardiol*. 2008 Jun;7(2):133-8
- 90) Doshi AR, Pauliks LB. Increased left main coronary artery dimensions in children with sick cell disease. *Pediatr Cardiol*. 2013 Apr;34(4):954-8
- 91) De Souza JL Jr, Rodrigues AC, Buck PC, Gualandro SF, Mady C. Coronary flow reserve in sick cell anemia. *Arq Bras Cardiol*. 2007 May;88(5):552-8
- 92) Johnson MC, Johnkin MJ, Euteneuer JC, DeBaun MR, Hildebolt C. Coronary artery dilation and left ventricular hypertrophy do not predict morbidity in children with sick cell disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Jan;62(1):115-9
- 93) Nicholson GT, Hsu DT, Colan SD, Manwani D, Burton WB, Fountain D, Lopez L. Coronary artery dilation in sick cell disease. *J Pediatr*. 2011 Nov;159(5):789-794.e1-2
- 94) McNamara JJ, Molot MA, Stremple JF, Cutting RT. Coronary artery disease in combat casualties in Vietnam. *JAMA*. 1971 May 17;216(7):1185-7

- 95) Strong JP. Coronary Atherosclerosis in Soldiers: A Clue to the Natural History of Atherosclerosis in the Young. *JAMA*. 1986;256(20):2863–2866
- 96) Naoum FA, Gualandro SFM, Latriilha M da CM, Maranhão RC. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion in subjects with heterozygous β -thalassemia. *American Journal of Hematology*. 2004 ; 77(4): 340-5
- 97) Gacon PH, Donatien Y. Manifestations cardiaques de la drépanocytose. *Presse Med*. 2001;30:841-5
- 98) Desai PC, Kendel N, Huang Y, Heinlein M, Kraut E, Raman S. Hypoxia in sickle cell disease due to right to left shunting. *Am J Hematol*. 2019 Feb;94(2):E53-E55
- 99) Dowling MM, Lee N, Quinn CT, Rogers ZR, Boger D, Ahmad N, Ramaciotti C, Buchanan GR. Prevalence of intracardiac shunting in children with sickle cell disease and stroke. *J Pediatr*. 2010 Apr;156(4):645-50
- 100) Dowling MM, Quinn CT, Ramaciotti C, Kanter J, Osunkwo I, Inusa B, Iyer R, Kwiatkowski JL, Johnson C, Rhodes M, Owen W, Strouse JJ, Panepinto JA, Neumayr L, Sarnaik S, Plumb PA, Dlamini N, Kirkham F, Hynan LS; PFAST Investigators. Increased prevalence of potential right-to-left shunting in children with sickle cell anaemia and stroke. *Br J Haematol*. 2017 Jan;176(2):300-8
- 101) Suerig KC, Siefert FE. Pseudoxanthoma Elasticum And Sickle Cell Anemia. *Arch Intern Med*. 1964 Jan;113:135-41
- 102) Aessopos A, Farmakis D, Loukopoulos D. Elastic tissue abnormalities resembling pseudoxanthoma elasticum in β thalassemia and the sickling syndromes. *Blood*. 2002 Jan 1;99(1):30-5
- 103) Adam AM, Maritim MC. Pseudoxanthoma elasticum in a patient with sickle cell disease: case report. *East Afr Med J*. 2008 Feb;85(2):98-101
- 104) Yater, WM, Hansmann, GH. Sickle-cell anemia: a new cause of cor pulmonale. *Am. J.M. Sc*. 191:474, 1936.
- 105) Haque AK, Gokhale S, Rampy BA, Adegboyega P, Duarte A, Saldana MJ. Pulmonary hypertension in sickle cell hemoglobinopathy: a clinicopathologic study of 20 cases. *Hum Pathol*. 2002 Oct;33(10):1037-43
- 106) Carstens GR, Paulino BBA, Katayama EH, Amato-Lourenço LF, Fonseca GH, Souza R, Aiello VD, Mauad T. Clinical relevance of pulmonary vasculature involvement in sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2019 Apr;185(2):317-326
- 107) Simonneau G, Montani D, Celermajer DS, Denton CP, Gatzoulis MA, Krowka M, Williams PG, Souza R. Haemodynamic definitions and updated clinical classification of pulmonary hypertension. *Eur Respir J*. 2019 Jan 24;53(1):1801913
- 108) Foale R, Nihoyannopoulos P, McKenna W, Kleinebenne A, Nadazdin A, Rowland E, Smith G. Echocardiographic measurement of the normal adult right ventricle. *Br Heart J*. 1986 Jul;56(1):33-44

- 109) Gerry JL, Baird MG, Fortuin NJ. Evaluation of left ventricular function in patients with sickle cell anemia. *Am J Med.* 1976 Jun;60(7):968-72
- 110) Rees AH, Stefadouros MA, Strong WB, Miller MD, Gilman P, Rigby JA, McFarlane J. Left ventricular performance in children with homozygous sickle cell anaemia. *Br Heart J.* 1978 Jun;40(6):690-6
- 111) Denenberg BS, Criner G, Jones R, Spann JF. Cardiac function in sickle cell anemia. *Am J Cardiol.* 1983 Jun;51(10):1674-8
- 112) Balfour IC, Covitz W, Davis H, Rao PS, Strong WB, Alpert BS. Cardiac size and function in children with sickle cell anemia. *Am Heart J.* 1984 Aug;108(2):345-50
- 113) JC, Hanson R. Left ventricular systolic and diastolic function in pregnant patients with sickle cell disease. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Jan;170(1 Pt 1):107-10
- 114) Simmons BE, Santhanam V, Castaner A, Rao KR, Sachdev N, Cooper R. Sickle cell heart disease. Two-dimensional echo and Doppler ultrasonographic findings in the hearts of adult patients with sickle cell anemia. *Arch Intern Med.* 1988 Jul;148(7):1526-8
- 115) Lippman SM, Abergel RP, Ginzton LE, Uitto J, Tanaka KR, Miyamoto EK, Laks MM. Mitral valve prolapse in sickle cell disease manifestation of a generalized connective tissue disorder. *Am J Hematol.* 1985 May;19(1):1-12
- 116) Lippman SM, Ginzton LE, Thigpen T, Tanaka KR, Laks MM. Mitral valve prolapse in sickle cell disease. Presumptive evidence for a linked connective tissue disorder. *Arch Intern Med.* 1985 Mar;145(3):435-8
- 117) Berezowski K, Mautner GC, Roberts WC. Scarring of the left ventricular papillary muscles in sickle-cell disease. *Am J Cardiol.* 1992 Nov 15;70(15):1368-70
- 118) Lebwohl MG, Distefano D, Prioleau PG, Uram M, Yannuzzi LA, Fleischmajer R. Pseudoxanthoma elasticum and mitral-valve prolapse. *N Engl J Med.* 1982 Jul 22;307(4):228-31
- 119) Covitz W, Espeland M, Gallagher D, Hellenbrand W, Leff S, Talner N. The heart in sickle cell anemia. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD). *Chest.* 1995 Nov;108(5):1214-9
- 120) Martins Wd, Mesquita ET, Cunha DM, Pinheiro LA, Romêo Filho LJ, Pareto Junior RC. Doppler echocardiographic study in adolescents and young adults with sickle cell anemia. *Arq Bras Cardiol.* 1999 Dec;73(6):463-74
- 121) Lamers L, Ensing G, Pignatelli R, Goldberg C, Bezold L, Ayres N, Gajarski R. Evaluation of left ventricular systolic function in pediatric sickle cell anemia patients using the end-systolic wall stress-velocity of circumferential fiber shortening relationship. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Jun 6;47(11):2283-8
- 122) Caldas MC, Meira ZA, Barbosa MM. Evaluation of 107 patients with sickle cell anemia through tissue Doppler and myocardial performance index. *J Am Soc Echocardiogr.* 2008 Oct;21(10):1163-7

- 123) Arslankoylu AE, Hallioglu O, Yilgor E, Duzovali O. Assessment of cardiac functions in sickle cell anemia with Doppler myocardial performance index. *J Trop Pediatr*. 2010 Jun;56(3):195-7
- 124) Eddine AC, Alvarez O, Lipshultz SE, Kardon R, Arheart K, Swaminathan S. Ventricular structure and function in children with sickle cell disease using conventional and tissue Doppler echocardiography. *Am J Cardiol*. 2012 May 1;109(9):1358-64
- 125) Amzulescu M, De Craene M, Langet H et al. Myocardial Strain Imaging: Review of General Principles, Validation, and Sources of Discrepancies. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2019;20(6):605-19
- 126) Mirsky I, Parmley WW. Assessment of Passive Elastic stiffness for isolated heart muscle and the intact heart. *Circ Res* 1973;33: 233-243
- 127) Lopez-Candales A & Hernandez-Suarez D. Strain Imaging Echocardiography: What Imaging Cardiologists Should Know. *Curr Cardiol Rev*. 2017;13(2):118-29
- 128) Voigt J, Pedrizzetti G, Lysyansky P et al. Definitions for a Common Standard for 2D Speckle Tracking Echocardiography: Consensus Document of the EACVI/ASE/Industry Task Force to Standardize Deformation Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2015;16(1):1-11
- 129) Abduch MC, Alencar AM, Mathias W Jr, Vieira ML. Cardiac mechanics evaluated by speckle tracking echocardiography. *Arq Bras Cardiol*. 2014 Apr;102(4):403-12
- 130) Smiseth O, Torp H, Opdahl A, Haugaa K, Urheim S. Myocardial Strain Imaging: How Useful is It in Clinical Decision Making? *Eur Heart J*. 2015;37(15):1196-207
- 131) Abawi D, Rinaldi T, Faragli A, Pieske B, Morris DA, Kelle S, Tschöpe C, Zito C, Alogna A. The non-invasive assessment of myocardial work by pressure-strain analysis: clinical applications. *Heart Fail Rev*. 2022 Jul;27(4):1261-1279
- 132) Whipple NS, Joshi VM, Naik RJ, Mentnech T, McFarland MM, Nolan VG, Hankins JS. Sickle cell disease and ventricular myocardial strain: A systematic review. *Pediatr Blood Cancer*. 2021 Jun;68(6):e28973
- 133) Barbosa MM, Vasconcelos MC, Ferrari TC, Fernandes BM, Passaglia LG, Silva CM, Nunes MC. Assessment of ventricular function in adults with sickle cell disease: role of two-dimensional speckle-tracking strain. *J Am Soc Echocardiogr*. 2014 Nov;27(11):1216-22
- 134) Whipple NS, Naik RJ, Kang G, Moen J, Govindaswamy SD, Fowler JA, Dowdy J, Penkert R, Joshi VM, Hankins JS. Ventricular global longitudinal strain is altered in children with sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2018 Dec;183(5):796-806
- 135) Braga JC, Assef JE, Waib PH, de Sousa AG, de Mattos Barretto RB, Guimarães Filho FV, Rodrigues A, Vilela FD, de Castro Bienert IR, Tan DM,

- Peluccio DC. Altered left ventricular twist is associated with clinical severity in adults and adolescents with homozygous sickle cell anemia. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015 Jun;28(6):692-9
- 136) Di Maria MV, Hsu HH, Al-Naami G, Gruenwald J, Kirby KS, Kirkham FJ, Cox SE, Younoszai AK. Left ventricular rotational mechanics in Tanzanian children with sickle cell disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 2015 Mar;28(3):340-6
- 137) Covitz W, Eubig C, Balfour IC, Jerath R, Alpert BS, Strong WB, DuRant RH. Exercise-induced cardiac dysfunction in sickle cell anemia. A radionuclide study. *Am J Cardiol.* 1983 Feb;51(3):570-5
- 138) Balfour IC, Covitz W, Arensman FW, Eubig C, Garrido M, Jones C. Left ventricular filling in sickle cell anemia. *Am J Cardiol.* 1988 Feb 1;61(4):395-9
- 139) Lewis JF, Maron BJ, Castro O, Moosa YA. Left ventricular diastolic filling abnormalities identified by Doppler echocardiography in asymptomatic patients with sickle cell anemia. *J Am Coll Cardiol.* 1991 Jun;17(7):1473-8
- 140) Braden DS, Covitz W, Milner PF. Cardiovascular function during rest and exercise in patients with sickle-cell anemia and coexisting alpha thalassemia-2. *Am J Hematol.* 1996 Jun;52(2):96-102
- 141) Fattori A, Oliveira DC, Castilho RF, Coelho OR. Sickle-cell Anemia and Latent Diastolic Dysfunction: Echocardiographic Alterations. *Arq Bras Cardiol.* 2015 Apr;104(4)
- 142) Mah K, Bruce A, Zahari N, Venner MA, Chow K, Thompson RB, Khoo NS, Tham EB. Tilt-table Echocardiography Unmasks Early Diastolic Dysfunction in Patients With Hemoglobinopathies. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2020 Aug;42(6):391-397
- 143) Sachdev V, Machado RF, Shizukuda Y, Rao YN, Sidenko S, Ernst I, St Peter M, Coles WA, Rosing DR, Blackwelder WC, Castro O, Kato GJ, Gladwin MT. Diastolic dysfunction is an independent risk factor for death in patients with sickle cell disease. *J Am Coll Cardiol.* 2007 Jan 30;49(4):472-9
- 144) Zile MR, Brutsaert DL. New concepts in diastolic dysfunction and diastolic heart failure: Part II: causal mechanisms and treatment. *Circulation.* 2002 Mar 26;105(12):1503-8
- 145) Payne AB, Mehal JM, Chapman C, Haberling DL, Richardson LC, Bean CJ, Hooper WC. Trends in Sickle Cell Disease-Related Mortality in the United States, 1979 to 2017. *Ann Emerg Med.* 2020 Sep;76(3S):S28-S36
- 146) Prusty B, Soren T, Choudhury A, Biswal R, Pradhan DK, Thatoi PK. Sickle cell disease prevents diabetes mellitus occurrence: A hospital based cross-sectional study. *J Family Med Prim Care.* 2019 Feb;8(2):361-364
- 147) Pegelow CH, Colangelo L, Steinberg M, Wright EC, Smith J, Phillips G, Vichinsky E. Natural history of blood pressure in sickle cell disease: risks for stroke and death associated with relative hypertension in sickle cell anemia. *Am J Med.* 1997 Feb;102(2):171-7

- 148) Gordeuk VR, Sachdev V, Taylor JG, Gladwin MT, Kato G, Castro OL. Relative systemic hypertension in patients with sickle cell disease is associated with risk of pulmonary hypertension and renal insufficiency. *Am J Hematol.* 2008 Jan;83(1):15-8
- 149) Kato GJ, Sachdev V. Diastolic dysfunction in sickle cell. *Blood.* 2010 Jul 8;116(1):1-2
- 150) Gevaert AB, Mueller S, Winzer EB, Duvinage A, Van de Heyning CM, Pieske-Kraigher E, Beckers PJ, Edelmann F, Wisløff U, Pieske B, Adams V, Halle M, Van Craenenbroeck EM; OptimEx-Clin Study Group. Iron Deficiency Impacts Diastolic Function, Aerobic Exercise Capacity, and Patient Phenotyping in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: A Subanalysis of the OptimEx-Clin Study. *Front Physiol.* 2022 Feb 10;12:757268
- 151) Gbotosho OT, Taylor M, Malik P. Cardiac pathophysiology in sickle cell disease. *J Thromb Thrombolysis.* 2021 Jul;52(1):248-259
- 152) Tap O, San M, Mete UO, Kaya M. Ultrastructural alterations in the myocardium of patients with sickle cell anemia. *J Submicrosc Cytol Pathol* 2001; 33 (1-2)151-6
- 153) Muchtar E, Blauwet LA, Gertz MA. Restrictive Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circ Res.* 2017 Sep 15;121(7):819-837
- 154) Raman SV, Simonetti OP, Cataland SR, Kraut EH. Myocardial ischemia and right ventricular dysfunction in adult patients with sickle cell disease. *Haematologica.* 2006 Oct;91(10):1329-35
- 155) Westwood MA, Shah F, Anderson LJ, Strange JW, Tanner MA, Maceira AM, Howard J, Porter JB, Walker JM, Wonke B, Pennell DJ. Myocardial tissue characterization and the role of chronic anemia in sickle cell cardiomyopathy. *J Magn Reson Imaging.* 2007 Sep;26(3):564-8
- 156) Voskaridou E, Christoulas D, Terpos E. Sickle-cell disease and the heart review of the current literature. *Br J Haematol.* 2012 Jun;157(6)664-73
- 157) Bakeer N, James J, Roy S, Wansapura J, Shanmukhappa SK, Lorenz JN, Osinska H, Backer K, Huby AC, Shrestha A, Niss O, Fleck R, Quinn CT, Taylor MD, Purevjav E, Aronow BJ, Towbin JA, Malik P. Sickle cell anemia mice develop a unique cardiomyopathy with restrictive physiology. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016 Aug 30;113(35):E5182-91
- 158) Rho JH, Bauman AJ, Boettger HG, Yen TF. A search for porphyrin biomarkers in Nonesuch Shale and extraterrestrial samples. *Space Life Sci.* 1973 Jan;4(1):69-77
- 159) Biomarkers Definitions Working Group.. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Mar;69(3):89-95
- 160) FDA-NIH Biomarker Working Group. BEST (Biomarkers, EndpointS, and other Tools) Resource [Internet]. Silver Spring (MD): Food and Drug

- Administration (US); 2016 disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK326791/> Co-published by National Institutes of Health (US), Bethesda (MD)
- 161) Ghezzi P, Davies K, Delaney A, Floridi L. Theory of signs and statistical approach to big data in assessing the relevance of clinical biomarkers of inflammation and oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018 Mar 6;115(10):2473-2477
- 162) Rees DC, Gibson JS. Biomarkers in sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2012 Feb;156(4):433-45
- 163) Kalpatthi R, Novelli EM. Measuring success: utility of biomarkers in sickle cell disease clinical trials and care. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2018 Nov 30;2018(1):482-492
- 164) Vallejo-Vaz AJ. Novel Biomarkers in Heart Failure Beyond Natriuretic Peptides - The Case for Soluble ST2. *Eur Cardiol*. 2015;10(1):37-41
- 165) de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. *Life Sci*. 1981 Jan 5;28(1):89-94
- 166) Nemer M, Lavigne JP, Drouin J, Thibault G, Gannon M, Antakly T. Expression of atrial natriuretic factor gene in heart ventricular tissue. *Peptides* 1986;7:1147–1152.
- 167) Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): A new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;168:863–870
- 168) Vollmar AM, Gerbes AL, Nemer M, Schulz R. Detection of C-type natriuretic peptide (CNP) transcript in the rat heart and immune organs. *Endocrinology* 1993;132:1872–1874
- 169) Goetze JP, Bruneau BG, Ramos HR, Ogawa T, de Bold MK, de Bold AJ. Cardiac natriuretic peptides. *Nat Rev Cardiol*. 2020 Nov;17(11):698-717
- 170) de Bold AJ. Thirty years of research on atrial natriuretic factor: historical background and emerging concepts. *Can J Physiol Pharmacol*. 2011 Aug;89(8):527-31
- 171) Hayek S, Nemer M. Cardiac natriuretic peptides: from basic discovery to clinical practice. *Cardiovasc Ther*. 2011 Dec;29(6):362-76
- 172) Sumita NM, Loureiro G. NT-ProBNP indica grau de insuficiência cardíaca 2015 Revista Médica Fleury Ed. 5 – disponível dia 22/08/2022 - <https://www.fleury.com.br/medico/artigos-cientificos/nt-probnp-indica-grau-de-insuficiencia-cardiaca-revista-medica-ed-5-2015>
- 173) Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GM, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P; Authors/Task Force Members; DocumentReviewers. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis

- and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016
- 174) Voskaridou E, Tsetsos G, Tsoutsias A, Spyropoulou E, Christoulas D, Terpos E. Pulmonary hypertension in patients with sickle cell/β thalassemia: incidence and correlation with serum N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations . *Haematologica* 2007;92:738-43
 - 175) Mokhtar GM, Adly AA, El Alfy MS, Tawfik LM, Khairy AT. N-terminal natriuretic peptide and ventilation-perfusion lung scan in sickle cell disease and thalassemia patients with pulmonary hypertension. *Hemoglobin*. 2010;34(1):78-94.
 - 176) Aliyu ZY, Suleiman A, Attah E, Mamman AI, Babadoko A, Nourai M, Mendelsohn L, Kato GJ, Gordeuk VR, Gladwin MT. NT-proBNP as a marker of cardiopulmonary status in sickle cell anaemia in Africa. *Br J Haematol*. 2010 Jul;150(1):102-7
 - 177) Feld L, Fiorino EK, Aygun B, Appiah-Kubi A, Mitchell EC, Jackson S, Mehran R, Fishbein J, Santiago MT. NT-proBNP levels and cardiopulmonary function in children with sickle cell disease. *Pediatr Pulmonol*. 2021 Feb;56(2):495-501
 - 178) Minniti CP, Taylor JG 6th, Hildesheim M, O'Neal P, Wilson J, Castro O, Gordeuk VR, Kato GJ. Laboratory and echocardiography markers in sickle cell patients with leg ulcers. *Am J Hematol*. 2011 Aug;86(8):705-8
 - 179) Takatsuki S, Ivy DD, Nuss R. Correlation of N-terminal fragment of B-type natriuretic peptide levels with clinical, laboratory, and echocardiographic abnormalities in children with sickle cell disease. *J Pediatr*. 2012 Mar;160(3):428-433
 - 180) Van Beers EJ, Nur E, Schaefer-Prokop CM, Mac Gillavry MR, van Esser JW, Brandjes DP, Kappers-Klunne MC, Duits AJ, Muskiet FA, Schnog JJ, Biemond BJ; CURAMA Study Group. Cardiopulmonary imaging, functional and laboratory studies in sickle cell disease associated pulmonary hypertension. *Am J Hematol*. 2008 Nov;83(11):850-4
 - 181) Schimmel M, van Beers EJ, van Tuijn CF, Nur E, Rijnveld AW, Mac Gillavry MR, Brandjes DP, Schnog JJ, Biemond BJ; CURAMA study group. N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, tricuspid jet flow velocity, and death in adults with sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2015 Apr;90(4):E75-6
 - 182) Gladwin MT, Barst RJ, Gibbs JS, Hildesheim M, Sachdev V, Nourai M, Hassell KL, Little JA, Schraufnagel DE, Krishnamurti L, Novelli E, Girgis RE, Morris CR, Berman Rosenzweig E, Badesch DB, Lanzkron S, Castro OL, Taylor JG 6th, Goldsmith JC, Kato GJ, Gordeuk VR, Machado RF; walk-PHaSST Investigators and Patients. Risk factors for death in 632 patients with sickle cell disease in the United States and United Kingdom. *PLoS One*. 2014 Jul 2;9(7):e99489

- 183) Rai P, Niss O, Malik P. A reappraisal of the mechanisms underlying the cardiac complications of sickle cell anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Nov;64(11)
- 184) Farrell AT, Panepinto J, Desai AA, Kassim AA, Lebensburger J, Walters MC, Bauer DE, Blaylark RM, DiMichele DM, Gladwin MT, Green NS, Hassell K, Kato GJ, Klings ES, Kohn DB, Krishnamurti L, Little J, Makani J, Malik P, McGann PT, Minniti C, Morris CR, Odame I, Oneal PA, Setse R, Sharma P, Shenoy S. End points for sickle cell disease clinical trials: renal and cardiopulmonary, cure, and low-resource settings. *Blood Adv*. 2019 Dec 10;3(23):4002-4020
- 185) Tominaga S. A putative protein of a growth specific cDNA from BALB/c-3T3 cells is highly similar to the extracellular portion of mouse interleukin 1 receptor. *FEBS Lett* (1989) 258(2):301–4. doi:10.1016/0014-5793(89)81679-5
- 186) Griesenauer B, Paczesny S. The ST2/IL-33 Axis in Immune Cells during Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 2017 Apr 24;8:475
- 187) Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* (2005) 23(5):479–90
- 188) Weinberg EO, Shimpo M, Hurwitz S, Tominaga S, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation*. 2003 Feb 11;107(5):721-6
- 189) Sanada S, Hakuno D, Higgins LJ, Schreiter ER, McKenzie AN, Lee RT. IL-33 and ST2 comprise a critical biomechanically induced and cardioprotective signaling system. *J Clin Invest* (2007) 117(6):1538–49
- 190) Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel 'alarmin'? *PLoS One* (2008) 3(10):e3331
- 191) Whellan DJ, O'Connor CM, Lee, KL, et al: HF-ACTION Trial Investigators. Heart failure and a controlled trial investigating outcomes of exercise training (HF-ACTION): design and rationale. *Am Heart J*. 2007;153(2):201-211
- 192) Crnko S, Printezi MI, Jansen TPJ, Leiteris L, van der Meer MG, Schutte H, van Faassen M, du Pré BC, de Jonge N, Asselbergs FW, Gaillard CAJM, Kemperman H, Doevendans PA, Sluijter JPG, van Laake LW. Prognostic biomarker soluble ST2 exhibits diurnal variation in chronic heart failure patients. *ESC Heart Fail*. 2020 Jun;7(3):1224-1233
- 193) Homsak E, Gruson D. Soluble ST2: A complex and diverse role in several diseases. *Clin Chim Acta*. 2020 Aug;507:75-87
- 194) Vander Lugt MT, Braun TM, Hanash S, Ritz J, Ho VT, Antin JH, Zhang Q, Wong CH, Wang H, Chin A, Gomez A, Harris AC, Levine JE, Choi SW, Couriel D, Reddy P, Ferrara JL, Paczesny S. ST2 as a marker for risk of therapy-

- resistant graft-versus-host disease and death. *N Engl J Med*. 2013 Aug 8;369(6):529-39
- 195) Dudek M, Kałużna-Oleksy M, Migaj J, Straburzyńska-Migaj E. Clinical value of soluble ST2 in cardiology. *Adv Clin Exp Med*. 2020 Oct;29(10):1205-1210
- 196) Wei J, Zhao J, Schrott V, Zhang Y, Gladwin M, Bullock G, Zhao Y. Red Blood Cells Store and Release Interleukin-33. *J Investig Med*. 2015 Aug;63(6):806-10
- 197) Dong R, Zhang M, Hu Q, Zheng S, Soh A, Zheng Y, Yuan H. Galectin-3 as a novel biomarker for disease diagnosis and a target for therapy (Review). *Int J Mol Med*. 2018 Feb;41(2):599-614
- 198) Gong HC, Honjo Y, Nangia-Makker P, Hogan V, Mazurak N, Bresalier RS, Raz A. The NH2 terminus of galectin-3 governs cellular compartmentalization and functions in cancer cells. *Cancer Res*. 1999 Dec 15;59(24):6239-45
- 199) Domic J, Dabelic S, Flögel M. Galectin-3: an open-ended story. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Apr;1760(4):616-35
- 200) Schroen B, Heymans S, Sharma U, Blankesteyn M, Pokharel S, Cleutjens JP, Porter JG, Evelo CT, Duisters R, Leeuwen RE, Janssen BJ, Debets JJ, Smits JF, Daemen MJ, Crijns HJ, Bornstein P, Pinto YM. Thrombospondin-2 is essential for myocardial matrix integrity: increased expression identifies failure-prone forms of cardiac hypertrophy. *Circ Res*. 2004;95:515–522.
- 201) Sharma UC, Pokharel S, van Brakel TJ, van Berlo JH, Cleutjens JP, Schroen B, André S, Crijns HJ, Gabius HJ, Maessen J, Pinto YM. Galectin-3 marks activated macrophages in failure-prone hypertrophied hearts and contributes to cardiac dysfunction. *Circulation*. 2004 Nov 9;110(19):3121-8.
- 202) van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr, Ellinor PT, Sharma UC, Bakker JA, Low AF, Martinez A, Crijns HJ, MacRae CA, Menheere PP, Pinto YM. Utility of amino-terminal pro-brain natriuretic peptide, galectin-3, and apelin for the evaluation of patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Sep 19;48(6):1217-24
- 203) Ho JE, Liu C, Lyass A, Courchesne P, Pencina MJ, Vasan RS, Larson MG, Levy D. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the community. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Oct 2;60(14):1249-56
- 204) Ghorbani A, Bhambhani V, Christenson RH, Meijers WC, de Boer RA, Levy D, Larson MG, Ho JE. Longitudinal Change in Galectin-3 and Incident Cardiovascular Outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Dec 25;72(25):3246-3254
- 205) Maiolino G, Rossitto G, Pedon L, Cesari M, Frigo AC, Azzolini M, Plebani M, Rossi GP. Galectin-3 predicts long-term cardiovascular death in high-risk patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2015;35:725–732
- 206) Lepojarvi ES, Piira OP, Pääkkö E, Lammentausta E, Risteli J, Miettinen JA, Perkiömäki JS, Huikuri HV, Juntila MJ. Serum PINP, PIIINP, galectin-3,

- and ST2 as surrogates of myocardial fibrosis and echocardiographic left ventricular diastolic filling properties. *Front Physiol.* 2015;6:200
- 207) Saint-Lu N, Oortwijn BD, Pegon JN, Odouard S, Christophe OD, de Groot PG, Denis CV, Lenting PJ. Identification of galectin-1 and galectin-3 as novel partners for von Willebrand factor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012 Apr;32(4):894-901
- 208) Kocyigit D, Gurses KM, Yalcin MU, Canpinar H, Canpolat U, Evranos B, Yorgun H, Ozer N, Guc D, Aytemir K. Serum galectin-3 level as a marker of thrombogenicity in atrial fibrillation. *J Clin Lab Anal.* 2017 Nov;31(6):22120
- 209) Ricchi AM, Di Matola T, Spasiano A, Filosa A, Costantini S, Atripaldi L, Esposito S, Cinque P, De Franceschi L, Pepe A. Galectin-3 and myocardial fibrosis by cardiac magnetic resonance in thalassaemia major. *Blood* 2016 128(22):4832
- 210) Galectin-3 Is a Mediator of Pulmonary Fibrosis in Sickle Cell Disease: Novel Roles for Hemolysis and Acute Chest Syndrome. Lee I, Anea C, Kumar S, Falls G, Oseghale A, Brittain J. *Blood* (2016) 128 (22): 2480
- 211) Mendonça Belmont TF, do Ó KP, Soares da Silva A, de Melo Vilar K, Silva Medeiros F, Silva Vasconcelos LR, Mendonça Dos Anjos AC, Domingues Hatzlhofer BL, Pitta MG, Bezerra MA, Araújo Ada S, de Melo Rego MJ, Moura P, Cavalcanti Mdo S. Single Nucleotide Polymorphisms at +191 and +292 of Galectin-3 Gene (LGALS3) Related to Lower GAL-3 Serum Levels Are Associated with Frequent Respiratory Tract Infection and Vaso-Occlusive Crisis in Children with Sickle Cell Anemia. *PLoS One.* 2016 Sep 7;11(9):e0162297
- 212) Wagdy R, Suliman H, Bamashmose B, Aidaroos A, Haneef Z, Samonti A, Awn F. Subclinical myocardial injury during vaso-occlusive crisis in pediatric sickle cell disease. *Eur J Pediatr.* 2018 Dec;177(12):1745-1752
- 213) Koyuncu, M. B., Basir, H., Karadurmus, B., Unal, S., Tombak, A., & Tiftik, E. N. Can galectin-3 be used to predict the severity of vasoocclusive crisis in patients with sickle cell anaemia?. *Medical Science and Discovery* 2022, 9(2), 96–100
- 214) Ebashi S, Kodama A A new protein factor promoting aggregation of tropomyosin. *J Biochem* 1965 58:107–108
- 215) Garg, P., Morris, P., Fazlanie, A.L. et al. Cardiac biomarkers of acute coronary syndrome: from history to high-sensitivity cardiac troponin. *Intern Emerg Med* 12, 147–155 (2017)
- 216) Jarolim P. High sensitivity cardiac troponin assays in the clinical laboratories. *ClinChem Lab Med.* 2015;53(5):635-52
- 217) de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA.* 2010;304(22):2503-12

- 218) Twerenbold R, Jaffe A, Reichlin T, Reiter M, Mueller C. High-sensitive troponin T measurements: what do we gain and what are the challenges? *Eur Heart J.* 2012;33(5):579-86
- 219) Stein GY, Alon D, Korenfeld R, Fuchs S. Clinical implications of high-sensitivity cardiac troponin measurements in hospitalized medical patients. *PloS* 2015; 10(1):e0117162
- 220) Anderson PA, Malouf NN, Oakeley AE, Pagani ED, Allen PD. Troponin T isoform expression in humans. A comparison among normal and failing adult heart, fetal heart, and adult and fetal skeletal muscle. *Circ Res.* 1991;69(5):1226-33
- 221) Jaffe AS, Vasile VC, Milone M, Saenger AK, Olson KN, Apple FS. Diseased skeletal muscle: a noncardiac source of increased circulating concentrations of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58(17):1819-24
- 222) Kaura A, Panoulas V, Glampson B, Davies J, Mulla A, Woods K, Omigie J, Shah AD, Channon KM, Weber JN, Thursz MR, Elliott P, Hemingway H, Williams B, Asselbergs FW, O'Sullivan M, Kharbanda R, Lord GM, Melikian N, Patel RS, Perera D, Shah AM, Francis DP, Mayet J. Association of troponin level and age with mortality in 250 000 patients: cohort study across five UK acute care centres. *BMJ.* 2019 Nov 20;367:l6055
- 223) Blankenberg S, Salomaa V, Makarova N, Ojeda F, Wild P, Lackner KJ, Jørgensen T, Thorand B, Peters A, Nauck M, Petersmann A, Vartiainen E, Veronesi G, Brambilla P, Costanzo S, Iacoviello L, Linden G, Yarnell J, Patterson CC, Everett BM, Ridker PM, Kontto J, Schnabel RB, Koenig W, Kee F, Zeller T, Kuulasmaa K; BiomarCaRE Investigators. Troponin I and cardiovascular risk prediction in the general population: the BiomarCaRE consortium. *Eur Heart J.* 2016 Aug 7;37(30):2428-37
- 224) Aslam AK, Rodriguez C, Aslam AF, Vasavada BC, Khan IA. Cardiac troponin I in sickle cell crisis. *Int J Cardiol.* 2009 Mar 20;133(1):138-9
- 225) Lippi G, De Franceschi L, Salvagno GL, Pavan C, Montagnana M, Guidi GC. Cardiac troponin T during sickle cell crisis. *Int J Cardiol.* 2009 Aug 21;136(3):357-8
- 226) Adeniyi AT, Okeniyi JAO, Adegoke SA, Oseni SBA, Smith OS, Abe-Dada AA. Clinical Utilities of Electrocardiography in the Diagnosis of Myocardial Ischemia in Children with Sickle Cell Anemia: Correlation with Serum Cardiac Troponin I. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2021 Nov 1;43(8):308-313
- 227) Akkus NI, Rajpal S, Hilbun J, Dwary A, Smith TR, Mina G, Reddy PC. Troponin Elevation in Sickle Cell Disease. *Med Princ Pract.* 2021;30(5):437-442
- 228) Ballas SK, Lieff S, Benjamin LJ, Dampier CD, Heeney MM, Hoppe C, Johnson CS, Rogers ZR, Smith-Whitley K, Wang WC, Telen MJ; Investigators, Comprehensive Sickle Cell Centers. Definitions of the

- phenotypic manifestations of sickle cell disease. *Am J Hematol.* 2010 Jan;85(1):6-13
- 229) Asnani MR, Lynch O, Reid ME. Determining glomerular filtration rate in homozygous sickle cell disease: utility of serum creatinine based estimating equations. *PLoS One.* 2013 Jul 19;8(7):e69922
- 230) Jara JMC, Fonseca GHH, Caldin B, Marquez CS, Bushpigel CA, Gualandro, SFM .Glomerular filtration rate measured by 51-cr edta in adult patients with sickle cell disease (ss and s β 0 thalassemia): comparison with equations to estimate renal function bstract release date: 05/14/20) EHA Library. Manuel Carranza J. 06/12/20; 294020; EP1536
- 231) Mitchell C, Rahko PS, Blauwet LA, Canaday B, Finstuen JA, Foster MC, Horton K, Ogunyankin KO, Palma RA, Velazquez EJ. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64
- 232) Manganaro R et al. Echocardiographic reference ranges for normal non-invasive myocardial work indices: results from the EACVI NORRE study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2019 May 1;20(5):582-590
- 233) Meris A et al. Timing and magnitude of regional right ventricular function: a speckle tracking-derived strain study of normal subjects and patients with right ventricular dysfunction. *J Am Soc Echocardiogr.* 2010;23:823–831
- 234) Pathan F et al. Normal Ranges of Left Atrial Strain by Speckle-Tracking Echocardiography: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Soc Echocardiogr.* 2017 Jan;30(1):59-70.e8
- 235) Sachdev V, Tian X, Gu Y, Nichols J, Sidenko S, Li W, Beri A, Layne WA, Allen D, Wu CO, Thein SL. A phenotypic risk score for predicting mortality in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2021 Mar;192(5):932-941
- 236) Kirkwood, BR Sterne, JAC (2006). *Essential medical statistics.* 2nd ed. Blackwell Science: Massachusetts, USA. p.502.
- 237) Johnson, RA; Wichern, DW (2007). *Applied Multivariate Statistical Analysis.* 6th Revised ed. Pearson. 800p
- 238) McCullagh, P; Nelder, JA (1989). *Generalized linear models.* 2nd ed. Chapman and Hall: New York, USA. p.511.
- 239) Neter, J; Kutner,MH; Nachtsheim,CJ; Wasserman, W (1996). *Applied Linear Statistical Models.* 4. ed. Illinois: Richard D. Irwing. 1408p.
- 240) Crimmins EM, Shim H, Zhang YS, Kim JK. Differences between Men and Women in Mortality and the Health Dimensions of the Morbidity Process. *Clin Chem.* 2019 Jan;65(1):135-145
- 241) Ceglie G, Di Mauro M, Tarissi De Jacobis I, de Gennaro F, Quaranta M, Baronci C, Villani A, Palumbo G. Gender-Related Differences in Sickle Cell Disease in a Pediatric Cohort: A Single-Center Retrospective Study. *Front Mol Biosci.* 2019 Dec 5;6:140

- 242) Gladwin MT, Schechter AN, Ognibene FP, Coles WA, Reiter CD, Schenke WH, Csako G, Waclawiw MA, Panza JA, Cannon RO 3rd. Divergent nitric oxide bioavailability in men and women with sickle cell disease. *Circulation*. 2003 Jan 21;107(2):271-8.
- 243) Ballas SK. The Sixth Vital Sign: Body Mass Index in Patients With Sickle Cell Disease. *J Clin Med Res*. 2017 Oct;9(10):889-890
- 244) West MS, Wethers D, Smith J, Steinberg M. Laboratory profile of sickle cell disease: a cross-sectional analysis. *The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. J Clin Epidemiol*. 1992 Aug;45(8):893-909
- 245) Lippi G, Favaloro EJ, Franchini M. Haemolysis index for the screening of intravascular haemolysis: a novel diagnostic opportunity? *Blood Transfus*. 2018 Sep;16(5):433-437
- 246) Pérez-Riera AR, Barbosa-Barros R, Daminello-Raimundo R, de Abreu LC, García-Niebla J, de Deus Morais MJ, Nikus K, Marcus FI. Epsilon wave: A review of historical aspects. *Indian Pacing Electrophysiol J*. 2019 Mar-Apr;19(2):63-67
- 247) Fontaine G., Frank R., Bonnet M., Cabrol C., Guiraudon G. [Experimental and clinical study of Wolff-Parkinson-White and myocardial ischemia syndromes by cartography of epicardial ventricular depolarization] *Coeur Med Interne*. 1973;12:105–113
- 248) Hurst J.W. Naming of the waves in the ECG, with a brief account of their genesis. *Circulation*. 1998;98:1937–1942
- 249) Patel HN, Miyoshi T, Addetia K, Henry MP, Citro R, Daimon M, Gutierrez Fajardo P, Kasliwal RR, Kirkpatrick JN, Monaghan MJ, Muraru D, Ogunyankin KO, Park SW, Ronderos RE, Sadeghpour A, Scalia GM, Takeuchi M, Tsang W, Tucay ES, Tude Rodrigues AC, Vivekanandan A, Zhang Y, Schreckenber M, Blankenhagen M, Degel M, Rossmannith A, Mor-Avi V, Asch FM, Lang RM; WASE Investigators. Normal Values of Cardiac Output and Stroke Volume According to Measurement Technique, Age, Sex, and Ethnicity: Results of the World Alliance of Societies of Echocardiography Study. *J Am Soc Echocardiogr*. 2021 Oct;34(10):1077-1085
- 250) Liem RI, Pelligra SA, Shah AD, Labotka RJ, Young LT, Thompson AA. Reliability of Tricuspid Regurgitant Jet Velocity Measurements in Children and Young Adults with Sickle Cell Disease. *Blood* 2009; 114 (22): 2581.
- 251) Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, Abad-Grau MM, Wang L, Adewoye AH, McMahon LC, Farrer LA, Taylor JG 6th, Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Blood*. 2007 Oct 1;110(7):2727-35
- 252) Lam CS, Cheng S, Choong K, et al. Influence of sex and hormone status on circulating natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol* 2011;58:618–626
- 253) Lew J, Sanghavi M, Ayers CR, et al. Sex-based differences in cardiometabolic biomarkers. *Circulation* 2017;135:544–555

- 254) Alsaied T, Niss O, Tretter JT, Powell AW, Chin C, Fleck RJ, Cnota JF, Malik P, Quinn CT, Nagueh SF, Taylor MD, Mazur WM. Left atrial dysfunction in sickle cell anemia is associated with diffuse myocardial fibrosis, increased right ventricular pressure and reduced exercise capacity. *Sci Rep.* 2020 Feb 4;10(1):1767
- 255) Kaur K, Huang Y, Raman SV, Kraut E, Desai P. Myocardial injury and coronary microvascular disease in sickle cell disease. *Haematologica.* 2021 Jul 1;106(7):2018-2021
- 256) Vergaro G, Del Franco A, Giannoni A, Prontera C, Ripoli A, Barison A, Masci PG, Aquaro GD, Cohen Solal A, Padeletti L, Passino C, Emdin M. Galectin-3 and myocardial fibrosis in nonischemic dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol.* 2015 Apr 1;184:96-100
- 257) He YS, Hu YQ, Xiang K, Chen Y, Feng YT, Yin KJ, Huang JX, Wang J, Wu ZD, Wang GH, Pan HF. Therapeutic Potential of Galectin-1 and Galectin-3 in Autoimmune Diseases. *Curr Pharm Des.* 2022;28(1):36-45
- 258) DeFilipp Z, Navarro-Alvarez N, Li S, Andrews AR, Johnson A, Chen YB, Ho VT, Ritz J, Spitzer TR, Huang CA. Elevated Galectin-3 Plasma Concentrations in Recipients of Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Clin Hematol Int.* 2019 Aug 29;1(4):201-204
- 259) Gittens BR, Bodkin JV, Nourshargh S, Perretti M, Cooper D. Galectin-3: A Positive Regulator of Leukocyte Recruitment in the Inflamed Microcirculation. *J Immunol.* 2017 Jun 1;198(11):4458-4469
- 260) Sano H, Hsu DK, Apgar JR, Yu L, Sharma BB, Kuwabara I, Izui S, Liu FT. Critical role of galectin-3 in phagocytosis by macrophages. *J Clin Invest.* 2003 Aug;112(3):389-97
- 261) Cerqueira BA, Boas WV, Zanette AD, Reis MG, Goncalves MS. Increased concentrations of IL-18 and uric acid in sickle cell anemia: contribution of hemolysis, endothelial activation and the inflammasome. *Cytokine.* 2011 Nov;56(2):471-6
- 262) Voelkel MA, Wynne KM, Badesch DB, Groves BM, Voelkel NF. Hyperuricemia in severe pulmonary hypertension. *Chest.* 2000 Jan;117(1):19-24
- 263) Yan YP, Lang BT, Vemuganti R, Dempsey RJ. Galectin-3 mediates post-ischemic tissue remodeling. *Brain Res.* 2009 Sep 8;1288:116-24
- 264) Ma Z, Han Q, Wang X, Ai Z, Zheng Y. Galectin-3 Inhibition Is Associated with Neuropathic Pain Attenuation after Peripheral Nerve Injury. *PLoS One.* 2016 Feb 12;11(2):e0148792
- 265) Wang J, Barke RA, Charboneau R, Roy S. Morphine impairs host innate immune response and increases susceptibility to *Streptococcus pneumoniae* lung infection. *J Immunol.* 2005 Jan 1;174(1):426-34
- 266) Dave RS, Khalili K. Morphine treatment of human monocyte-derived macrophages induces differential miRNA and protein expression: impact on

- inflammation and oxidative stress in the central nervous system. *J Cell Biochem.* 2010 Jul 1;110(4):834-45
- 267) Ballas SK. Current issues in sickle cell pain and its management. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007:97-105
- 268) Watanabe M, Nakamoto K, Inui T, Sada M, Chibana K, Miyaoka C, Yoshida Y, Aso J, Nunokawa H, Honda K, Nakamura M, Tamura M, Hirata A, Oda M, Takata S, Saraya T, Kurai D, Ishii H, Takizawa H. Soluble ST2 enhances IL-33-induced neutrophilic and pro-type 2 inflammation in the lungs. *Allergy.* 2022 Jun 5.
- 269) Boulassel MR, Al-Zubaidi A, Al-Zadjali S, Al-Qarni Z, Al-Naamany N, Al-Yarabi A, Elshinawy M, Wali Y. Elevated levels of circulating invariant natural killer cell subsets are skewed toward Th2-like phenotype in children with sickle cell disease. *Clin Immunol.* 2020 Jan;210:108308
- 270) Sachdev V, Hsieh M, Jeffries N, Noreuil A, Li W, Sidenko S, Hannoush H, Limerick E, Wilson D, Tisdale J, Fitzhugh C. Reversal of a rheologic cardiomyopathy following hematopoietic stem cell transplantation for sickle cell disease. *Blood Adv.* 2019 Oct 8;3(19):2816-2824

APÊNDICE A

Parâmetros bioquímicos, eletrocardiográficos e ecocardiográficos faltantes

Informações laboratoriais faltantes	N(%)
Perfil de ferro	3 (2,4)
Proteína C Reativa -	5 (4)
Informações eletrocardiográficas faltantes	N(%)
Traçado	1 (0,8)
RR	14 (11,1)
PR	1 (0,8)
QTcF	13 (10,8)
Informações ecocardiográficas faltantes	N(%)
Estimativa de disfunção diastólica	3 (2,4)
e' lateral	5 (4)
e' septal	5 (4)

E/e'	5 (4)
Volume sistólico (stroke)	3 (2,4)
Débito e Índice Cardíaco	3 (2,4)
Volume de átrio esquerdo	1 (0,8)
Velocidade de Regurgitação de Tricúspide	21 (16,7)
Volume de ventrículo direito	1 (0,8)
Índice de performance Miocárdica	13 (10,3)
Strain longitudinal global VD	2 (1,6)
Strain longitudinal global VE	2 (1,6)
Global Work Index e derivados	3 (2,4)
Strain do Átrio Esquerdo	1 (0,8)
Rigidez atrial	4 (3,1)

ANEXO A

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO-HCFMUSP**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DA PESQUISA

Título da pesquisa - Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes

Pesquisador principal – Prof Dra Sandra Fátima Menosi Gualandro

Pesquisador executante – Dr Guilherme Henrique Hencklain Fonseca

Departamento/Instituto – Departamento de Clínica Médica/Disciplina de Hematologia e Hemoterapia/ICHC

Convidamos o(a) Sra. para participar da pesquisa "Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes";

Justificativa e objetivos do estudo - Pessoas com doença falciforme podem apresentar alterações em vários órgãos, entre eles o coração e os pulmões. Como a anemia e essas alterações do coração e pulmão podem ter sintomas muito parecidos é difícil saber quantos pacientes tem esses problemas e como tratar da forma correta. Estamos convidando você a participar deste estudo para identificar se alguns exames de sangue pode nos ajudar a identificar os pacientes que tenham essas complicações;

Procedimentos que serão realizados e métodos que serão empregados: Será feita uma revisão de seu prontuário, revendo seus exames rotineiros e a história de sua doença. Serão colhidos 20 mililitros de sangue (equivalente a duas colheres de sopa) para realizar exames de sangue. Um exame é o peptídeo natriurético atrial (BNP) e o outro é a troponina cardíaca de alta sensibilidade (hs-cTn). Os dois exames ajudam a entender se a doença de alguma forma está machucando os músculos que formam o coração. A coleta do sangue será feita de sua veia do braço. Você também fará em até 4 semanas após a coleta do exame de sangue um ecocardiograma, que é um exame de ultrassonografia do coração, para ver qual o tamanho do seu coração, o tamanho das diferentes partes do coração (átrio e ventrículos) e como ele está funcionando.

Desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa – Os desconfortos e riscos esperados com a realização dos exames de sangue são os causados pela picada para colher sangue de sua veia, podendo ter dor ou mancha roxa no local. O ecocardiograma é um exame que não invade nem causam ferimentos em seu corpo, não tendo riscos para sua realização, mas é necessário tirar a parte de cima de sua roupa, como camisa, camiseta e sutiã para sua realização. A realização do exame não é filmada ou fotografada e somente seus resultados serão vistos pelos investigadores. Em algumas pessoas

com pelos no peito poderá ser solicitada a raspagem dos pelos para colocação dos eletrodos que medem a atividade elétrica do coração.

Benefícios esperados para o participante – O maior benefício é descobrir se você tem alguma doença em seu coração. Esta complicação pode alterar sua qualidade e quantidade de vida. Ao diagnosticarmos corretamente poderemos ser capazes de tratá-lo de uma forma melhor. Além disso, saberemos qual o número de pessoas em nosso ambulatório que tem o mesmo problema e tentaremos encontrar pontos em comum entre você e essas outras pessoas. Ao conhecermos mais a doença falciforme e suas complicações seremos capazes de tratar melhor os pacientes.

Procedimentos alternativos que possam ser vantajosos para o indivíduo- Este é um estudo que tenta fazer um diagnóstico mais cedo e mais preciso de algumas complicações que poderão ocorrer no futuro. Não há, por enquanto, procedimentos alternativos para auxiliar nesse momento.

Esclarecimento sobre a forma de acompanhamento e assistência a que terão direito os participantes da pesquisa – No estudo você manterá a mesma rotina de acompanhamento, consultas e tratamentos do ambulatório.

Garantias de plena liberdade ao participante de recusar-se a participar ou retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma, de sigilo e privacidade – Você tem direito a não participar do trabalho, se for a sua vontade. Caso você decida participar e em qualquer fase do trabalho deseje retirar o consentimento você pode fazer e isso não causará alterações em seu tratamento ou no seu acompanhamento no ambulatório. Todas as suas informações pessoais e sua identidade serão mantidas em segredo e os dados serão utilizados somente para ensino e publicação científica. Todas as amostras de sangue coletadas durante esta pesquisa, conforme descrito acima, serão utilizadas apenas para os propósitos descritos neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Ao final da pesquisa ou depois que todos os resultados dos exames ficarem prontos, se tiver sobrado alguma quantidade de sangue estas amostras serão destruídas. O laboratório não irá guardar suas amostras biológicas

Garantia de que o participante receberá uma via do termo de consentimento – Você receberá uma via deste termo de consentimento assinada pelo pesquisador, onde há as informações sobre o trabalho e as informações caso você precisar entrar em contato com algum dos pesquisadores.

Ressarcimento por despesas decorrentes da pesquisa e explicitação da garantia de indenização por eventuais danos decorrentes da pesquisa – Você não terá nenhuma despesa pela participação nesta pesquisa. Todos os custos associados à sua participação na pesquisa, como transporte e alimentação nos dias em que você vem para as visitas médicas (onde serão feitos os exames do trabalho) serão pagos através do centro de pesquisa. Os mesmos custos são pagos para seu acompanhante, se necessário. Você não receberá pagamento pela participação nesta pesquisa.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é o Dr Guilherme Henrique Hencklain Fonseca que pode ser encontrado no endereço – Avenida Dr Eneas de Carvalho Aguiar Telefone 99-609-2005, e-mail guilherme.fonseca@hc.fm.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661- 6442 ramais 16, 17, 18, ou (11) 2661-7585; e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito do estudo "Biomarcadores cardíacos em pacientes adultos com doenças falciformes". Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável Dra Sandra Fátima Menosi Gualandro ou pelo pesquisador executante Dr Guilherme Henrique Hencklain Fonseca sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pelo pesquisador.

Assinatura do participante /representante legal Data / /

Assinatura do responsável pelo estudo Data / /

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO (OU ETIQUETA INSTITUCIONAL DE IDENTIFICAÇÃO) DO PARTICIPANTE DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE

CEP: TELEFONE: DDD (.....)

2. RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....)
