



Bárbara Victória Malta de Andrade

**Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise em
pacientes com doença falciforme**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Medicina Tropical

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde
Internacional

Orientadora Dr(a). Carla Luana Dinardo

São Paulo

2023

Bárbara Victória Malta de Andrade

**Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise em
pacientes com doença falciforme**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em Ciências

Programa de Medicina Tropical

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde
Internacional

Orientadora Profa. Dra. Carla Luana Dinardo

São Paulo

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

@reprodução autorizada pelo autor

Andrade, Bárbara Victoria Malta de
Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise
em pacientes com doença falciforme / Bárbara
Victoria Malta de Andrade. -- São Paulo, 2023.
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Medicina Tropical. Área de
Concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional.
Orientadora: Carla Luana Dinardo.

Descritores: 1.Anemia falciforme 2.Hiperhemólise
3.Reação transfusional 4.Reação hemolítica
5.Transfusão 6.Aloimunização

USP/FM/DBD-194/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Este trabalho é dedicado:

Primeiramente aos amores da minha vida: Victor e Arthur, que renovam minhas energias, me enchendo de amor e carinho. Vocês me motivam a ser uma pessoa melhor a cada dia.

Ao meu companheiro de vida, Guilherme, que é o meu maior exemplo de força e determinação.

Aos meus pais, Nilce e Joba, fonte de um amor incondicional, que vibram com as minhas conquistas.

Dedico também aos meus amigos, que tanto me incentivaram e acreditaram na minha capacidade, quando até eu mesma duvidava.

Dedico este trabalho, com muito carinho, à minha orientadora, Dra. Carla Luana Dinardo. Essa caminhada foi conduzida com tamanha leveza, parceria e respeito, que não tenho palavras para expressar minha gratidão.

Aos pacientes com doença falciforme, espero poder contribuir para alimentar a esperança de um futuro melhor.

AGRADECIMENTOS

Expresso minha sincera gratidão àqueles que estiveram comigo e contribuíram para que essa conquista fosse possível:

Ao Instituto de Medicina Tropical da Fundação Faculdade de Medicina de São Paulo, pela grande oportunidade de realizar o mestrado e por todo apoio prestado nesse processo.

Agradeço ao grupo REDS, primeiramente pela oportunidade de trabalhar e de aprender com os melhores pesquisadores, é uma honra fazer parte dessa equipe. À Isabel e Mina, em especial, por toda a dedicação, paciência e empenho na realização do nosso trabalho.

À minha orientadora, Dra. Carla Luana Dinardo. Sem sua orientação e amizade nada disso seria possível. Obrigada por ser essa pessoa tão incrível, e por compartilhar seu enorme conhecimento, de forma tão doce e admirável.

Agradeço a todos os colaboradores da Fundação Hemominas, que de alguma forma contribuíram para que o estudo pudesse acontecer.

Às minhas queridas “REDS Girls”, juntas fomos crescendo e acompanhando as conquistas umas das outras, obrigada por cada momento especial que compartilhamos. Vocês me fizeram crescer como ser humano e profissional.

À minha amiga e comadre, Carol Miranda, que me introduziu nesse universo da pesquisa, me acolheu como funcionária e se tornou família. Sempre disposta a ajudar todos à sua volta, conseguiu plantar a semente acadêmica em mim, e hoje me acompanhar florescer.

Às meninas do REDS no HBH, pela parceria do dia a dia, pela paciência, amizade e compreensão, por segurarem a minha mão e me ajudarem a realizar esse trabalho.

Agradeço aos meus familiares e amigos, por todo amor e suporte. Vocês representam a minha força e tudo que tenho de mais importante nessa vida!

*“Um dia, quando olhares para trás, verás que os dias
mais belos foram aqueles em que lutaste.”*

(Sigmund Freud)

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

RESUMO

ABSTRACT

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	15
Objetivo Geral	15
Objetivos Específicos	15
3. REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1 Doença Falciforme	16
3.1.1 Fisiopatologia	19
3.1.2 Complicações frequentes da DF	21
3.1.3 Tratamento	24
3.2 Aloimunização eritrocitária	27
3.3 Reações Transfusionais	29
3.4 Síndrome de Hiper-Hemólise (HS)	29
Uso de Rituximabe na HS	32

Aspectos genéticos da HS na DF	34
4 Justificativa	36
5 MÉTODOS	37
Coorte de pacientes com DF- REDS III.....	37
Etapas do estudo	38
Controle de qualidade – REDS III	39
Desenho do estudo	39
Diagnóstico de hiper-hemólise	39
Definição das variáveis	40
Obtenção do grupo controle.....	41
Análise estatística	41
6 RESULTADOS	42
Descrição da amostra	42
Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise	42
Perfil dos pacientes com HS	42
7 DISCUSSÃO	50
8 CONCLUSÕES	57
9 REFERÊNCIAS.....	58
10 APÊNDICES	67

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Hemoglobina normal (HbA) versus hemoglobina mutante (HbS)	17
Figura 2	Número estimado de recém-nascidos com DF por 100.000 nascimentos em cada país no ano de 2015	18
Figura 3	Fisiopatologia da DF	20
Figura 4	Complicações clínicas da DF	21
Figura 5	O complemento promove a hemólise dos glóbulos vermelhos através de vias dependentes e independentes de anticorpos	31
Figura 6	Três vias de destruição de Células B opsonizadas por rituximabe	33
Figura 7	Centros participantes do REDS III no Brasil	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Tipo de doença falciforme, características sociodemográficas e epidemiológicas. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil	44
Tabela 2	Resultados laboratoriais e presença de anticorpos irregulares. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme.	45
Tabela 3	Complicações clínicas. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme.	46
Tabela 4	Tratamentos dos pacientes. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme.	47
Tabela 5	Perfil imuno-hematológico dos pacientes com hiper-hemólise (n=13). Estudo de Coorte REDS III – Falciforme.	48
Tabela 6	Tratamento administrado para cada caso de HS - Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil	49

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AF	Anemia falciforme
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AVC	Acidente vascular cerebral
DF	Doença falciforme
DI	Distância interquartilica
DP	Desvio-padrão
DTC	Doppler Transcraniano
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Hb	Hemoglobina
HLA	Antígeno leucocitário humano, do inglês <i>Human leukocyte antigen</i>
HS	Hiper-hemólise
HU	Hidroxiureia
IGIV	Imunoglobulina intravenosa
LDH	Lactato desidrogenase
NA	Necrose avascular
NHLBI	<i>National Heart, Lung, and Blood Institute</i>
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
PS	Fosfatidil-serina
REDS III	<i>Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III</i>
RHPT	Reação hemolítica pós-transfusional
RTI	<i>Research Triangle Institute</i>

RESUMO

Andrade BVM. Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise em pacientes com doença falciforme [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

Introdução: A transfusão de sangue é um recurso terapêutico de grande importância para pacientes com doença falciforme (DF). Entre as complicações associadas às transfusões de sangue, a aloimunização a antígenos eritrocitários é frequente, associando-se à ocorrência de reações hemolíticas pós-transfusionais (RHPT). Pacientes com DF são susceptíveis à ocorrência de RHPT de gravidade bastante heterogênea. Em casos extremos, há redução dos níveis de hemoglobina em relação aos pré transfusionais, denotando a ocorrência de destruição de eritrócitos próprios do paciente, além dos transfundidos, por via não totalmente esclarecida. A esta condição se dá o nome de Síndrome de Hiper-hemólise (HS). A predição de ocorrência de HS permite a realização de profilaxia com administração pré-transfusional da droga anti-CD20 (rituximab). Há poucos estudos em literatura que exploraram os fatores de risco clínico para ocorrência de HS. Objetivos: Determinar quais são os fatores clínicos associados à ocorrência de HS em pacientes com DF. Métodos: Trata-se de estudo caso-controle tendo como fonte os pacientes cadastrados na coorte do Estudo Longitudinal Multicêntrico da Doença Falciforme – REDS-III, de 2013 a 2018, em quatro centros brasileiros: Hemominas, Hemope, Hemorio e ITACI – Instituto de Tratamento do Câncer Infantil. Identificamos 13 casos de pacientes já transfundidos que apresentaram HS. Para cada caso foram selecionados quatro controles. Os grupos foram comparados em termos sociodemográficos, epidemiológicos, laboratoriais e clínicos. As análises foram realizadas no programa R versão 4.0.5 e foi considerado significativo $p < 0,05$. Resultados: Os pacientes que tiveram HS apresentaram maior proporção de anticorpos irregulares ($p = 0,001$). A ocorrência de HS não se associou às características sociodemográficas e epidemiológicas avaliadas, e nem ao genótipo DF. Os resultados laboratoriais não diferiram entre aqueles que apresentaram ou não o desfecho. Conclusão: Os pacientes com DF que desenvolveram HS na Coorte

do REDS III apresentaram os anticorpos antieritrocitários como marcadores primordiais para a ocorrência de HS. O número de bolsas transfundidas ao longo da vida e as transfusões por evento agudo, (internação por crise de dor) podem ser um indicativo de maior risco para a ocorrência de HS. Esses dados são importantes para definir um grupo de pacientes mais suscetível a HS, que poderiam ser elegíveis para o uso profilático de rituximabe. É necessário delinear novos estudos, com maior número de amostras, capazes de esclarecer o diagnóstico, fisiopatologia e definir o melhor tratamento para essa complicação.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Hiperhemólise. Reação transfusional. Reação hemolítica. Transfusão. Aloimunização.

ABSTRACT

Andrade BVM. Factors associated with the occurrence of hyperhemolysis in patients with sickle cell disease [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Introduction: Blood transfusion is a therapeutic resource of great importance for patients with sickle cell disease (SCD). Among the complications associated with blood transfusions, alloimmunization to erythrocyte antigens is frequent, being associated with the occurrence of post-transfusion hemolytic reactions (PTHR). Patients with SCD are susceptible to the occurrence of PTHR of very heterogeneous severity. In extreme cases, there is a reduction in hemoglobin levels in relation to pre-transfusion levels, denoting the occurrence of destruction of the patient's own erythrocytes, in addition to the transfused ones, through a route that is not fully understood. This condition is called Hyperhemolysis Syndrome (HS). Predicting the occurrence of HS allows for prophylaxis with pre-transfusion administration of the anti-CD20 drug (rituximab). There are few studies in the literature that have explored clinical risk factors for the occurrence of HS. Objectives: To determine which are the clinical factors associated with the occurrence of HS in patients with SCD. Methods: This is a case-control study based on the patients enrolled in the cohort of the Multicentric Longitudinal Study of Sickle Cell Disease - REDS-III, from 2013 to 2018, in four Brazilian centers: Hemominas, Hemope, Hemorio and ITACI - Instituto de Tratamento do Câncer Infantil. We identified 13 cases of patients already transfused who had HS. For each case, four controls were selected. The groups were compared in sociodemographic, epidemiological, laboratory and clinical terms. The analyzes were performed using the R program version 4.0.5 and $p < 0.05$ was considered significant. Results: Patients who had HS had a higher proportion of irregular antibodies ($p = 0.001$). The occurrence of HS was not associated with the sociodemographic and epidemiological characteristics evaluated, nor with the SCD genotype. Laboratory results did not differ between those who had or did not have the outcome. Conclusion: Patients with SCD who developed HS in the REDS III Cohort had anti-erythrocyte antibodies as primary markers for the

occurrence of HS. The number of bags transfused throughout life and the number of transfusions per acute event (hospitalization due to a pain crisis) may be indicative of a higher risk for the occurrence of HS. These data are important to define a group of patients more susceptible to HS, who could be eligible for the prophylactic use of rituximab. It is necessary to design new studies, with a larger number of samples, capable of clarifying the diagnosis, pathophysiology and defining the best treatment for this complication.

Keywords: Sickle cell anemia. Hyperhemolysis. Transfusion reaction. Hemolytic reaction. Transfusion. Alloimmunization.

1. INTRODUÇÃO

O termo doença falciforme (DF) engloba um conjunto de hemoglobinopatias de elevada importância clínica e epidemiológica ¹. No Brasil, segundo o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), do Ministério da Saúde, nascem 3.500 crianças por ano com DF e 200.000 com traço falciforme. Estima-se que 7.200.000 sejam portadoras do traço falcêmico e entre 25.000 a 30.000 possuam DF ^{2,3,4}. As complicações clínicas na DF incluem anemia hemolítica crônica de intensidade moderada ou grave, episódios dolorosos e intermitentes de vaso-oclusão, risco permanente de infecções, síndrome torácica aguda (STA), acidente vascular cerebral (AVC), priapismo, retinopatia e danos cumulativos em múltiplos órgãos ⁵. O quadro clínico da doença pode impactar de forma significativa à vida dos doentes e suas famílias.

Diante da gravidade das complicações clínicas de determinados pacientes, a transfusão de sangue é um recurso terapêutico de grande importância. A transfusão é um evento que acarreta tanto benefícios quanto problemas ao receptor, que incluem o risco de infecções por agentes virais e bacterianos, sobrecarga de ferro e reações transfusionais ^{6,7,8}.

Define-se por reação transfusional qualquer intercorrência ocasionada pela transfusão de hemocomponentes, durante ou após sua administração ⁹. Em virtude dos riscos inerentes à transfusão, discussões sobre hemovigilância se iniciaram no Brasil nos anos 2000. Esse processo abrange todo o ciclo do sangue e é capaz de obter e disponibilizar dados a respeito de eventos adversos que podem ter ocorrido em etapas diferentes, com o objetivo de prevenir as intercorrências e aumentar a segurança do doador e do receptor. Mesmo em países com expertise em hemovigilância, como a França, onde os eventos transfusionais são de notificação compulsória, e na Inglaterra, onde ocorre a coleta dos dados de maneira espontânea, uma taxa residual de ocorrências é observada, independente da qualidade e do controle do sistema de hemoterapia¹⁰.

No Brasil, as notificações de reação transfusional foram realizadas de maneira espontânea até 2010, quando passaram a ser compulsórias, pela publicação da RDC 57/2010⁽⁶⁾. Contudo, mesmo com os esforços da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), observamos um cenário de subnotificação de eventos transfusionais. Esse fato dificulta o conhecimento da real frequência em que eles ocorrem, além das reais condições a eles associadas¹¹.

As reações transfusionais podem ser classificadas como imunes ou não imunes, e podem ser imediatas ou tardias. Nos casos imediatos, a reação ocorre durante ou até 24 horas após o início da terapia. Nos casos tardios, as intercorrências aparecem após 24 horas do início da transfusão ^{12,13}.

A aloimunização eritrocitária é uma resposta imunológica contra antígenos eritrocitários não-próprios, ocorrendo geralmente devido a transfusões de sangue e gestações. Além disso, é uma complicação transfusional tardia que afeta 2-5% da população geral e 30-40% dos pacientes com DF ¹⁴. Esse processo acomete frequentemente pacientes falciformes em regime de transfusão crônica, situação em que o risco de aloimunização é de aproximadamente 1% por unidade transfundida ¹⁵. A etiologia da aloimunização em pacientes falciformes é provavelmente multifatorial. O estado crônico de inflamação destes pacientes certamente contribui para o alto risco de aloimunização, embora o mecanismo específico não tenha sido elucidado. Esse processo gera grande impacto nos pacientes afetados, uma vez que limita a disponibilidade de concentrados de hemácias (CH) compatíveis para futuras transfusões, além proporcionar um maior risco para ocorrência de reações hemolíticas pós-transfusionais (RHPT)¹⁴.

Estudos antigos reportam uma alta incidência de RHPT, entre 11-16%, quando os pacientes eram compatibilizados apenas por ABO e RhD. Atualmente, com a introdução da fenotipagem estendida nos bancos de sangue (sistemas Rh, Kell, Kidd, Duffy, ags S e s), são reportadas taxas muito mais baixas, entre 4-7% ¹⁶.

As RHPTs são complicações imunomediadas que contribuem para a morte prematura dos pacientes. Elas podem ocorrer até 3 semanas após uma transfusão de hemácias e possuem um diagnóstico desafiador, uma vez que

seus sintomas mimetizam um crise vaso-oclusiva (CVO), complicação comum em pacientes com DF. Dentre as RHPTs, a Síndrome de Hiper-hemólise (HS) se destaca por ser uma complicação com risco de morte onde, paradoxalmente, observamos níveis de hemoglobina (Hb) mais baixos após a transfusão de sangue. O mecanismo para sua ocorrência não está claramente definido ¹⁷.

A presença de aloanticorpos em pacientes com DF é favorecida por diferenças nos polimorfismos de grupo sanguíneo entre receptores de ascendência africana e doadores caucasianos. Portanto, conseguir a inibição de respostas imunes primárias ou secundárias aos antígenos do grupo sanguíneo nesses pacientes representa um importante objetivo terapêutico. A terapia de depleção de células B com rituximabe é comumente usada para tratar várias doenças mediadas por autoanticorpos, incluindo anemias hemolíticas autoimunes. Assim, o rituximabe pode ser útil para limitar a aloimunização em pacientes com DF e, dessa forma, atuar na prevenção de RHPTs graves ¹⁸.

É importante ressaltar que pacientes com muito alto risco para RHPTs graves podem receber a droga rituximab no pré-transfusional, a fim de minimizar os riscos de ocorrência de HS. Somente com a determinação dos fatores de risco para esta complicação é que a profilaxia poderá ser precisamente indicada.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral

Determinar os fatores clínicos e laboratoriais associados à ocorrência de HS na coorte de pacientes com DF do REDS III

Objetivos Específicos

- Determinar a prevalência de HS na população de pacientes com DF do REDSIII
- Avaliar a frequência de HS nos pacientes com DF por transfusão episódica e por programa transfusional crônico;
- Determinar o perfil imuno-hematológico dos pacientes com DF que apresentaram HS.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Doença Falciforme

A DF foi detalhada pela primeira vez por Jamaes Herrick em 1910, que utilizou o esfregaço sanguíneo de um aluno da América Central para registrar seus estudos. Em 1948, Linus Pauling descobriu a diferença entre as moléculas de hemoglobina A (HbA) e hemoglobina S (HbS), que ele relatou em seu famoso artigo: “Anemia falciforme, uma doença molecular”¹⁹. No artigo, Pauling apresentou dois resultados importantes. Primeiro, a HbS é mais carregada positivamente do que a HbA e, segundo, uma mistura dessas duas Hb tem um padrão eletroforético muito semelhante à Hb dos pais de pacientes com anemia falciforme (AF). A partir desses dois fatos experimentais, Pauling concluiu que a AF era, de fato, uma “doença molecular” e que a doença não era autossômica dominante, como havia sido sugerido anteriormente, mas seguia um padrão de herança da genética mendeliana ²⁰. Em 1958, Vernon Ingram demonstrou que a doença era decorrente da substituição de um ácido glutâmico por valina na posição 6 da cadeia beta da Hb. Essa substituição de aminoácidos é resultado de uma mutação de ponto único do gene da Hb, que acarreta em mudanças profundas no comportamento e conformação da molécula, originando, dessa forma, a produção de uma Hb anormal, denominada HbS ^{21,22}.

As DF são constituídas por vários genótipos com predomínio de HbS sobre outras Hb, com manifestações clínicas específicas e de intensidades variáveis. Os genótipos mais comuns que caracterizam as DF são: HbSS, que representa a AF, HbS/Talassemia (alfa/beta), HbS/HbC, HbS/HbD, HbS/Persistência Hereditária da Hb Fetal ². O indivíduo heterozigoto para a HbS (AS) é denominado traço falcêmico e geralmente é assintomático, com aproximadamente 20 a 45% de HbS. Já os portadores de AF possuem hemácias contendo 80% ou mais de HbS, fato que se relaciona à importância clínica dessa doença ².

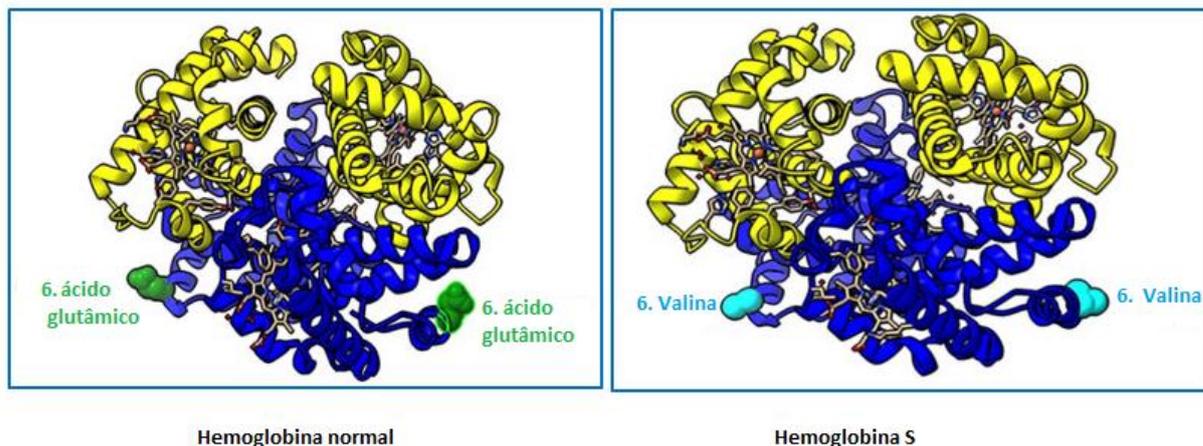


Figura 1: Hemoglobina normal (HbA) versus hemoglobina mutante (HbS). A HbA possui ácido glutâmico, que é carregado negativamente, polar e hidrofílico, enquanto a HbS possui valina, que é apolar e hidrofóbica por natureza. Fonte: Adaptado de Brenner e Sperctrin, 1979 ²³.

Uma das doenças hereditárias mais comuns em todo o mundo, a DF é agora entendida como uma doença de importância global e possui notável significância clínica e econômica. Vários estudos de coorte em países de alta e média renda demonstraram que o curso da DF mudou substancialmente desde a década de 1970 tanto em crianças como em adultos. Sobrevida semelhante à de crianças saudáveis foi relatada em crianças com AF nos Estados Unidos e no Reino Unido. Em relação aos adultos com DF, em países de alta renda a expectativa de vida chega aos 67 anos, dado obtido em um hospital de Londres. Ao avaliar a sobrevida de indivíduos com DF na África Subsaariana e Índia, o cenário é oposto. Estudos africanos indicam uma taxa de mortalidade infantil entre 50 a 90% ^{24,25}.

A distribuição geográfica da DF é impulsionada principalmente por dois fatores: a endemicidade da malária e os movimentos populacionais. Há evidências claras de que a HbS fornece uma proteção notável contra a malária grave por *P. falciparum*. Na verdade, indivíduos com HbS são 90% menos propensos a apresentar malária grave do que indivíduos com apenas Hb normal. Tal fato explica as altas frequências dessa mutação em toda a África Subsaariana e partes do Mediterrâneo, Oriente Médio e Índia ²⁵.

Movimentos populacionais, incluindo o comércio de escravos, levaram a uma distribuição muito mais ampla, particularmente na América do Norte e Europa Ocidental ²⁴.

As estimativas sugerem consistentemente que aproximadamente 300.000 bebês nascem por ano com AF. A grande maioria desses nascimentos ocorrem em três países: Nigéria, República Democrática do Congo, e Índia ²⁴.

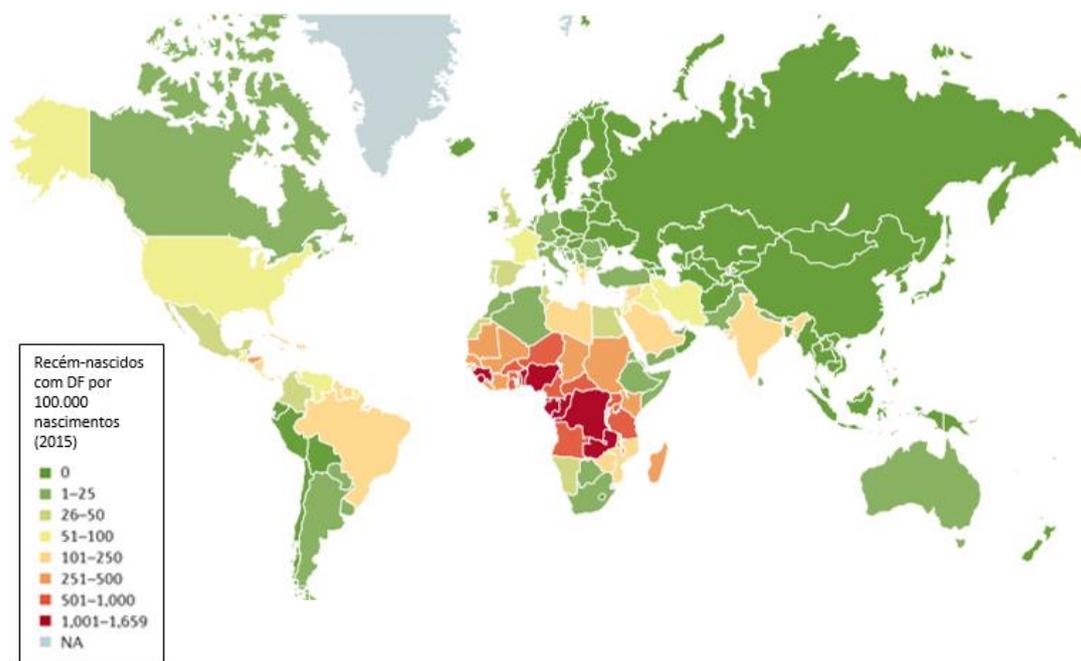


Figura 2: Número estimado de recém-nascidos com DF por 100.000 nascimentos em cada país no ano de 2015. Fonte: Kato, et al. 2018 ⁴.

No Brasil a distribuição da doença varia substancialmente entre os estados, refletindo a heterogeneidade étnica da população brasileira. As regiões Norte e Nordeste apresentam maior frequência de indivíduos com DF ^{26,27}. A Bahia apresenta a maior incidência de nascidos vivos diagnosticados com DF, sendo um a cada 650 nascimentos, e em relação ao traço falciforme ^{17,28,29,30}.

Em junho de 2001, por meio da Portaria do Ministério da Saúde nº 822, houve a ampliação das doenças triadas pelo PNTN, incluindo a detecção de DF e outras hemoglobinopatias ³¹. O “teste do pezinho” é oferecido de forma gratuita nos

centros de saúde públicos, e deve ser realizado preferencialmente durante a primeira semana de vida, sendo os exames de eletroforese em HPLC ou de focalização isoelétrica os métodos utilizados para detecção da DF. Nos bebês a partir do quarto mês de vida, o método mais usual de eletroforese de hemoglobina é utilizado para o diagnóstico da DF. Os indivíduos com traço falciforme necessitam, eventualmente, de aconselhamento genético. Já as pessoas com diagnóstico de DF precisam de assistência, oferecida por equipe multidisciplinar, sendo de extrema importância o tratamento e acompanhamento clínico. Dessa forma, os hemocentros e os hospitais com serviços especializados em hematologia fazem parte da rede de assistência e de referência nos Estados para os portadores de DF com evoluções graves e complicações decorrentes da doença ³².

3.1.1 Fisiopatologia

A DF se caracteriza por ser uma doença de perfil inflamatório crônico, onde a gênese de grande parte das manifestações fisiopatológicas está relacionada a hemólise e vaso-oclusão ³². Durante a desoxigenação que segue a passagem das hemácias na microcirculação, a molécula de HbS sofre uma mudança conformacional. Um polímero se forma e se alonga em fibras helicoidais que, agrupadas, enrijecem e induzem a mudança característica da hemácia em forma de foice. Essa deformação causa o efluxo de potássio, aumento do cálcio intracelular e da membrana, bem como a exposição de moléculas da membrana celular como fosfatidil-serina (PS) e CD36. Os eritrócitos circulantes expostos à PS têm um papel em muitos eventos fisiopatológicos importantes, incluindo o aumento da hemólise. De fato, essas células incitam uma cascata inflamatória

através da ativação endotelial, interação entre eritrócitos, glóbulos brancos e plaquetas, além de promover a ativação das vias de coagulação ³³.

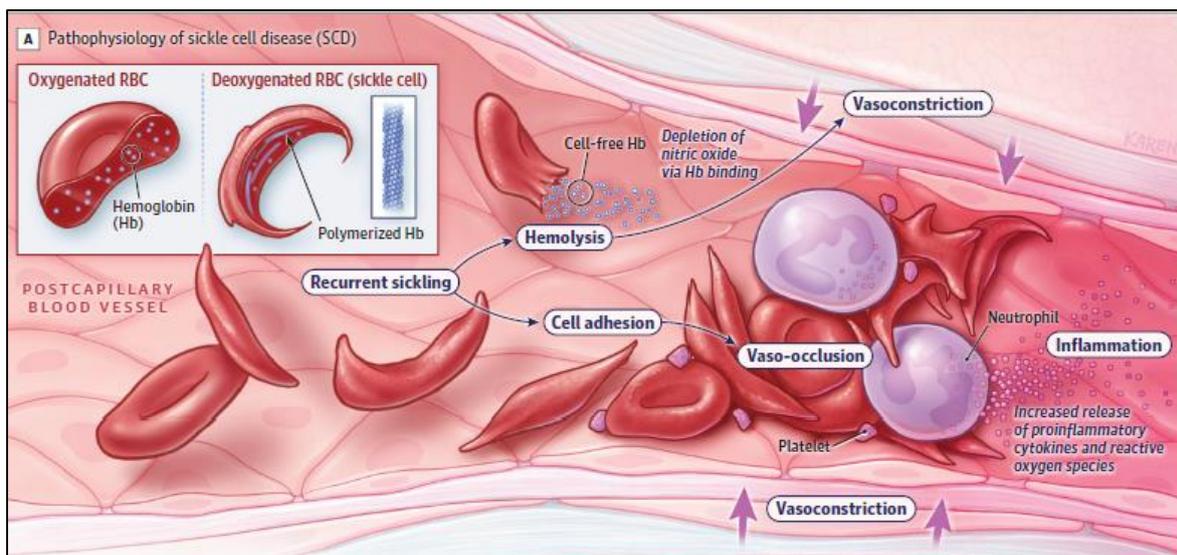


Figura 3: Fisiopatologia da DF. A HbS polimeriza quando desoxigenada, induzindo a falcização dos eritrócitos e hemólise. As hemácias falciformes interagem com os glóbulos brancos e plaquetas no endotélio vascular através de moléculas de adesão que levam a vaso-oclusão. A Hb e o heme livres liberados da hemólise eritrocitária desencadeiam disfunção endotelial devido à depleção de óxido nítrico, e ocorre a vasoconstrição. Os processos duplos de vaso-oclusão e disfunção endotelial ativam respostas inflamatórias, via aumento de citocinas e espécies reativas de oxigênio, o que perpetua o processo de vaso-oclusão. Fonte: Kavanagh, Fasipe, Wun.2022 ³⁴.

Os eventos agudos da doença podem levar o paciente a disfunções severas e ocasionar a mortalidade precoce. Já os mecanismos envolvidos nas complicações crônicas não estão totalmente elucidados. Habitualmente, as disfunções crônicas, como por exemplo as lesões renais, estão instaladas em torno da terceira década de vida do paciente e promovem impacto importante na morbidade. No que tange à causa de morte, os acometimentos pulmonares e cardíacos foram responsáveis por 45% dos óbitos em estudos longitudinais de pacientes com DF ^{35,36}.

Mesmo que a DF seja um distúrbio monogênico, no nível fenotípico é mais provável que seja uma doença multigênica. Existem muitos fatores que podem influenciar o resultado das apresentações clínicas, tais como fatores ambientais, psicológicos, culturais e socioeconômicos. No entanto, os mecanismos

epigenéticos parecem desempenhar um papel primordial na determinação de diferentes fenótipos de DF ³⁷.

3.1.2 Complicações frequentes da DF

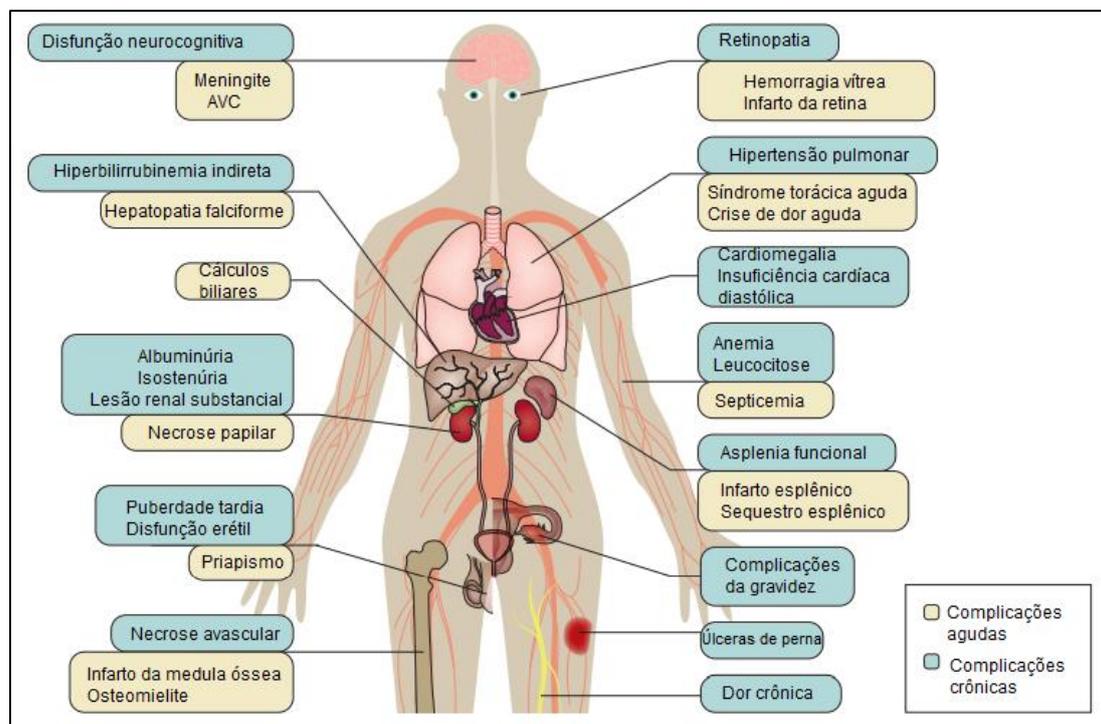


Figura 4: Complicações clínicas da DF. Fonte: Adaptado de Kato, *et al*, 2018 ²⁴.

1. Crises vaso-oclusivas (CVO)

A CVO é a manifestação que mais acomete os doentes falciformes, sendo responsável por 90% das internações hospitalares e pelo impacto negativo geral na qualidade de vida relacionada à saúde desses pacientes. O quadro de dor é referente ao processo de falcização das hemácias, que tem como consequência a isquemia tecidual. O surgimento da CVO é imprevisível, no entanto, evidências epidemiológicas indicam que o quadro é frequentemente iniciado por um estímulo inflamatório ou ambiental, incluindo infecção, hipóxia, desidratação, acidose, exposição ao frio e uso de álcool ou diuréticos.³⁸ Os sítios mais comumente afetados são a região lombar (48,6%), fêmur (29,5%) e joelhos (20,8%).³⁹ Também é descrita a presença de edema, calor, hiperemia e restrição

de movimento. Os episódios de CVO podem se transformar em dor crônica. Algumas crises têm resolução espontânea e quando necessitam de tratamento, são utilizadas como recurso a hidratação e analgesia, sendo muitas vezes necessária a terapia transfusional ⁴⁰.

2. Síndrome torácica aguda (STA)

A STA é definida como um novo infiltrado alveolar à radiografia de tórax, associado a um ou mais sintomas como febre, sibilância, tosse, taquidispnéia, dor torácica e hipoxemia. Esse evento é a segunda maior causa de hospitalização dos pacientes com DF, sendo responsável pela maior parte de internação em centro de terapia intensiva e mortalidade precoce nesses pacientes. Sua fisiopatologia é bastante complexa, embora seja esclarecido que envolva infecção, embolia gordurosa (por necrose óssea), trombose pulmonar in situ e vaso-occlusão. Ao contrário da pneumonia, a STA é resultado da patologia intrínseca da DF. Mesmo nos casos em que um gatilho microbiano é identificado, o infarto é o produto da interação entre o agente infeccioso e a vulnerabilidade do hospedeiro relacionada à DF. Um estímulo patogênico inicial leva a uma resposta hiperinflamatória nos pulmões, com liberação de citocinas, engajamento e recrutamento maciço de neutrófilos e inflamação alveolar, vazamento capilar e interrupção da troca de oxigênio ⁴¹. Muitas linhas de pesquisa evidenciaram trombos plaquetários e aumento do fator de von Willebrand endotelial na microvasculatura pulmonar de pacientes que tiveram a STA como causa de óbito ³⁹.

3. Acidente Vascular Cerebral (AVC)

O AVC é uma das complicações clínicas mais temidas pelos pacientes com DF devido a sua alta morbimortalidade, sobretudo aqueles com o genótipo HbSS, que são mais susceptíveis a ocorrência desse evento ³⁸. O AVC isquêmico ocorre em aproximadamente 11% dos indivíduos com DF até os 20 anos de idade, sendo que o risco é mais elevado na primeira década de vida. A incidência do AVC hemorrágico é menor nas crianças com DF, embora seja responsável por aproximadamente 3% dos casos nesta faixa etária. Os eventos hemorrágicos são predominantes na terceira década de vida ⁴².

A maioria dos casos parece estar associada à vasculopatia cerebral da DF, embora essa relação não esteja bem estabelecida. O processo envolve alterações na hemodinâmica vascular, estresse oxidativo associado à hemólise além da ativação hemostática e adesão celular. A vasculopatia cerebral pode afetar tanto a dinâmica neurológica do paciente quanto a sua função cognitiva⁴³.

O rastreamento de risco de AVC é feito através do exame de doppler transcraniano (DTC). Esse método mede a velocidade do fluxo sanguíneo cerebral nos segmentos arteriais insonados, determinando a velocidade média máxima dos vasos. Sabe-se que o aumento da velocidade de fluxo cerebral nas artérias cerebrais carótida interna e artéria cerebral média, detectada pelo doppler, prediz risco aumentado de AVC em crianças com DF. Nos casos de pacientes com alto risco de AVC, a transfusão de sangue regular é um recurso utilizado na prevenção ³⁸.

4. Necrose avascular (NA)

A NA é uma complicação esquelética comum da DF, que presumivelmente surge quando as células falciformes prejudicam repetidamente o fluxo sanguíneo para a superfície das articulações, causando infarto ósseo nas placas epifisárias e artrite degenerativa de início precoce. Embora múltiplas articulações possam ser afetadas simultaneamente pela NA, a cabeça femoral é mais comumente envolvida, já que não possui fluxo sanguíneo colateral e é mais vulnerável a danos vasculares. A prevalência de NA da cabeça femoral varia de 10% a 30% em pacientes com DF⁴⁴.

O NHLBI (*National Heart, Lung, and Blood Institute*) recomenda o manejo sintomático do quadro de NA com analgésicos, fisioterapia e encaminhamento precoce para cirurgia de artroplastia. Essas recomendações são genéricas devido à escassez de terapias definitivas para esse quadro. Com os avanços médicos no manejo da DF, houve um aumento da sobrevivência até a idade adulta e desse modo, a NA teve maior impacto na vida desses doentes. De fato, a qualidade de vida é amplamente afetada pela perda de mobilidade crônica e consequente isolamento social, além do uso demasiado de opióides a longo prazo ⁴⁵.

5. Priapismo

O mecanismo do priapismo na DF está relacionado à estagnação do sangue no interior dos sinusóides dos corpos cavernosos do pênis durante a ereção fisiológica, além da obstrução do fluxo sanguíneo provocada pelas hemácias falciformes. Segue-se uma reação inflamatória que resulta em fibrose das trabéculas esponjosas, levando à impotência subsequente ⁴⁶.

Nelson e Winter evidenciaram em uma série de casos em que a DF era o principal fator etiológico no priapismo isquêmico em 63% dos casos pediátricos e 23% dos casos adultos ⁴⁷. No estudo observacional multicêntrico de DF, realizado por Adeyoju *et al*, a idade média de início dos episódios de priapismo foi de 11 anos de idade ⁴⁶.

A multiplicidade de tratamentos descritos disponíveis para o priapismo inclui hidratação, analgesia, anestesia, tranquilizantes leves, estrogênios, transfusão de sangue, sedação, vasodilatadores, anticoagulantes, além de procedimentos cirúrgicos de vários níveis de complexidade. Essa variedade de abordagem reflete uma clara falta de consenso sobre o melhor tratamento e, por sua vez, evidencia a escassez de publicações e evidências consistentes sobre a eficácia da intervenção ⁴⁸.

3.1.3 Tratamento

O tratamento para DF não possui um manejo específico, sendo mais comumente utilizada a abordagem profilática. Ferramentas como imunização, penicilino-terapia e uso contínuo de ácido fólico são importantes para manter a saúde do paciente com DF. As medicações mais recomendadas são anti-inflamatório não hormonal e medicamentos para dor, principalmente opiáceos ⁵⁰.

As transfusões de sangue se tratam de um recurso terapêutico amplamente usado em intercorrências agudas, por exemplo nos casos de STA, bem como parte de um programa transfusional regular a longo prazo, com o objetivo de

prevenir a progressão de algumas complicações graves, como risco ou recorrência de AVC. Independentemente da estratégia, o objetivo geral da transfusão de sangue é promover a queda de HbS, e dessa forma, aumentar a perfusão vascular ⁵¹.

Outro importante recurso terapêutico para DF é a Hidroxiuréia (HU). Além de ser o primeiro medicamento comprovadamente capaz de prevenir complicações clínicas, de forma geral, a HU promove uma melhoria considerável na qualidade de vida dos pacientes com DF, reduzindo os casos de hospitalização e tempo de internação, e minimizando a necessidade de transfusão de hemácias. O uso de HU é capaz de reduzir a mortalidade dos pacientes com DF em até 40%. A HU age diretamente na fisiopatologia da DF, e além de aumentar a produção de HbF, fato que minimiza a polimerização das HbS, a HU também atua na diminuição do número de neutrófilos, hidratação eritrocitária, redução da expressão de algumas moléculas de adesão dos eritrócitos, aumento da síntese e biodisponibilidade de óxido nítrico ²⁸.

No Brasil a portaria de número 872 do Ministério da Saúde, de 6 de novembro de 2002, aprovou o uso de HU para pacientes com DF, sendo as Secretarias de Saúde dos Estados da União e Distrito Federal responsáveis por distribuir o medicamento para os pacientes indicados ²⁸.

Em contraposição, a HU possui algumas reações adversas, principalmente queda acentuada da contagem de neutrófilos e plaquetas, além de fortes dores de cabeça, náuseas e, a longo prazo, pode funcionar como um agente genotóxico, capaz de causar alterações celulares de caráter maligno. Essas limitações de adesão ao tratamento ou a variabilidade genética (farmacogenômica), são fatores que interferem na resposta terapêutica individual ²⁸.

Por quase 20 anos, a HU foi a única terapia aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA para adultos e crianças com DF. Em 2017, três novos medicamentos — Crizanlizumabe, L-glutamina, Voxelotor — foram aprovados ²⁸.

Um suplemento oral de aminoácidos, a L-glutamina tem propriedades que diminuem as espécies reativas de oxigênio nas hemácias, reduzindo assim falcização e adesão das mesmas ⁴⁹. Em um estudo de 230 pacientes com 5 anos de idade ou mais, em comparação com o placebo, a L-glutamina reduziu crises de dor aguda em 25%, hospitalização em 33% e duração média de internação de 11 para 7 dias ⁵².

O Crizanlizumabe é um anticorpo monoclonal dirigido contra P-selectina, uma molécula de adesão encontrada em plaquetas ativadas e células endoteliais que podem mediar parcialmente a vaso-oclusão. A aprovação do seu uso no tratamento de DF foi baseada em um estudo de fase 2 com 198 pacientes com idades entre 16 e 65 anos com DF, que foram randomizados para receber infusão mensal com altas doses de Crizanlizumabe, baixas doses de Crizanlizumabe ou placebo. Em comparação com placebo, o esse medicamento em alta dose reduziu as crises de dor de 2,98 para 1,63 por ano e em baixa dose, reduziu as crises de dor para 2,01 por ano ⁵³.

O Voxelotor é um medicamento que atua estabilizando o estado oxigenado da Hb, diminuindo assim a polimerização e hemólise. Em um estudo de 198 pacientes de 12 a 65 anos com anemia grave ou sintomática, o voxelotor promoveu o aumento da Hb em pelo menos 1,0 g/dL (51%) vs 7% entre os pacientes randomizados para receber. Os efeitos do Voxelotor em desfechos clínicos como crises de dor ou qualidade de vida são ainda desconhecidos. Dessa forma, o medicamento é apropriado para uso em pacientes com baixo nível de Hb (os pacientes do estudo tinham Hb entre 5,5 e mais de 1 crise de dor por ano apesar do tratamento com HU ou para pacientes incapazes de tomar HU⁵⁴.

O transplante de células-tronco hematopoiéticas é atualmente a única intervenção curativa estabelecida para DF que pode restaurar a hematopoiese normal ⁵⁵. Existem estudos que evidenciam a terapia gênica como uma abordagem promissora. No entanto, essas terapias podem não estar disponíveis ou acessíveis para todos os que vivem com DF, especialmente na região subsaariana África e Índia, onde a DF é mais prevalente ²⁷.

3.2 Aloimunização eritrocitária

A aloimunização eritrocitária é uma resposta imunológica contra antígenos eritrocitários não-próprios, ocorrendo geralmente devido a transfusões de sangue e gestações. Trata-se de uma complicação transfusional tardia que afeta 2-5% da população geral e 30-40% dos pacientes com DF ⁵⁶. Esse processo acomete frequentemente pacientes falciformes em regime de transfusão crônica, situação em que o risco de aloimunização é de aproximadamente 1% por unidade transfundida ¹⁰. A fenotipagem eritrocitária de doadores e a transfusão fenótipo-idêntica para receptores falciformes, introduzida na rotina dos bancos de sangue, tem contribuído para reduzir o índice de aloimunização e aumentar a segurança transfusional. Entretanto, trata-se de profilaxia cara, que deve ser reservada apenas para a parcela de pacientes com capacidade de formar aloanticorpos após a transfusão (“respondedores imunes”) ⁵⁶.

Ainda que a exposição aos antígenos eritrocitários não-próprios seja necessária para que a aloimunização ocorra, isoladamente isto não é suficiente. Um modelo estocástico sugeriu que apenas uma parte dos pacientes transfundidos é capaz de desenvolver aloanticorpos após receber transfusão com incompatibilidade antigênica, conferindo a estes um status de “respondedor imune”. Identificar os potenciais gatilhos da aloimunização eritrocitária e as assinaturas de “respondedores” e “não respondedores” é necessário para aperfeiçoar estratégias de prevenção, evitando atrasos nas transfusões, RHPTs e doença hemolítica do feto/recém-nascido. Além disso, a identificação deste status tornaria a profilaxia com transfusão de unidades fenótipo-idênticas mais custo-efetivo do que a utilizada atualmente, que consiste em fenotipar todos os hemocomponentes direcionados a pacientes com DF, embora 50-70% destes nunca fossem desenvolver aloanticorpos ⁵⁷.

Vários estudos estão sendo elaborados para tentar identificar as variáveis capazes de determinar quais pacientes são mais susceptíveis a formar aloanticorpos eritrocitários. Fatores relacionados ao doador (etnia e inflamação), ao receptor (idade, etnia, exposição antigênica prévia, reconhecimento antigênico, status imune e de inflamação) e aos antígenos (imunogenicidade e densidade) devem ser levados em consideração. Todavia, a identificação dos

pacientes aloimunizados por características clínicas tem se mostrado falha, sendo o diagnóstico de DF o único marcador confiável aceito até o momento.⁵⁸ Sendo assim, muitos pesquisadores iniciaram estudos tendo como alvo as moléculas envolvidas na apresentação de antígenos. Os estudos iniciais tentaram associar restrições de antígeno leucocitário humano (HLA) com a formação de anticorpos específicos. Contudo, apesar de comprovada associação, a aplicabilidade clínica é baixa em decorrência de envolver tipagem do HLA em alta resolução para todos os receptores sanguíneos, que é uma técnica cara e demorada³.

Evidências atuais apontam um papel importante do status inflamatório e imune do receptor na formação de aloanticorpos. Sinais de estimulação e inibição são liberados por uma rede complexa de células imunes e do microambiente, regulando a formação ou não de anticorpos após a apresentação antigênica. Clinicamente, isto é evidenciado por taxas mais elevadas de aloimunização em pacientes com DF durante episódios vaso-oclusivos e de STA. Ademais, estudos em humanos mostram aumento na incidência de aloimunização em pacientes com doenças crônicas autoimunes ou inflamatórias, ao contrário do encontrado em pacientes recebendo medicações imunossupressoras, que apresentam taxas menores. Após estes resultados, pesquisadores vêm transpondo marcadores moleculares de autoimunidade e/ou inflamação para o cenário de transfusão com objetivo de prever o desenvolvimento de aloanticorpos¹⁴.

A etiologia da aloimunização em pacientes falciformes é provavelmente multifatorial. É reconhecido que a DF leva ao aumento crônico de inflamação com níveis elevados de leucócitos, proteína C reativa, fatores de necrose tumoral, interleucinas e outros marcadores inflamatórios. O estado crônico de inflamação destes pacientes certamente contribui para o alto risco de aloimunização, embora o mecanismo específico não tenha sido elucidado. Esse processo gera grande impacto nos pacientes afetados, uma vez que limita a disponibilidade de concentrados de hemácias compatíveis para futuras transfusões, além proporcionar um maior risco para ocorrência de reações transfusionais¹⁴.

3.3 Reações Transfusionais

As reações transfusionais são intercorrências registradas durante todo o processo de administração de hemocomponentes, e podem ser classificadas como imediatas e tardias. As imediatas ocorrem nas primeiras 24 horas após o início da transfusão e incluem reação febril não hemolítica, reação hemolítica aguda, reação alérgica, lesão pulmonar relacionada à transfusão, sobrecarga volêmica, contaminação bacteriana, hipotensão por inibidor de enzima conversora de angiotensina, hemólise não imune, hipocalcemia, embolia aérea e hipotermia ⁵⁹. Em 2015, foram notificadas 10.547 reações transfusionais no Brasil, dentre as quais 99% foram imediatas. As reações tardias, por sua vez, ocorrem após o período de 24 horas a partir do início da transfusão, e podem incluir a aloimunização eritrocitária, hemossiderose, aloimunização de antígenos leucocitários humanos, doenças infecciosas, reação do enxerto contra o hospedeiro, púrpura após transfusão e imunomodulação ^{60,61}.

Em relação à frequência, as transfusões podem ser classificadas nas seguintes categorias: agudas ou episódicas e crônicas. As transfusões episódicas são indicadas no tratamento de condições clínicas agudas e, normalmente, reversíveis, como CVO e STA. Já as transfusões crônicas são utilizadas como forma de prevenção ou para reduzir sequelas de determinadas complicações ¹². A indicação mais comum para esta categoria de transfusão é a prevenção do AVC isquêmico. Conforme elucidado no estudo “*The Stroke Prevention Trial*” - STOP em 1998 ⁶², os resultados mostraram que a transfusão crônica é altamente eficaz na redução do risco de AVC em crianças com DF que apresentam resultado do DTC alterado. Em geral, o objetivo da terapia transfusional é manter a HbS entre 30% e 50%, o que geralmente pode ser atingido transfundindo-se 10ml/kg de CH a cada três ou quatro semanas ⁶³.

3.4 Síndrome de Hiper-Hemólise (HS)

O primeiro relatório de HS em um paciente com DF foi em 1980, e desde então, tem havido vários relatos desse fenômeno predominantemente em pacientes com hemoglobinopatias⁶⁴. A HS é uma RHPT representada por um quadro de hemólise raro e grave, com a taxa de incidência em pacientes com DF estimada

em 1% a 19%⁶⁵. É caracterizada principalmente por uma anemia severa, com níveis de Hb pós-transfusionais inferiores aos níveis pré-transfusionais, decorrente de um quadro de hemólise acelerada, provocada pela destruição tanto das hemácias transfundidas quanto das hemácias autólogas⁶⁶.

A apresentação clínica da HS, na maior parte dos casos, inclui febre, icterícia e dor. Os pacientes geralmente são hemodinamicamente instáveis. Os resultados laboratoriais demonstram concentrações elevadas de bilirrubina e lactato desidrogenase (LDH), com diminuição da contagem absoluta de reticulócitos. O resultado do teste direto de antiglobulina é negativo em muitos casos, e novos aloanticorpos podem, ou não, estar presentes. Existem, portanto, duas formas de classificar a HS, que pode ser diferenciada em formas agudas e tardias com base no tempo desde a transfusão até os sintomas clínicos, e a potencial formação de aloanticorpos. A HS aguda ocorre dentro de 7 dias após a transfusão e não há formação de aloanticorpos, enquanto a forma tardia ocorre após 7 dias e frequentemente é identificada a formação de aloanticorpos⁶⁷.

A fisiopatologia da HS não foi completamente elucidada. Existem inúmeros mecanismos aventados, incluindo “hemólise de espectador”, hiperativação macrofágica, aumento da exposição de hemácias à PS e supressão da eritropoiese. A hemólise do espectador ocorre quando as hemácias autólogas e do doador são hemolisadas, possivelmente em decorrência da ativação do complemento⁶⁸. Os macrófagos ativados provocam uma hemólise exacerbada, o que leva à diminuição dos níveis de Hb característico da HS⁶⁹. A expressão de PS na superfície dos eritrócitos, resulta em maior depuração dessas células da circulação⁶⁵. Devido ao efeito de consumo do HS, é provável que múltiplos mecanismos desempenhem um papel⁷⁰.

O complemento pode induzir a hemólise dos glóbulos vermelhos através de vias dependentes e independentes de anticorpos. A transfusão de hemácias incompatíveis pode resultar no engajamento de anticorpos e ativação subsequente do complemento, o que por sua vez, pode resultar em hemólise e consequências concomitantes. Uma variedade de situações pode resultar em aumentos agudos na liberação de heme, que parece conduzir a ativação da via alternativa do complemento. Hemácias de pacientes com DF parecem ser

particularmente sensíveis à hemólise induzida pelo complemento, mesmo após ativação da via alternativa do complemento mediada por heme ⁷¹.

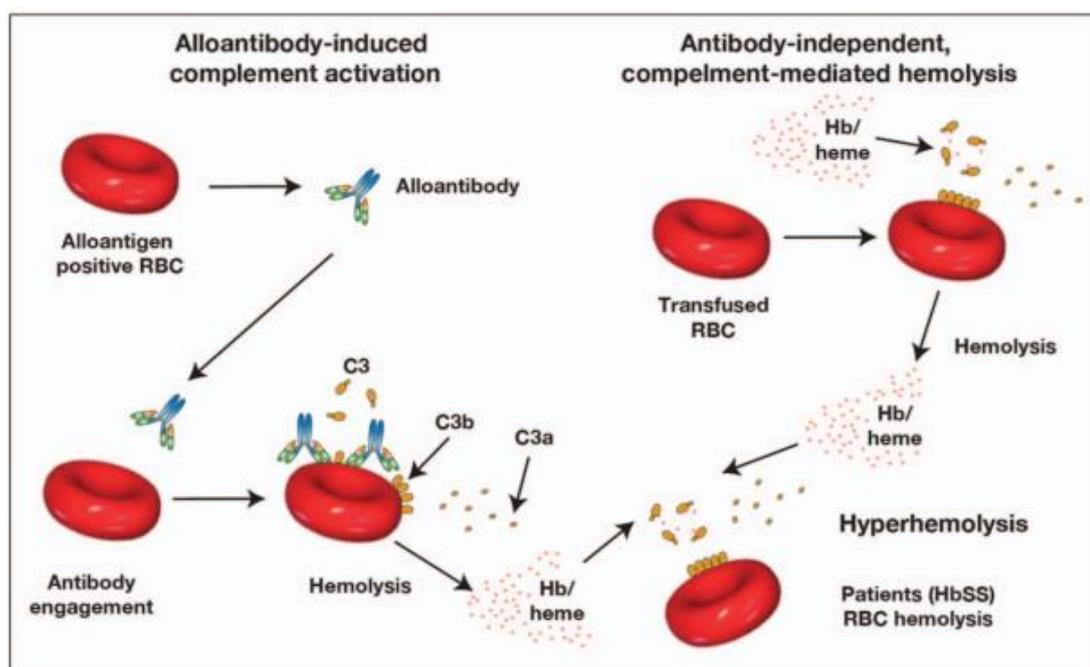


Figura 5: O complemento promove a hemólise dos glóbulos vermelhos através de vias dependentes e independentes de anticorpos. Fonte: Chonat, Mener, Verkerke, Stowell. 2020 ⁷¹.

Os sintomas de HS mimetizam outras complicações frequentes da DF, e a hemólise pode ocorrer mesmo na ausência de aloanticorpos detectáveis. Isso torna o diagnóstico do HS particularmente desafiador. Uma questão importante em relação à dificuldade de diagnóstico é a subnotificação desses casos, que impacta na disponibilidade de dados sobre a incidência e prevalência de HS. Além da subnotificação, o manejo inadequado do quadro piora o prognóstico desses pacientes, e os coloca em sério risco de morte. A transfusão de sangue subsequente não é aconselhável, pois exacerba a hemólise, levando ao agravamento da anemia. No entanto, se houver necessidade vital de transfusão, deve ser feita a compatibilidade antigênica seguindo a diretriz para o manejo de HS, que estipula uma tipagem de antígeno estendida, incluindo C/c, E/e, K, Jka/Jkb, Fya/Fyb, M/N e S/s no mínimo, além de imunossupressão antes das transfusões ⁷².

Alguns pesquisadores observaram o efeito positivo da imunoglobulina intravenosa (IGIV) e esteróides em altas doses no tratamento de casos leves de HS. Acredita-se que o uso de IGIV e esteroides suprima a ativação de macrófagos, o que também ajuda a encurtar a duração da hemólise dos eritrócitos transfundidos e do próprio paciente. Outra droga usada no tratamento da HS é o eculizumabe, que é um inibidor da C5 convertase. Isso se baseia em uma das patogêneses postuladas da HS envolvendo a ativação do complemento levando à destruição das hemácias. Além disso, o eculizumabe ajuda a estabilizar a membrana dos glóbulos vermelhos e, assim, é capaz de limitar a hemólise. Estudos mais recentes sugeriram o uso de tocilizumabe, um anticorpo monoclonal do receptor da interleucina-6, para o tratamento da HS. Este receptor é desencadeado por estímulos inflamatórios em várias doenças. A ligação do anticorpo ao receptor de IL-6 inibe os efeitos pró-inflamatórios da IL-6. Foi relatada uma melhora nos marcadores inflamatórios, o que reforça ainda mais o papel da ativação dos macrófagos na destruição das hemácias na HS ^{64,73}.

Win sugere em seu estudo que a eritropoietina pode corrigir a anemia estimulando diretamente os precursores eritróides, prevenindo a destruição de reticulócitos ⁶⁷.

Uso de Rituximabe na HS

Um importante objetivo terapêutico para pacientes com DF é inibição de respostas imunes primárias ou secundárias a antígenos eritrocitários. A terapia de depleção de células B com rituximabe é comumente usada para tratar várias doenças mediadas por autoanticorpos, incluindo a anemia hemolítica autoimune. Se trata de um anticorpo monoclonal quimérico de camundongo/humano que se liga ao antígeno CD20 transmembrana, e elimina rapidamente as células B circulantes com uma capacidade potencial de prevenir a produção de autoanticorpos. O rituximabe também pode ser envolvido em outros mecanismos, já que os linfócitos B são células apresentadoras de antígeno através de seu receptor de célula B, e pode cooperar com células T durante a aloimunização. Assim, o rituximabe pode ser útil para limitar a aloimunização em pacientes com DF, e, portanto, capaz de prevenir a ocorrência de HS ¹⁸.

Esta droga foi inicialmente aprovada pelo FDA para o tratamento de pacientes com linfoma não Hodgkin de baixo grau ou folicular. Numerosos artigos de revisão cujo principal foco é a ação do rituximabe no tratamento de artrite reumatoide, lúpus eritematoso sistêmico e outras doenças autoimunes foram publicadas em 2006. Embora haja um claro consenso de que benefícios clínicos substanciais estão associados a terapia com rituximabe, os mecanismos exatos de como a droga atua na doença autoimune permanece uma área de discussão ativa ⁷⁴.

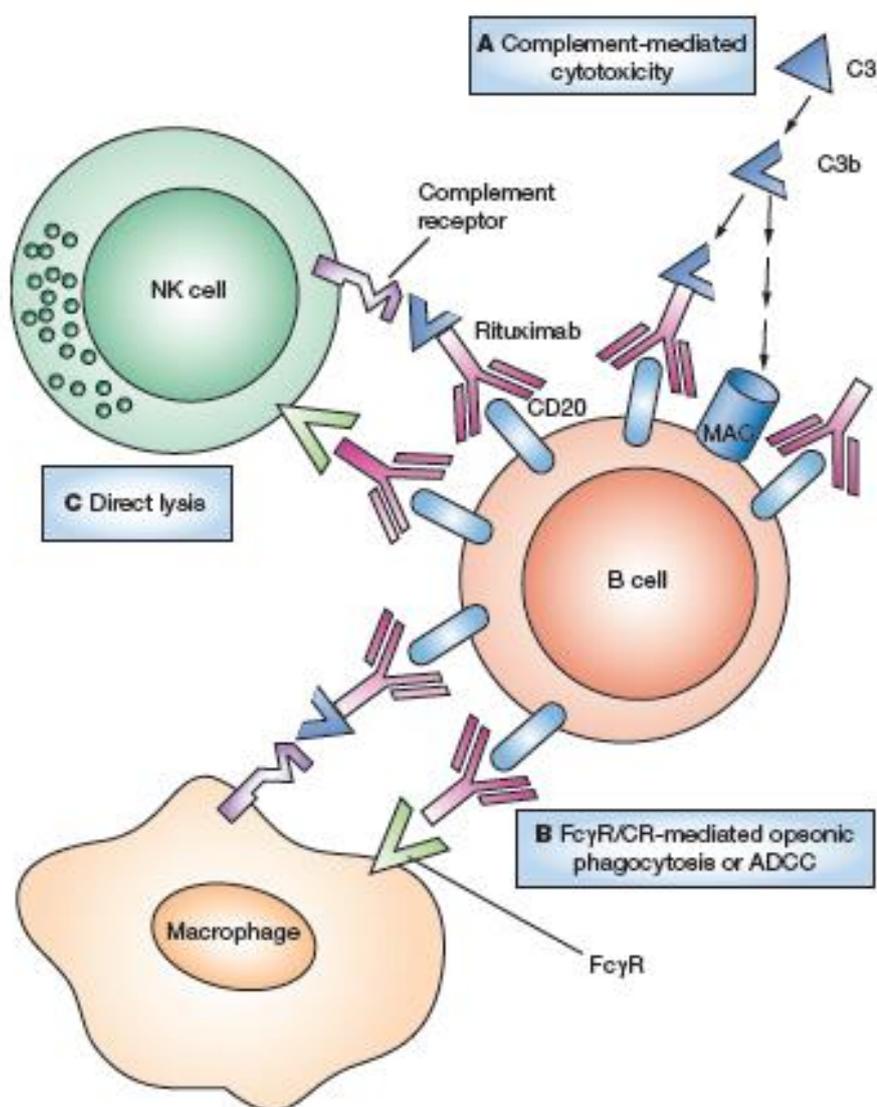


Figura 6: Três vias de destruição de Células B opsonizadas por Rituximabe: (A) A ligação do Rituximabe causa a ativação da cascata do complemento, que pode lisar diretamente as células B por citotoxicidade mediada pelo complemento. (B) A ativação do complemento também deposita fragmentos C3b/iC3b na célula B. A porção Fc do

rituximabe e os fragmentos C3b/iC3b depositados permitem o reconhecimento tanto pelos receptores Fcγ quanto pelos receptores 1 e 3 do complemento nos macrófagos, o que leva à fagocitose e citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos. (C) A ligação do rituximabe permite a interação com as células natural killer via FcγRIII e o receptor 3 do complemento, o que leva à citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos. Fonte: Taylor, Lindorfer. 2007 ⁷⁴.

Poucos casos de uso de rituximabe em contexto de transfusão foram relatados. Noizat-Pirenne *et al* analisaram o desfecho de oito pacientes com DF após transfusão. Esses pacientes já tinham histórico de HS e precisaram de uma nova transfusão. Eles foram tratados com rituximabe a fim de evitar uma nova imunização e HS subsequente. Os resultados sugerem que a droga, pelo menos, previne a ocorrência de anticorpos recém-formados em potenciais respondedores e minimiza o risco de HS grave. Entretanto, a relação risco/benefício da depleção de linfócitos B a longo prazo em pacientes com a asplenia precisa ser amplamente avaliada, principalmente porque as infecções são uma preocupação particular nesta população. Dessa forma, o rituximabe deve ser considerado com cautela, e idealmente utilizado somente quando a transfusão é absolutamente necessária em pacientes com história de HS ligada à imunização ¹⁸. Em um outro trabalho, Noizat-Pirenne *et al* relataram o caso de um paciente com DF que apresentou HS previamente com autoanticorpos e que precisou de uma nova transfusão. Nesse caso, a recorrência de HS foi evitada com sucesso pela administração de rituximabe antes da transfusão, fato que apoia o uso seguro da droga para prevenir HS em pacientes com DF como uma abordagem de segunda linha ⁷⁵.

Aspectos genéticos da HS na DF

Cerca de 5% dos pacientes com DF que recebem transfusões recorrentes desenvolvem HS. Essa observação deu origem a uma hipótese de que existem possíveis fatores genéticos responsáveis pelo aumento da suscetibilidade à HS pelos pacientes com DF ⁶⁸. Embora fatores genéticos estejam sendo estudados, foi observado que indivíduos com tipo sanguíneo não B têm 9,8 vezes mais

chances de desenvolver HS ⁷⁶. Estudos de associação genômica ampla em pacientes falciforme com HS indicaram que um conjunto de genes pode predispor a essa complicação. O fato de apenas um pequeno grupo de pacientes parecer predisposto à HS também corrobora a probabilidade de predisposição genética. Mwesigwa *et al* descobriram que MBL2 (lectina 2 de ligação à manose) foi significativamente enriquecido em casos de HS e que o exon final de KLCR3 (subfamília C do receptor semelhante à lectina das células assassinas, membro 3) tinha uma variante de exclusão de inserção na maioria dos casos pediátricos de HS. Curiosamente, ambos os genes estão envolvidos na produção de proteínas e ligantes necessários na via do complemento, o que ajuda a aguçar a resposta imune. A produção descontrolada desses ligantes proteicos envolvidos nas vias do complemento levando à produção exagerada do MAC (complexo de ataque à membrana) irá prenunciar o aumento da destruição da maioria das células não nucleadas, incluindo as hemácias. Isso pode, de fato, apoiar as observações anteriores de que o HS é uma disposição genética e imunológica encontrada em alguns pacientes ⁷².

4 JUSTIFICATIVA

As hemoglobinopatias hereditárias se apresentam como uma questão relevante envolvendo a saúde pública, principalmente nos países do terceiro mundo. Inúmeros estudos acerca desse tema são desenvolvidos, afim de compreender a história natural da doença e promover melhoria na qualidade de vida desses pacientes ⁷⁷.

No que diz respeito ao tratamento dos pacientes com DF, o uso de CH é uma prática recorrente, sendo que em algum momento da vida, 50% deles recebem transfusões de CH, e de 5 a 10% do total desses pacientes entram no programa de transfusão crônica. No entanto, os pacientes submetidos ao tratamento com CH, estão expostos à ocorrência de HS ⁷⁸.

A HS representa um evento transfusional extremamente raro, que pode ser fatal. Se trata de um quadro ainda obscuro, que requer estudos mais aprofundados para ser melhor compreendido.

O uso de rituximabe tem sido aventado na prevenção de aloimunização, e se utilizado pré-transfusional, é capaz de evitar uma reação grave. Alguns estudos trouxeram bons resultados quanto ao uso de rituximabe na prevenção de ocorrência de HS. Entretanto, somente com um maior conhecimento a respeito dos fatores de risco para HS é que poderemos determinar precisamente quais são os pacientes alvo para a profilaxia com Rituximabe.

Nosso estudo é oriundo da maior da maior coorte de DF do mundo. Dessa forma, temos oportunidade de conhecer melhor o perfil das pessoas com DF que apresentaram HS e identificar os fatores de risco associados à essa complicação.

5 MÉTODOS

Coorte de pacientes com DF- REDS III

O REDS III- *Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study- III* elabora pesquisas direcionadas à segurança do sangue e as consequências transfusionais nos seguintes países: Brasil, EUA, África do Sul e China.

O REDS III desenvolveu uma coorte de DF no Brasil, afim de investigar a epidemiologia da doença e as implicações da terapia de transfusão crônica, já que muitos pacientes são submetidos a esse tratamento, além do uso de HU e manejo atual da doença. Através dessa coorte, inúmeros dados foram adquiridos, e houve aporte para a criação de diversos projetos de pesquisas, todos focados no melhor entendimento da DF. O presente estudo é oriundo da grande coorte do REDS III, que representa hoje, a maior coorte de DF no mundo.

O REDS III teve apoio financeiro do NHLBI e o gerenciamento de dados foi feito pelo *Research Triangle Institute* (RTI), localizado na Carolina do Norte. O estudo é resultado de uma parceria dos pesquisadores americanos do *Vitalant Research Institute*, em São Francisco na Califórnia (EUA) e quatro hemocentros brasileiros:



Figura 7: Centros participantes do REDS III no Brasil

Etapas do estudo

Foram cadastrados e acompanhados na coorte do - Estudo Longitudinal Multicêntrico da Doença Falciforme - 2.793 pacientes com DF, de 2013 a 2018. Quatro centros brasileiros foram envolvidos: Fundação Hemominas (Minas Gerais), Fundação Hemope (Pernambuco), Fundação Hemorio (Rio de Janeiro) e ITACI – Instituto de Tratamento do Câncer Infantil (São Paulo).

Os pacientes elegíveis foram abordados durante a sua rotina no hemocentro, e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participação no estudo era apresentado e assinado pelos pacientes no início do estudo. O TCLE dos pacientes com menos de 18 anos foi assinado por seus responsáveis. Para os participantes entre 10 e 17 anos houve um assentimento de participação, assinado pelo próprio paciente.

Quatro visitas foram realizadas, ao longo de 5 anos de estudo. Uma visita de inscrição, onde era feito o primeiro contato do participante com as atividades da coorte, e o assistente de pesquisa realizava a coleta da assinatura do TCLE, e entrevista que abordava questões sociodemográficas. Além disso, o paciente era submetido a uma coleta de sangue. Nessa primeira etapa fizemos uma varredura do prontuário médico de toda a vida do paciente.

O primeiro acompanhamento ocorreu após um ano da data de inscrição, onde o paciente passou pelo mesmo fluxo inicial da pesquisa. Nessa etapa, foram coletadas as informações do prontuário adicionadas no último ano.

O segundo acompanhamento ocorreu um ano após a segunda visita do paciente na pesquisa e seguiu o mesmo fluxo descrito anteriormente. Por fim, no terceiro e último acompanhamento, esse fluxo foi mantido e os pacientes passavam pelos mesmos trâmites anteriores. Os dados obtidos no terceiro acompanhamento do estudo ainda estão no processo de controle de qualidade e, dessa forma, não foram utilizados nas análises do presente estudo.

As entrevistas foram realizadas em locais apropriados para garantir a privacidade dos pacientes, e o questionário foi aplicado por assistentes de pesquisa treinados para realizar essa tarefa. Os prontuários médicos foram

revisados por profissionais de saúde capacitados e com a supervisão de hematologistas. A coleta de sangue foi feita pelo setor de coleta de cada hemocentro, e antes desse procedimento, era conferido os dados vitais e estado de saúde de cada paciente.

Controle de qualidade – REDS III

A coleta de todos os dados obtidos na coorte do REDS-III foi realizada por profissionais de saúde previamente treinados. O controle de qualidade desses dados foi feito através da criação de tabelas de resumo de cada hemocentro. A finalidade dessa etapa era de identificar tendências incomuns. Os *outliers* foram identificados para todas as variáveis contínuas, a fim de garantir que os dados estavam corretamente inseridos. O cruzamento de dados foi importante na busca por inconsistências de informações, por exemplo: no módulo do questionário de transfusões, se o motivo da transfusão registrada foi por “STA”, a resposta para o módulo de STA, deveria constar que o paciente havia passado por essa intercorrência no período de coleta de dados. Todas as inconsistências encontradas foram enviadas para os hemocentros, que fizeram todas as correções. Esse processo minucioso garantiu o controle de qualidade dos dados que analisamos.

Desenho do estudo

Trata-se de um estudo analítico observacional transversal, desenvolvido com o banco de dados do estudo REDS-III, no qual analisamos diversas variáveis clínicas e laboratoriais correlacionadas à ocorrência de HS nos pacientes com DF dessa coorte.

Diagnóstico de hiper-hemólise

Inicialmente extraímos do banco todos os pacientes que apresentavam a variável “hiper-hemólise” sinalizada. Por se tratar de um evento raro, realizamos a conferência de cada um deles, na busca por informações que confirmassem o

diagnóstico de HS. Dessa forma, estabelecemos como caso nas nossas análises somente os pacientes que obedeceram aos critérios diagnósticos de HS. Seleccionamos aqueles que apresentavam relato no prontuário médico de queda de Hb após a transfusão, atingindo valor inferior ao observado no pré-transfusional, (na ausência de outro fator que justifique essa queda), além da queda na contagem de reticulócitos.

Definição das variáveis

A variável dependente foi definida como a ocorrência de HS em pacientes que já foram submetidos à transfusão sanguínea em algum momento da vida, em qualquer uma das três ondas do estudo analisadas. Como variáveis independentes foram avaliadas características sociodemográficas, epidemiológicas, clínicas e resultados laboratoriais. As variáveis sociodemográficas analisadas foram sexo, idade, cor da pele, hemocentro e nível educacional; as variáveis epidemiológicas incluíram status ocupacional, status de uso de álcool e/ou cigarro. Entre as variáveis clínicas destacaram-se tipo de DF, internações por CVO, STA, AVC, NA, priapismo, tratamento com HU e transfusão crônica. Para avaliação dos resultados laboratoriais, visando uma melhor representação do perfil do paciente e para diminuir as perdas inerentes da busca de dados em prontuário, foi utilizada a média dos resultados das três ondas do estudo. Foram avaliados Hb, leucócitos, plaquetas, reticulócitos, bilirrubina total e direta e creatinina. Também se avaliou a presença de anticorpos irregulares antieritrocitários.

Realizamos também, com uma abordagem quantitativa, a análise das características imuno-hematológicas dos pacientes que tiveram HS e o tratamento administrado em cada um deles. Para isso, foram utilizados os dados disponíveis nos protocolos de registros dos setores de imuno-hematologia dos hemocentros participantes do REDS III e também relato em prontuário médico.

Obtenção do grupo controle

A partir da avaliação dos 2.793 pacientes pertencentes à coorte REDS-III Brasil foram identificados 13 casos de pacientes já transfundidos em algum momento da vida que apresentaram HS.

O escore de propensão foi utilizado para o pareamento e consistiu em um modelo logístico que utilizou como variável resposta binária os casos de HS e como variáveis preditoras a idade, genótipo da DF, hemocentro, e o número de unidades transfundidas durante a vida. Após a construção do modelo logístico, foram definidos como controles os quatro indivíduos com probabilidade de ser um “caso” mais próxima àquela estimada para cada caso, entre aqueles que já fizeram alguma transfusão na vida. Desta forma foi obtida uma subcoorte de 65 pacientes (13 casos e 52 controles).

Análise estatística

As variáveis qualitativas foram representadas por frequências, e as quantitativas como média \pm desvio-padrão (DP) (quando apresentaram distribuição normal, avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk), ou mediana \pm distância interquartilica (DI) (caso contrário). A associação entre variáveis qualitativas foi avaliada por teste Qui-quadrado, exato de Fisher ou modelo logístico binário. Para comparação de variáveis quantitativas entre dois grupos foram utilizados os testes t-Student ou Wilcoxon Mann-Whitney. As análises foram realizadas no programa R versão 4.2.0 e foi considerado significativo $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

A prevalência de HS em toda a coorte do REDS III (n=2793) foi de 0,6%.

Descrição da amostra

Na subcoorte de 65 pacientes deste estudo, 55,4% eram do sexo feminino, 56,9% adultos, 50,8% de cor da pele parda e 42,9% estudaram até o ensino médio. A maior parte, 69,2%, era do genótipo SS. Histórico de tabagismo foi apontado por 23,5%, histórico de alcoolismo por 52,9% e 46,3% trabalhavam (Tabela 1).

Fatores associados à ocorrência de hiper-hemólise

A ocorrência de HS não se associou às características sociodemográficas e epidemiológicas avaliadas (Tabela 1). Os resultados laboratoriais não diferiram entre aqueles que apresentaram ou não o desfecho. Os pacientes que tiveram HS apresentaram maior proporção de anticorpos irregulares (p=0,013) (Tabela 2).

Perfil dos pacientes com HS

Houve predominância do sexo masculino (53,8%), adultos (61,5%), cor da pele parda (46,2%), ensino médio/curso técnico (46,2%) e de genótipo SS (69,2%). Em relação aos exames laboratoriais, o valor médio da hemoglobina foi 9,0 g/l (DP 1,6 g/l), leucócitos $10.350,7 \times 10^9/l$ (DP $1.934,6 \times 10^9/l$), creatinina mediana 0,5 $\mu\text{mol/l}$ (DI 0,2 $\mu\text{mol/l}$) e bilirrubina total 1,9 $\mu\text{mol/l}$ (DI 1,3 $\mu\text{mol/l}$). A média do número de plaquetas foi $376.349,7 \times 10^9/l$ (DP $119.307,6 \times 10^9/l$) e mediana de reticulócitos, 7,6% (DP 8,7%) (Tabela 2).

A proporção de internação por CVO foi 76,9% e por STA/pneumonia 38,5%, de AVC isquêmico 15,4% e de NA 15,4%. (Tabela 3).

A maior parte fazia tratamento com HU, 84,6%, 84,6% fizeram transfusão no último ano e 23,1% estavam em regime de transfusão crônica. Mais da metade, 61,5%, receberam mais de 10 unidades transfundidas na vida (Tabela 4).

Os anticorpos mais comuns foram anti-Fya (33,3%) e anti-jkb (25,0%), e o tipo sanguíneo O+ foi predominante (53,8%) (Tabela 5).

Tabela 1. Tipo de doença falciforme, características sociodemográficas e epidemiológicas. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

Característica	Hiperhemólise		P-valor	Toda a amostra (n=65)
	Não (n=52)	Sim (n=13)		
Genótipo da doença falciforme			1,000 ^L	
Sβ0	12 (23,1)	3 (23,1)		15 (23,1)
SC	4 (7,7)	1 (7,7)		5 (7,7)
SS	36 (69,2)	9 (69,2)		45 (69,2)
Hemocentro			0,766 ^L	
Hemominas HBH	2 (3,8)	1 (7,7)		3 (4,6)
Hemope	9 (17,3)	2 (15,4)		11 (16,9)
Hemorio	34 (65,4)	7 (53,8)		41 (63,1)
Itaci SP	7 (13,5)	3 (23,1)		10 (15,4)
Sexo			0,662 ^Q	
F	30 (57,7)	6 (46,2)		36 (55,4)
M	22 (42,3)	7 (53,8)		29 (44,6)
Cor da pele			0,927 ^L	
Preta	18 (34,6)	5 (38,5)		23 (35,4)
Parda	27 (51,9)	6 (46,2)		33 (50,8)
Branca	6 (11,5)	2 (15,4)		8 (12,3)
Desconhecida	1 (1,9)	-		1 (1,5)
Faixa etária			0,950 ^Q	
Adultos	29 (55,8)	8 (61,5)		37 (56,9)
Crianças	23 (44,2)	5 (38,5)		28 (43,1)
Nível educacional * (n=63)			0,548 ^L	
Fundamental incompleto/ alfabetização de adultos ou menos	20 (40,0)	4 (30,8)		24 (38,1)
Fundamental completo	4 (8,0)	3 (23,1)		7 (11,1)
Ensino médio/ Curso técnico	21 (42,0)	6 (46,2)		27 (42,9)
Graduação / Pós-Graduação	5 (10,0)	-		5 (7,9)
Trabalha atualmente* (n=41)	15 (48,4)	4 (40,0)	0,922 ^Q	19 (46,3)
Tabagismo* (n=34)	6 (22,2)	2 (28,6)	1,000 ^F	8 (23,5)
Alcoolismo* (n=34)	14 (51,9)	4 (57,1)	1,000 ^F	18 (52,9)

^L Regressão logística binária, ^Q Teste Qui-Quadrado, ^F Teste exato de Fisher. * Variável possui missings, n válido entre parênteses.

Tabela 2. Resultados laboratoriais e presença de anticorpos. Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

Característica	Hiper-hemólise		P-valor
	Não (n=52)	Sim (n=13)	
Laboratoriais			
Hemoglobina (g/l)* (n=64)	8,5 ± 1,2	9,0 ± 1,6	0,290 ^T
Leucócitos (x10 ⁹ /l)* (n=64)	10.517,9 ± 3.010,9	10.350,7 ± 1.934,6	0,808 ^T
Plaquetas (x10 ⁹ /l)* (n=64)	518.037,9 ± 143.097,6	376.349,7 ± 119.307,6	0,293 ^T
Reticulócitos (%)* (n=59)	7,6 ± 5,5	7,6 ± 8,7	0,380 ^W
Creatinina (µmol/l)* (n=52)	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,2	0,573 ^W
Bilirrubina total (µmol/l)	1,7 ± 1,3	1,9 ± 1,3	0,583 ^W
Bilirrubina direta (µmol/l)	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,3	0,283 ^W
Anticorpos			
Anticorpos irregulares* (n=16)	1 (9,1)	10 (76,9)	0,001^F
Auto-anticorpo eritrocitário frio identificados na PAI* (n=5)	-	1 (25,0)	1,000 ^F

^W Teste de Wilcoxon Mann-Whitney (dados apresentados como mediana ± distância interquartilica), ^T Teste de Student (dados apresentados como média ± desvio-padrão), ^F Teste exato de Fisher. * Variável possui missings, n válido entre parênteses.

Tabela 3. Complicações clínicas. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

Característica	Hiper-hemólise		P-valor
	Não (n=52)	Sim (n=13)	
Internação por crise de dor	27 (51,9)	10 (76,9)	0,128 ^F
Internação por síndrome torácica aguda/ Pneumonia	16 (30,8)	5 (38,5)	0,842 ^Q
AVC isquêmico	5 (9,6)	2 (15,4)	0,620 ^F
AVC hemorrágico	1 (1,9)	-	-
Necrose avascular	8 (15,4)	2 (15,4)	1,000 ^F
Priapismo* (n=32)	5 (21,7)	2 (22,2)	1,000 ^F

^Q Teste Qui-Quadrado, ^F Teste exato de Fisher. * Variável possui missings, n válido entre parênteses.

Tabela 4. Tratamentos dos pacientes. Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

Característica	Hiper-hemólise		P-valor
	Não (n=52)	Sim (n=13)	
Hidroxiureia	41 (78,8)	11 (84,6)	1,000 ^F
Transfusão			
Último ano	34 (65,4)	11 (84,6)	0,314 ^F
Crônica	9 (17,6)	3 (23,1)	0,697 ^F
N unidades transfundidas na vida			0,947 ^Q
Até 10	17 (32,7)	5 (38,5)	
>10	35 (67,3)	8 (61,5)	

^Q Teste Qui-Quadrado, ^F Teste exato de Fisher,

Tabela 5. Características imuno-hematológicas dos pacientes com hiper-hemólise (n=13). Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

ID	Hemocentro	Genótipo	ABO/D	Anticorpos antieritrocitários
1	Hemominas HBH	SS	O+	anti-C, anti-K, anti-Ch/Rg
2	Hemorio	SS	O+	-
3	Hemorio	SB0	O+	-
4	Hemorio	SS	A+	anti-Jka
5	Hemorio	SS	B+	anti-K
6	Hemorio	SS	O+	anti-Fya, warm auto
7	Hemorio	SS	A+	-
8	Hemorio	SC	A+	anti-C, anti-Jkb, anti-Lea, cold auto, warm auto, anti-Dia
9	Hemope	SS	O+	anti-Fya
10	Hemope	SS	B+	anti-C, warm auto
11	ITACI SP	SS	O+	anti-Fya, anti-Jka, anti-Lea, anti-Leb, anti-S, cold auto, warm auto
12	ITACI SP	SB0	A+	anti-E, anti-Fya, anti-Jkb, anti-S, cold auto, anti-Jsa
13	ITACI SP	SB0	O+	anti-E, anti-Jkb, anti-K, warm auto

Tabela 6. Tratamento administrado para cada caso de HS - Estudo de Coorte do REDS III – Falciforme Brasil.

ID	Hemocentro	Tratamento para Hiper-hemólise
1	Hemominas HBH	Corticosteróides
2	Hemorio	-
3	Hemorio	-
4	Hemorio	Corticosteróides
5	Hemorio	Corticosteróides
6	Hemorio	Corticosteróides
7	Hemorio	Corticosteróides
8	Hemorio	Corticosteróides
9	Hemope	Corticosteróides
10	Hemope	Corticosteróides
11	ITACI SP	Plasma fresco congelado de doador O+/ Lewis B+ (duas vezes) e CH Lewis A e B -/ Corticosteróides
12	ITACI SP	Gamaglobulina e Pulsoterapia com corticoesteróide
13	ITACI SP	2 doses de Imunoglobulina EV, 1 dia de corticosteróides para receber a 2.a transfusão de CH

7 DISCUSSÃO

Nosso estudo se propôs a evidenciar os fatores clínicos e laboratoriais envolvidos na ocorrência de HS em pacientes com DF. Essa complicação relacionada à transfusão de sangue é caracterizada pela ocorrência de queda no valor de Hb pós-transfusional em associação a redução na contagem de reticulócitos. Apesar do mecanismo fisiopatológico não estar completamente esclarecido, esse cenário é decorrente da destruição tanto das hemácias do doador de sangue, quanto das hemácias autólogas, com participação importante de macrófagos hiperativados e da ativação da cascata de complemento. A HS é uma reação rara e extremamente grave. Em 2009, quando houve a publicação do “*UK Serious Hazards of Transfusion Scheme*” destacando reações adversas e eventos associados à transfusão de hemocomponentes no Reino Unido, é que a HS começou a ganhar destaque, facilitando o diagnóstico e a frequência de sua ocorrência ⁷⁹. Apesar disso, a sua verdadeira prevalência ainda não foi estabelecida e pode ser facilmente subestimada, tendo em vista que os sintomas clínicos se assemelham com os de uma CVO, e a presença de anticorpos durante essa reação pode não ocorrer ⁸⁰.

Diamod *et al* descreveram uma série de casos de 18 pacientes com DF submetidos à exsanguineotransfusão parcial. Três desses 18 pacientes desenvolveram RHPT consistentes com a HS ⁸¹. Existem outros estudos estimando a prevalência da HS em pacientes pediátricos com DF. Talano *et al.* realizaram uma revisão retrospectiva de 11 anos de prontuários de pacientes com DF que foram submetidos a transfusão durante a internação. Eles identificaram um total de sete pacientes pediátricos que sofreram de HS, e obtiveram uma prevalência em torno de 0,39% ⁸². Já no estudo em pacientes adultos com DF de Vidler *et al*, foi feita uma revisão retrospectiva de todas as transfusões de hemácias em 637 pacientes, no *King's College Hospital* em Londres, durante 5 anos, e encontraram taxa de prevalência de 1,1% ⁸³. Dentre todas os estudos observados, a coorte do REDS III foi a que apresentou o maior número de inscritos, sendo o total de 2793 pacientes. Nosso estudo utilizou os dados obtidos dessa grande coorte, e encontramos a prevalência de HS de

0,6%. Por se tratar de um estudo que teve como fonte de dados a revisão de prontuário médico, acreditamos que esse valor pode estar subestimado, uma vez que existe a perda de informações inerente a esse meio de obtenção dos dados. Entretanto, trata-se da maior casuística de pacientes com DF acompanhados em coorte, incluindo pacientes adultos e pediátricos em diferentes esquemas de regime transfusional, fato que aumenta o potencial de extrapolação dos resultados e a assertividade de dados de prevalência.

Nosso estudo evidenciou maior ocorrência de HS em pacientes com o genótipo HbSS (69,2%). Ainda que o número de transfusões estivesse incluído nas correções estatísticas, pode haver influência de taxas transfusionais mais altas observadas nesses pacientes que tiveram HS, quando comparados com aqueles de outros genótipos⁸³. Fenótipos clínicos e valores laboratoriais variam entre os genótipos falciformes HbSS, SC e Sb+-talassemia. Pacientes HbSS têm marcadores de hemólise mais altos e valores de Hb mais baixos em comparação com outros genótipos. Correspondentemente, a prevalência de fenótipos relacionados a maior taxa hemolítica é mais alta em pacientes com AF. Outras complicações incluindo AVC e CVO também acometem mais frequentemente esses pacientes². Dessa forma, é oportuno relacionar que a hemólise crônica é um fator que desencadeia o estado inflamatório crônico desses pacientes. Outro fator que contribui para esse status inflamatório na AF é o quadro de leucocitose crônica, especialmente com aumento de neutrófilos e monócitos, que se encontram altamente ativados. A interação de leucócitos com o endotélio é essencial para iniciar a resposta inflamatória, induzindo a expressão de moléculas de adesão e citocinas, que contribuem para exacerbar a presença de moléculas pró-inflamatórias. Essa cascata de eventos é determinante para aumentar a atividade de macrófagos. Por meio dessa via, os pacientes com AF podem ser ainda mais suscetíveis à ocorrência de HS⁸⁴.

Em relação aos fatores de risco para ocorrência de HS, estudos sugerem que três fatores aumentam o risco de HS: (i) histórico de aloimunização, (ii) história prévia de HS e (iii) transfusão episódica (fora de programa transfusional crônico). De fato, no estudo de coorte "SCDTRANSFU", realizado de 2011 a 2014, no Hospital Henri Mondor em Paris com 371 pacientes, a HS foi demonstrada

exclusivamente em pacientes recebendo transfusões episódicas⁸⁵. Sobre o tipo de transfusão, nosso estudo não encontrou diferença estatística entre transfusão crônica e episódica, mas vale ressaltar que apenas 23,1% dos casos estavam em regime de transfusão crônica, enquanto 86,4% apresentaram o desfecho após uma transfusão por evento agudo.

O contexto clínico da transfusão “gatilho” parece ser um fator de risco marcante para o desenvolvimento de uma HS⁸³. Nossas análises mostraram uma maior frequência de casos de HS no contexto de internação por CVO (76,9%). Esse achado corrobora com o fato de que o estado inflamatório agudo do paciente altera a forma com que o organismo reage à transfusão de sangue. Pela fisiopatologia envolvida na CVO, podemos dizer essa manifestação clínica representa uma proxy da gravidade da DF. Alguns pesquisadores também fizeram esse *link* com a aloimunização, onde descreveram que o risco de formar anticorpos aumenta se a transfusão for administrada em uma situação aguda, em relação à transfusão dada no ambiente eletivo^{86, 87}.

O estudo francês “SCDTRANSFU” destacou também a importância da aloimunização como fator de risco para HS⁸⁵. Desse mesmo modo, nosso estudo evidenciou que presença de anticorpos irregulares antieritrocitários é, de fato, um marcador primordial para a ocorrência de HS ($p=0,001$). Esse achado pode sugerir que pacientes tratados com transfusão crônica se beneficiam de protocolos de correspondência mais extensos do que os pacientes transfundidos em uma situação aguda, possivelmente devido ao tempo limitado para encontrar bolsas correspondentes. É válido, portanto, salientar que quando um paciente com DF é admitido na urgência, uma investigação cuidadosa deve ser realizada acerca de seu histórico transfusional e qualquer episódio envolvendo anticorpos. A comunicação estreita entre os médicos e o centro de referência em que o paciente é acompanhado pode minimizar o risco da ocorrência de uma reação transfusional grave, como é o caso da HS⁶⁸.

A identificação de anticorpos antieritrocitários é importante para o diagnóstico de HS. No entanto, identificar o anticorpo responsável pelo evento segue sendo um desafio devido à sua natureza transitória. De fato, devido à evanescência de anticorpos, um terço dos casos de RHPTs não terá nenhum anticorpo

identificado, colocando os pacientes em risco para outras RHPTs, se a transfusão for novamente necessária. No relato de caso apresentado por El Alaoui, Benghiat e Colard em 2022, além do anti-Jkb, que o paciente já havia desenvolvido previamente, foi também detectado anti-C e anti-Fya, que são classicamente conhecidos como aloanticorpos nocivos e confortaram a suspeita da aloimunização envolvida no processo de HS em que esse paciente se encontrava ⁸⁸. Em um estudo com 124 pacientes com DF, os anticorpos mais frequentes identificados foram os anticorpos Rh (anti-D, anti-C, anti-E e anti-e)⁸⁹. O anti-Jkb foi menos frequente do que o anti-Jka em um estudo na Índia com 405 aloimunizados; e em 32% dos casos, múltiplos aloanticorpos estavam envolvidos. Os anticorpos anti-Kidd também são causas comuns de HS.

No presente estudo, analisamos o histórico de anticorpos antieritrocitários dos 13 casos de HS. Os anticorpos mais comuns foram anti-Fya (33,3%) e anti-Jkb (25,0%). Apesar de conhecer o perfil imuno-hematológico desses pacientes, não houve correlação entre a presença desses anticorpos e a ocorrência do evento de HS que cada paciente desenvolveu. Isso confirma o que já evidenciado em literatura: pacientes aloimunizados tem maior risco de apresentar episódios de HS; entretanto, não necessariamente os anticorpos antieritrocitários são deflagradores de todos os eventos, visto que a forma aguda de HS deve-se, primordialmente, à hiperativação de macrófagos e do complemento, em contraposição à HS tardia, que se inicia com transfusões incompatíveis mediadas por anticorpos antieritrocitários ⁹⁰.

Identificamos nos nossos casos 3 pacientes que desenvolveram HS sem possuírem anticorpos irregulares. De acordo com Siddon *et al*, uma possibilidade para esses casos é que os aloanticorpos podem ser direcionados contra antígenos de baixa incidência, ou antígenos não identificados rotineiramente em células de triagem ⁹⁰. Com base na constatação e no fato de que muitas vezes há falta de aloanticorpos eritrocitários identificáveis em reações de HS, foi sugerido que os anticorpos HLA e possivelmente outras proteínas que ativam o complemento desencadeiam o quadro de hemólise. Takeuchi *et al* discutem um paciente que desenvolveu HS com novos aloanticorpos após uma primeira transfusão. Após uma nova transfusão alguns dias depois, houve queda da Hb

novamente, mas nenhum aloanticorpo foi identificado. Nesse caso, o paciente tinha, no entanto, anticorpos HLA multirreativos. Embora a interação entre os anticorpos HLA e as hemácias seja considerada uma causa muito rara de intercorrências, é importante considerar o teste para esses anticorpos nos quais o episódio de HS permanece inexplicável ⁹¹. Foi demonstrado por Chadebech *et al* em um estudo prospectivo, que a HS pode ocorrer sem participação de anticorpos, mostrado em dois casos. Eles evidenciaram que as hemácias do doador podem ser danificadas pelo organismo do paciente com DF em contexto de CVO. Supõe-se que o estresse oxidativo pode interferir na expressão de PS na membrana dessas hemácias, induzindo-as a morte suicida ou eriptose. Os autores também atribuíram a HS aguda desses pacientes à ativação de macrófagos e destruição por complemento ativado. Nos casos de HS aguda, é conhecido que a hemólise das hemácias doadoras é capaz de promover uma cascata de eventos incluindo a liberação de Hb e radicais livres e de fatores plasmáticos pró-inflamatórios. Toda essa cascata atinge as hemácias receptoras. De fato, esses dados fornecem evidências de que uma nova transfusão induzirá as mesmas consequências, explicando então a exacerbação da hemólise observada nos pacientes com DF que estão em HS ⁹².

Em relação ao número de eventos transfusionais, Pinto, Braga e Santos descreveram que a aloimunização predominou em pacientes com mais de 10 transfusões, semelhante ao estudo de Sakhalkar *et al*, onde observaram que a maioria dos pacientes desenvolveu aloanticorpos após 12 transfusões, e a de Natukunda *et al*, no qual 80,7% dos pacientes aloimunizados receberam mais de 10 transfusões ^{93,94}. Nosso trabalho também analisou a relação do número de bolsas com a ocorrência de HS. Não houve significância estatística nesse quesito, mas é válido relacionar os nossos resultados com os trabalhos descritos acima, uma vez que já estabelecemos a relevância da aloimunização com o nosso desfecho. Nós encontramos uma frequência maior de transfusões ao longo da vida (> 10 bolsas) nos casos de HS (61,5%). Esse ponto corrobora com os autores que estudaram a aloimunização, e, dessa forma, podemos dizer que o maior número de transfusões ao longo da vida pode ser um fator de risco para a ocorrência de HS.

As análises dos dados laboratoriais entre pacientes que apresentaram ou não HS não demonstrou significância estatística. A coleta desses dados foi feita a partir dos resultados mais recentes de cada período, e teve o objetivo de traçar um perfil laboratorial para cada paciente inscrito na Coorte. Entretanto, para avaliar os marcadores da HS, esses resultados talvez tivessem mais plausibilidade biológica se coletados no período peri ocorrência de HS. Estabelecemos um perfil para os nossos casos, que se mostrou muito semelhante aos controles. Isso mostra uma limitação do nosso estudo, onde não conseguimos analisar os parâmetros laboratoriais obtidos no momento da HS.

O tratamento da HS nos pacientes com DF tem como base a administração de esteroides e imunoglobulina, conforme observamos também no nosso estudo. A despeito dessa abordagem, atualmente o uso de rituximabe tem sido amplamente discutido nesse cenário. Bachmeyer *et al* relatam um caso de HS, que obteve sucesso no tratamento com metilprednisolona e uma dose de rituximabe (375 mg/m²)⁹⁵. Uhlman *et al* descreveram um paciente que desenvolveu HS e foi tratado com metilprednisolona, eritropoietina e rituximabe, mas não respondeu ao tratamento e recebeu 3 unidades de hemácias lavadas no esquema de troca de plasma com bom resultado⁶⁹. Noizat-Pirenne *et al* trouxeram o caso de um paciente com DF aloimunizado e com autoanticorpos, que já havia passado por episódios anteriores de HS e foi tratado com esteroides, ciclofosfamida e eritropoietina. Esse paciente recebeu um grama de rituximabe “profilático” para a transfusão antes da cirurgia eletiva do quadril e uma segunda dose sete dias após a primeira. O paciente não desenvolveu HS nesta ocasião, apesar de ter sido transfundido⁷⁵. Este foi o primeiro caso relatado, até onde sabemos, em que o rituximabe foi usado como estratégia preventiva em um paciente em quem a transfusão de sangue foi necessária. Tal fato sugere que pode haver um papel para o uso de rituximabe no tratamento da HS, embora não seja claro qual deve ser a dose ou frequência ideal e com que antecedência no processo da doença deve ser considerada. Além disso, o uso de rituximabe não foi descrito fora do cenário de hemoglobinopatias para tratar HS. Não encontramos nenhum caso de óbito decorrente de HS no nosso estudo. Nos estudos que descrevemos anteriormente, apenas 4 desfechos resultaram em morte. É provável que isso seja uma sub-representação do número geral de

mortes secundárias a essa reação transfusional, pois alguns casos podem não ter sido reconhecidos como HS.

Nosso estudo foi importante para estabelecer os fatores associados à ocorrência de HS nos pacientes da Coorte de DF do REDS III. Isso representa uma abordagem a nível nacional, pois tivemos a oportunidade de estudar casos de HS que ocorreram em regiões distintas do Brasil. Além disso, nossos dados foram extraídos da maior coorte de DF do mundo, o que nos deu ferramentas para analisar diversos aspectos da HS. Entretanto, algumas limitações encontradas no nosso estudo são decorrentes do fato da coorte ser um estudo geral da DF. Dessa forma, não conseguimos acessar informações que seriam importantes para aprofundar nossas análises acerca da HS, e por essa razão, não obtivemos exames laboratoriais anteriores, durante, e depois do evento de HS. Além disso, pelo fato da HS ser um evento raro, nosso N foi limitado, o que diminuiu o poder dos testes estatísticos.

Diante do exposto, é imperativo delinear novos estudos capazes de diagnosticar e acompanhar os episódios de HS para complementar o entendimento sobre esse tema. A comunidade transfusional é carente de informações contundentes a respeito da HS, e realizar pesquisas mais extensas a fim de determinar quais indivíduos são mais propensos a essa complicação pode ser fundamental no seu manejo. Há também a necessidade de monitorar pacientes multitransfundidos com DF, com objetivo de diagnosticar a condição e iniciar o tratamento assim que houver a suspeita de HS. Seria extremamente vantajoso criar um grande banco de dados unificado, e alimentá-lo com as informações de cada episódio de HS, capaz de direcionar a abordagem de tratamento de forma mais padronizada, tendo em vista esses registros. Também ajudaria a identificar quaisquer problemas a longo prazo e determinar, inclusive, o risco de recorrência. Esse sistema serviria, então, para traçar um método geral para investigação, diagnóstico e tratamento de HS.

8 CONCLUSÕES

Os pacientes com DF que desenvolveram HS na Coorte do REDS III apresentaram os anticorpos antieritrocitários como marcadores primordiais para a ocorrência de HS. Evidenciamos também nesse estudo que o número de bolsas transfundidas ao longo da vida e as transfusões por evento agudo, como no caso de internação por CVO podem ser um indicativo de maior risco para a ocorrência de HS. Esses dados são importantes para definir um grupo de pacientes mais suscetível a HS, que poderiam ser elegíveis para o uso profilático de rituximabe.

Concluimos, por fim, que um maior conhecimento acerca desse tema é imprescindível, para que novos eventos de HS possam ser evitados. Por se tratar de uma reação transfusional rara e grave, precisamos da elaboração de estudos maiores, com maior número de amostras, que sejam capazes de esclarecer o diagnóstico, fisiopatologia e definir o melhor tratamento para essa complicação.

9 REFERÊNCIAS

1 Di Nuzzo, DV.; Fonseca, SF . [Sickle cell disease and infection]. J Pediatr (Rio J), v. 80, n. 5, p. 347-54, 2004 Sep-Oct 2004. ISSN 0021-7557. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15505729>>.

2 Felix, AA.; Souza, HM.; Ribeiro, SBF. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 32, p. 203-208, 2010. ISSN 1516-8484. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842010000300006&nrm=iso>.

3 Weatherall, DJ.; Provan, AB. Red cells I: inherited anaemias. Lancet, v. 355, n. 9210, p. 1169-75, Apr 2000. ISSN 0140-6736. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10791394>>.

4 Ministério da Saúde (BR). Manual de Educação em Saúde: auto-cuidado na Doença Falciforme. Especializada. Brasília: Editora do Ministério da Saúde: 72 p. 2008.

5 Sonati, MEF.; Costa, FF. The genetics of blood disorders: hereditary hemoglobinopathies. J Pediatr (Rio J), v. 84, n. 4 Suppl, p. S40-51, Aug 2008. ISSN 1678-4782. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18791648>>.

6 Naufel, CCS. Reação transfusional hiper-hemolítica em pacientes portadores de anemia falciforme: relato de dois casos. AL, E. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 24: 292-299 p. 2002

7 Reed, W. et al. Acute anemic events in sickle cell disease. Transfusion, v. 40, n. 3, p. 267-73, Mar 2000. ISSN 0041-1132. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10738025>>.

8 Barretti, P.; Delgado, A. G. [Transfusion]. J Bras Nefrol, v. 36, n. 1 Suppl 1, p. 29-31, Mar 2014. ISSN 2175-8239. Disponível em:<<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24770602>>.

9 Salles, R F.; Sturn, J O.; Beck, M. Reações Transfusionais imediatas. Protocolo Assistencial Hosp. Uni. Santa Maria, 2014. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/7153863-Protocolo-assistencial-do-hospital-universitario-de-santa-maria-1-1-1-reacao-hemolitica-aguda.html>>

10 Proietti ABFC, Cioffi JGM. Hemovigilância: verificação final da qualidade da transfusão? Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [Internet]. 2008 30:173–4. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbHS/a/HSJrLpcyWDLJDZTVfZbZjhB/?lang=pt>

11 Grandi JL, Grell MC, Areco KCN, Barbosa DA. Hemovigilância: a experiência da notificação de reações transfusionais em Hospital Universitário. Rev esc enferm USP [Internet]. 2018;52(Rev. esc. enferm. USP, 2018 52):e03331. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1980-220X2017010603331>

12 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Marco conceitual e operacional de hemovigilância: guia para a hemovigilância no Brasil. Brasília: ANVISA; 2015b. 74 p

13 Agência Nacional de Vigilância Sanitária. ANVISA. Manual Técnico de Hemovigilância. Brasília: ANVISA; 2003. 29 p.

14 Hendrickson, J. E. et al. Inflammation enhances consumption and presentation of transfused RBC antigens by dendritic cells. Blood, v. 110, n. 7, p. 2736-43, Oct 2007. ISSN 0006-4971. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17591943>>.

15 Girello, A. L.; Kuhn, T. I. B. D. B. Fundamentos da Imuno-Hematologia Eritrocitária. 4. Senac São Paulo, 2016. 310

16 Pirenne, F.; Bartolucci, P.; Habibi, A. Management of delayed hemolytic transfusion reaction in sickle cell disease: Prevention, diagnosis, treatment. Transfus Clin Biol, v. 24, n. 3, p. 227-231, Sep 2017. ISSN 1953-8022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28669521>>.

17 Gouveia ME, Soares NB, Santoro MS, de Azevedo FCM. Hyperhemolysis syndrome in a patient with sickle cell anemia: case report. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [Internet]. 2015; 37(4):266–8. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4519701/>>

18 Noizat-Pirenne F, Habibi A, Mekontso-Dessap A, Razazi K, Chadebech P, Mahevas M, et al. The use of rituximab to prevent severe delayed haemolytic transfusion reaction in immunized patients with sickle cell disease. Vox Sanguinis. 2014 Dec 18;108(3):262–7. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/vox.12217>>

19 Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. Science [Internet]. 1949 Nov 25;110(2865):543–8. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/110/2865/543>

20 Eaton WA. Hemoglobin S polymerization and sickle cell disease: A retrospective on the occasion of the 70th anniversary of Pauling's Science paper. American Journal of Hematology [Internet]. 2019 Dec 31;95(2):205–11. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7003899/pdf/AJH-95-205.pdf>

21 Gardner, R.V. Sickle Cell Disease: Advances in Treatment. Ochsner J. 2018 Winter;18(4):377-389. doi: 10.31486/toj.18.0076. PMID: 30559624; PMCID: PMC6292457. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6292457/>

22 Ogu, U.O.; Billett, H.H. Comorbidities in sickle cell disease: Adult providers needed! *Indian J Med Res.* 2018 Jun;147(6):527-529. doi: 10.4103/ijmr.IJMR_1019_18. PMID: 30168482; PMCID: PMC6118144. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30168482/>>.

23 Brenner SL, Korn ED. Spectrin-actin interaction. Phosphorylated and dephosphorylated spectrin tetramer cross-link F-actin. *Journal of Biological Chemistry.* 1979 Oct;254(17):8620–7.

24 Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, et al. Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers.* 2018 Mar 15;4(1). Disponível em : <https://www.nature.com/articles/nrdp201810>

25 Grosse SD, Odame I, Atrash HK, Amendah DD, Piel FB, Williams TN. Sickle Cell Disease in Africa. *American Journal of Preventive Medicine [Internet].* 2011 Dec;41(6):S398–405. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3708126/>

26 Miranda JF, Matalobos ARL. Prevalência da anemia falciforme em crianças no Brasil / Prevalence of sickle cell anemia in children in Brazil. *Braz. J. Hea. Rev. [Internet].* 2021 Dec. 1 [cited 2023 Apr. 28];4(6):26903-8. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/40446>

27 Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet.* 2013 Jan 12;381(9861):142-51. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61229-X. Epub 2012 Oct 25. PMID: 23103089; PMCID: PMC3547249.

28 Cançado RD, Lobo C, Angulo IL, Araújo PIC, Jesus JA. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para uso de hidroxureia na doença falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia.* 2009;31(5):361–6. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbHS/a/vHSZSsvrSh9NzwVK3BnHQCf/?lang=pt>

29 Lobo, C. Doença falciforme - um grave problema de saúde pública mundial. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online].* 2010, v. 32, n. 4, pp. 280-281. ISSN 1806-0870. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842010000400002>>.

30 Menezes AS de O da P, Len CA, Hilário MOE, Terreri MTRA, Braga JAP. Qualidade de vida em portadores de doença falciforme. *Revista Paulista de Pediatria [Internet].* 2013 Mar 1 [cited 2022 Jan 19]; 31:24–9. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rpp/a/qdVDC39sVHy94rg9wDLqd8Q/?lang=pt#>

31 Hassell, K. L. Population estimates of sickle cell disease in the U.S. *American journal of preventive medicine*, 2010, 38(4 Suppl), S512–S521. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.amepre.2009.12.022>>.

32 Jesus, JA. Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme, Coordenação da Política Nacional de Sangue e

Hemoderivados/DAE/SAS, Ministério da Saúde. SAL/SUL, Brasília, DF. Gazeta Médica da Bahia 2010; 80:3. 2010 (Ago-Out):8-9.

33 Kuypers FA. Membrane Lipid Alterations in Hemoglobinopathies. *Hematology*. 2007 Jan 1;2007(1):68–73. DOI [10.1182/asheducation-2007.1.68](https://doi.org/10.1182/asheducation-2007.1.68)

34 Kavanagh PL, Fasipe TA, Wun T. Sickle Cell Disease: A Review. *JAMA*. 2022 Jul 5;328(1):57-68. doi: 10.1001/jama.2022.10233. PMID: 35788790.

35 Lobo, C.; Marra, V.N.M.; Silva, R.M.G . Crises dolorosas na doença falciforme. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [online]. 2007, v. 29, n. 3, pp. 247-258. ISSN 1806-0870. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000300011>>.

36 Silva Filho IL da, Ribeiro GS, Moura PG, Vechi ML, Cavalcante AC, Andrada-Serpa MJ de. Sickle cell disease: acute clinical manifestations in early childhood and molecular characteristics in a group of children in Rio de Janeiro. *Rev Bras Hematol Hemoter*[Internet]. 2012;34(3):196–201. Disponível em:<https://doi.org/10.5581/1516-8484.20120049>

37 Driss A, Asare K, Hibbert J, Gee B, Adamkiewicz T, Stiles J. Sickle Cell Disease in the Post Genomic Era: A Monogenic Disease with a Polygenic Phenotype. *Genomics Insights* [Internet]. 2009 Jul 30 [cited 2022 Apr 7]; 2:23–48. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2855197/>

38 Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010 Dec 11;376(9757):2018-31. doi: 10.1016/S0140-6736(10)61029-X. Epub 2010 Dec 3. PMID: 21131035.

39 Brunetta DM, Clé DV, Haes TM, Roriz-Filho JS, Moriguti JC. Manejo das complicações agudas da doença falciforme. *Medicina (Ribeirão Preto)* [Internet]. 30 de setembro de 2010. 43(3):231-7. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/rmrp/article/view/180>

40 Inusa B, Hsu L, Kohli N, Patel A, Ominu-Evbota K, Anie K, et al. Sickle Cell Disease—Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. *International Journal of Neonatal Screening*. 2019 May 7;5(2):20.

41 Matthay MA, Ware LB, Zimmerman GA. The acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest*. 2012 Aug;122(8):2731-40. doi: 10.1172/JCI60331. Epub 2012 Aug 1. PMID: 22850883; PMCID: PMC3408735.

42 Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. *The Lancet Neurology*. 2006 Jun;5(6):501–12.

43 Enniful-Eghan H, Moore RH, Ichord R, Smith-Whitley K, Kwiatkowski JL. Transcranial Doppler ultrasonography and prophylactic transfusion program is effective in preventing overt stroke in children with sickle cell disease. *J Pediatr*. 2010 Sep;157(3):479-84. doi: 10.1016/j.jpeds.2010.03.007

- 44 Adesina O, Neumayr LD. Osteonecrosis in sickle cell disease: an update on risk factors, diagnosis, and management. *Hematology*. 2019 Dec 6;2019(1):351–8.
- 45 Adesina O, Brunson A, Keegan THM, Wun T. Osteonecrosis of the femoral head in sickle cell disease: prevalence, comorbidities, and surgical outcomes in California. *Blood Advances*. 2017 Jul 11;1(16):1287–95.
- 46 Broderick GA. Priapism and Sickle-Cell Anemia: Diagnosis and Nonsurgical Therapy. *The Journal of Sexual Medicine*. 2012 Jan;9(1):88–47 Nelson JH, Winter CC. Priapism: Evolution of Management in 48 Patients in a 22-Year Series. *Journal of Urology*. 1977 Apr;117(4):455–8.
- 47 Adeyoku AB, Olujohungbe ABK, Morris J, Yardumian A, Bareford D, Akenova A, et al. Priapism in sickle-cell disease; incidence, risk factors and complications - an international multicentre study. *BJU International*. 2002 Dec;90(9):898–902.
- 48 Halls JE, Patel DV, Walkden M, Patel U. Priapism: pathophysiology and the role of the radiologist. *Br J Radiol*. 2012 Nov;85 Spec No 1(Spec Iss 1):S79-85. doi: 10.1259/bjr/62360925. Epub 2012 Sep 6. PMID: 22960245.
- 49 Niihara Y, Matsui NM, Shen YM, Akiyama DA, Johnson CS, Sunga MA, et al. L-Glutamine therapy reduces endothelial adhesion of sickle red blood cells to human umbilical vein endothelial cells. *BMC Hematology*. 2005 Jul 25;5(1).
- 50 Braga JAP. Medidas gerais no tratamento das doenças falciformes. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2007 Sep;29(3).
- 51 Sharma D, Ogbenna AA, Kassim A, Andrews J. Transfusion support in patients with sickle cell disease. *Seminars in Hematology* [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2021 Oct 23];57(2):39–50. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0037196320300251>
- 52 Niihara Y, Miller ST, Kanter J, Lanzkron S, Smith WR, Hsu LL, et al. A Phase 3 Trial of L-Glutamine in Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*. 2018 Jul 19;379(3):226–35.
- 53 Ataga KI, Kutlar A, Kanter J, Liles D, Cancado R, Friedrisch J, et al. Crizanlizumab for the Prevention of Pain Crises in Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*. 2017 Feb 2;376(5):429–39.
- 54 Vichinsky E, Hoppe CC, Ataga KI, Ware RE, Nduba V, El-Beshlawy A, et al. A Phase 3 Randomized Trial of Voxelotor in Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*. 2019 Jun 13;
- 55 Kanter J, Liem RI, Bernaudin F, Bolaños-Meade J, Fitzhugh CD, Hankins JS, et al. American Society of Hematology 2021 guidelines for sickle cell disease: stem cell transplantation. *Blood Advances* [Internet]. 2021 Sep 28;5(18):3668–89. Disponível em:

<https://ashpublications.org/bloodadvances/article/5/18/3668/476988/American-Society-of-Hematology-2021-guidelines-for>

56 Alves, V. M. et al. Alloimmunization screening after transfusion of red blood cells in a prospective study. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 34, p. 206-211, 2012. ISSN 1516-8484. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842012000300012&nrm=iso>.

57 Yazdanbakhsh K, Ware RE, Noizat-Pirenne F. Red blood cell alloimmunization in sickle cell disease: pathophysiology, risk factors, and transfusion management. *Blood* [Internet]. 2012 May 4 [cited 2019 Apr 7];120(3):528–37. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3401213/>

58 Chou ST, Fasano RM. Management of patients with sickle cell disease using transfusion therapy: guidelines and complications. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2016;30(3):591–608.

59 Vilar VM, Ferreira N da C, Nakasato GR, Lupinacci FL, Lopes J de L, Lopes CT. Fatores associados a reações transfusionais imediatas em um hemocentro universitário: estudo analítico retrospectivo. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2020 Oct 14;53(3):275–82.

60 Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Guia para uso de Hemocomponentes [Internet]. Brasília (DF); 2015 [citado 2019 Out 20]. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_uso_hemocomponentes_2ed.pdf.

61 Ferreira O, Martinez EZ, Mota CA, Silva AM. Avaliação do conhecimento sobre hemoterapia e segurança transfusional de profissionais de enfermagem. *Rev Bras Hematol Hemoter* [Internet]. 2007Apr;29(2):160–7. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000200015>

62 Lee MT, Piomelli S, Granger S, Miller ST, Harkness S, Brambilla DJ, et al. Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP): extended follow-up and final results. *Blood*. 2006 Aug 1;108(3):847–52.

63 Silva JB Jr, Rattner D, Martins RC. Controle de riscos potenciais em serviços de hemoterapia o Brasil: uma abordagem para autoridades reguladoras. *Rev Panam Salud Publica*. 2016;40(1):1-8.

64 Madu AJ, Ugwu AO, Efobi C. Hyperhaemolytic Syndrome in Sickle Cell Disease: Clearing the Cobwebs. *Medical Principles and Practice*. 2020 Nov 11;30(3):236–43.

65 King K, Shirey R, Lankiewicz M, Young-Ramsaran J, Ness P. Delayed hemolytic transfusion reactions in sickle cell disease: simultaneous destruction of recipients' red cells. *Transfusion*. 1997 Apr;37(4):376–381.

66 Banks M, Shikle J. Hyperhemolysis Syndrome in Patients With Sickle Cell Disease. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2018 Nov 1;142(11):1425–7.

67 Win N. Hyperhemolysis syndrome in sickle cell disease. *Expert Review of Hematology* [Internet]. 2009 Apr 1 [cited 2021 Jun 14];2(2):111–5. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21083443/>

68 Win N, New H, Lee E, de la Fuente J. Hyperhemolysis syndrome in sickle cell disease: case report (recurrent episode) and literature review. *Transfusion*. 2008 Jun;48(6):1231–8.

69 Uhlmann EJ, Shenoy S, Goodnough LT. Successful treatment of recurrent hyperhemolysis syndrome with immunosuppression and plasma-to-red blood cell exchange transfusion. *Transfusion*. 2013 May 21; n/a-n/a.

70 Danaee A, Inusa B, Howard J, Robinson S. Hyperhemolysis in Patients With Hemoglobinopathies: A Single-Center Experience and Review of the Literature. *Transfusion Medicine Reviews* [Internet]. 2015 Oct [cited 2020 Jan 30];29(4):220–30. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0887796315000711>

71 Chonat S, Mener A, Verkerke H, Stowell SR. Role of complement in alloimmunization and hyperhemolysis. *Current Opinion in Hematology*. 2020 Sep 3;27(6):406–14.

72 Mwesigwa S, Moulds JM, Chen A, Flanagan J, Sheehan VA, George A, et al. Whole-exome sequencing of sickle cell disease patients with hyperhemolysis syndrome suggests a role for rare variation in disease predisposition. *Transfusion* [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2022 Oct 25];58(3):726–35. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5847445/>

73 Rehman R, Saadat SB, Tran DH, Constantinescu S, Qamruzzaman Y. Recurrent Hyperhemolysis Syndrome in Sickle Cell Disease. *Cureus*. 2021 May 12;

74 Taylor RP, Lindorfer MA. Drug Insight: the mechanism of action of rituximab in autoimmune disease—the immune complex decoy hypothesis. *Nature Clinical Practice Rheumatology* [Internet]. 2007 Feb 1 [cited 2020 Apr 28];3(2):86–95. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/ncprheum0424>

75 Noizat-Pirenne F, Bachir D, Chadebech P, Michel M, Plonquet A, Lecron JC., et al. Rituximab for prevention of delayed hemolytic transfusion reaction in sickle cell disease. *Haematologica*. 2007 Dec 1;92(12): e132–5.

76 Win N, Lee E, Needs M, Chia LW., Stasi R. Measurement of macrophage marker in hyperhaemolytic transfusion reaction: a case report. *Transfusion Medicine*. 2012 Jan 10;22(2):137–41.

77 Compri MB, Polimeno NC, Stella MB, Ramalho AS. Programa comunitário de hemoglobinopatias hereditárias em população estudantil brasileira. *Revista de Saúde Pública*. 1996 Apr;30(2):187–95.

78 Alves Pinto PC, Pellegrini Braga JA, Nunes dos Santos AM. Fatores de risco para aloimunização em pacientes com anemia falciforme. *Revista da Associação Médica Brasileira*. 2011 Nov;57(6):668–73.

79 Shankar K, Shah D, Huffman DL, Peterson C, Bhagavatula R. Hyperhemolysis Syndrome in a Patient With Sickle Cell Disease and Acute Chest Syndrome. *Cureus*. 2021 Jan 30;13(1):e13017. doi: 10.7759/cureus.13017. PMID: 33659145; PMCID: PMC7920227

80 Stainsby D, Jones H, Wells AW, Gibson B, Cohen H; SHOT Steering Group. Adverse outcomes of blood transfusion in children: analysis of UK reports to the serious hazards of transfusion scheme 1996-2005. *Br J Haematol*. 2008 Apr;141(1):73-9. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07022.x. PMID: 18324969

81 Diamond WJ, Brown FL Jr, Bitterman P, Klein HG, Davey RJ, Winslow RM. Delayed hemolytic transfusion reaction presenting as sickle-cell crisis. *Ann Intern Med*. 1980 Aug;93(2):231-4. doi: 10.7326/0003-4819-93-2-231. PMID: 7406372..

82 Talano JA, Hillery CA, Gottschall JL, Baylerian DM, Scott JP. Delayed hemolytic transfusion reaction/hyperhemolysis syndrome in children with sickle cell disease. *Pediatrics*. 2003 Jun;111(6Pt1):e661-5. doi: 10.1542/peds.111.6.e661.

83 Vidler JB, Gardner K, Amenyah K, Mijovic A, Thein SL. Delayed haemolytic transfusion reaction in adults with sickle cell disease: a 5-year experience. *Br J Haematol*. 2015 Jun;169(5):746-53. doi: 10.1111/bjh.13339. Epub 2015 Mar 5. PMID: 25753472.

84 Chies JA, Nardi NB. Sickle cell disease: a chronic inflammatory condition. *Med Hypotheses*. 2001 Jul;57(1):46-50. doi: 10.1054/mehy.2000.1310. PMID: 11421623.

85 Narbey, D *et al*. "Incidence and predictive score for delayed hemolytic transfusion reaction in adult patients with sickle cell disease." *American journal of hematology* vol. 92,12 (2017): 1340-1348. doi:10.1002/ajh.24908

86 Fasano, Ross M *et al*. "Red blood cell alloimmunization is influenced by recipient inflammatory state at time of transfusion in patients with sickle cell disease." *British journal of haematology* vol. 168,2 (2015): 291-300. doi:10.1111/bjh.13123

87 Yazer MH, Triulzi DJ, Shaz B, Kraus T, Zimring JC. Does a febrile reaction to platelets predispose recipients to red blood cell alloimmunization?. *Transfusion*. 2009;49(6):1070-1075. doi:10.1111/j.1537-2995.2009.02116.x

88 El Alaoui K, Benghiat FS, Colard M. An Unusual Case of Delayed Hemolytic Transfusion Reaction with Hyperhemolysis Syndrome Due to Anti-Jkb and Anti-Fya Alloantibodies. *J Hematol*. 2022;11(2):66-70. doi:10.14740/jh968

89 Halverson, G et al. "The first reported case of anti-Dob causing an acute hemolytic transfusion reaction." *Vox sanguinis* vol. 66,3 (1994): 206-9. doi:10.1111/j.1423-0410.1994.tb00311.x

90 Siddon, A. J., Kenney, B. C., Hendrickson, J. E., & Tormey, C. A. (2018). Delayed haemolytic and serologic transfusion reactions: pathophysiology, treatment and prevention. *Current opinion in hematology*, 25(6), 459–467. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000462>

91 Takeuchi C, Ohto H, Miura S, Yasuda H, Ono S, Ogata T. Delayed and acute hemolytic transfusion reactions resulting from red cell antibodies and red cell-reactive HLA antibodies. *Transfusion*. 2005;45(12):1925-1929. doi:10.1111/j.1537-2995.2005.00607.x [53,54].

92 Chadebech P, Habibi A, Nzouakou R, Bachir D, Meunier-Costes N, Bonin P, *et al*. Delayed hemolytic transfusion reaction in sickle cell disease patients: evidence of an emerging syndrome with suicidal red blood cell death. *Transfusion*. 2009 Sep;49(9):1785-92. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02199.x. Epub 2009 Apr 28. PMID: 19413729.

93 Pinto PC, Braga JA, Santos AM. Risk factors for alloimmunization in patients with sickle cell anemia. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 2011 Nov-Dec;57(6):668-73. English, Portuguese. doi: 10.1590/s0104-42302011000600014. PMID: 22249547

94 Sakhalkar, VS ,et al. "Allosensitization in patients receiving multiple blood transfusions." *Annals of the New York Academy of Sciences* vol. 1054 (2005): 495-9. doi:10.1196/annals.1345.072

95 Bachmeyer C, Maury J, Parrot A, et al. Rituximab as an effective treatment of hyperhemolysis syndrome in sickle cell anemia. *Am J Hematol*. 2010;85(1):91-92. doi:10.1002/ajh.21578

10 APÊNDICES

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil – REDS III

Sub-projeto: Estabelecimento da coorte de Doença Falciforme, criação de banco de amostras biológicas e determinantes genéticos da aloimunização.

Você está sendo convidado a participar desse primeiro subprojeto, onde vamos coletar informações e sangue de pessoas que tenham a mesma doença que você. Esta fase vai coletar as informações mais importantes do estudo para entender porque o sangue transfundido causa ou não reação em você.

Os pesquisadores irão explicar como esta pesquisa será desenvolvida e caso você aceite, como será sua participação.

Por quê esta pesquisa está sendo realizada?

A pesquisa intitulada “Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil – REDS III” é parte de um projeto multicêntrico internacional intitulado "Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study-III" sob a coordenação das Dras. Ester Sabino, pesquisadora da Universidade de São Paulo e Anna Bárbara F. Carneiro Proietti, da Fundação Hemominas. Esta pesquisa está sendo conduzida na Fundação Hemominas (Minas Gerais), Fundação Hemope (Pernambuco), Hemorio (Rio de Janeiro) e *ICr-ITACI - Instituto da Criança - Instituto de Tratamento do Câncer Infantil* (São Paulo).

Este estudo está sendo realizado em colaboração com o Blood Systems Research Institute em São Francisco nos Estados Unidos e com financiamento do Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue dos Estados Unidos. As regras para coletar essa informação são estabelecidas pela legislação brasileira e a resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares, bem como a regulamentação nos EUA 42 USC 28.

Os pacientes com doença falciforme, atendidos regularmente nos Hemocentros, estão sendo convidados a participar desta pesquisa. Os objetivos deste estudo são: (1) desenvolver um programa de computador (também chamado de base de dados

eletrônica) único que inclua as informações de saúde, os resultados de exames de laboratório e as informações sobre as transfusões que cada paciente com doença falciforme recebeu (2) criar um Biorrepositório para guardar amostras biológicas para futuras pesquisas sobre a doença falciforme.

Nós iremos utilizar essa base de dados para entender como as complicações freqüentes da doença falciforme ocorrem na população falciforme brasileira. Serão estudadas também como as transfusões de sangue são utilizadas para o tratamento da doença falciforme. As amostras de sangue serão armazenadas para futuros estudos conforme explicado abaixo.

As informações genéticas servem para entender porque algumas pessoas ao receber sangue respondem mal e destroem os glóbulos vermelhos (fazem parte do sangue) do doador, quando isso acontece à transfusão de sangue não é efetiva. Nós queremos entender se existe algo genético relacionado a esta resposta.

Quantas pessoas farão parte da pesquisa?

Aproximadamente 3000 pessoas com doença falciforme, no Brasil, serão convidadas a participar desta pesquisa.

O que vai acontecer se eu concordar em participar do estudo e doar meu material biológico?

Você será entrevistado por um pesquisador e um médico, que farão perguntas básicas sobre seu histórico da doença falciforme e as transfusões já recebidas. Também haverá perguntas sobre algumas questões pessoais como o uso de tabaco, álcool e drogas. Essas perguntas são importantes para entender a dor e outros aspectos clínicos da doença falciforme. Você pode optar por não responder a nenhuma das perguntas.

As informações existentes no seu histórico médico serão consultadas e, juntamente com as entrevistas, serão registradas de forma eletrônica para a criação de um banco de dados nacional para portadores de doença falciforme.

A cada ano durante o estudo (total de 3 vezes) você será entrevistado por um pesquisador e um médico para registrar novos eventos que tenham ocorrido desde a última entrevista.

Será retirado da sua veia uma quantidade de sangue comparável a uma colher de sopa não cheia (12 ml) para serem armazenados em um local chamado "Biorrepositório de amostras biológicas, para possíveis pesquisas futuras.

As informações genéticas e clínicas coletadas neste estudo poderão ser compartilhadas com outras instituições, incluindo banco de dados públicos de pesquisa em saúde dos governos americano e brasileiro, sempre de forma anônima (sem conter nome, endereço, nada que o identifique).

Você terá acesso a todos os seus resultados dos exames laboratoriais de rotina realizados no hemocentro. Os resultados gerais específicos da pesquisa na população falciforme brasileira serão divulgados através de artigos científicos.

Suas amostras ficarão armazenadas no Biorrepositório durante a realização dessa pesquisa e poderão permanecer armazenadas por até 10 anos, ou mais, caso o Biorrepositório seja renovado pelo Comitê de Ética.

Se, no futuro, você decidir que não quer que suas amostras ou informações sejam usadas em pesquisas futuras, você poderá notificar ao médico, preenchendo um formulário específico para isso, e destruiremos qualquer amostra ou informação que não seja mais necessária para o seu tratamento. No entanto, se qualquer pesquisa já tenha sido feita usando suas amostras, os dados serão mantidos e analisados como parte destes estudos.

A cada nova pesquisa a ser realizada com o seu sangue, você será chamado para receber informações e será convidado a assinar um novo TCLE. Você poderá aceitar ou não participar de cada nova pesquisa.

Quais os riscos envolvidos na doação de amostras biológicas para pesquisa?

Riscos na coleta de sangue.

A coleta de sangue pode causar uma dor leve quando a agulha é introduzida na veia, mas normalmente, não a longo prazo.

Após o sangue ser coletado pode haver um pequeno hematoma onde a agulha foi inserida, que pode durar algumas horas ou dias.

Em ocasiões muito raras pode haver pequeno ferimento ou infecção onde a agulha foi inserida.

Riscos de confidencialidade:

Qualquer informação genética ou médica a serem compartilhados por pesquisadores brasileiros e americanos serão identificadas por códigos, sem qualquer informação pessoal que possa identificá-lo como nome, endereço e telefone.

Suas informações pessoais e genéticas são confidenciais e garantimos que seu nome não será usado em nenhum relatório publicado de pesquisa onde as amostras tenham sido usadas. Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter seus dados em sigilo e garantir a sua privacidade. Para garantir sua confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.

Informações genéticas que resultem deste estudo não têm importância médica para tratamentos atuais que estão sendo utilizados, portanto não serão inseridas no seu histórico médico.

Quais os benefícios em doar amostras biológicas para pesquisa?

Você não terá benefícios diretos por permitir que seus dados e suas amostras sejam armazenados neste e em outros estudos. No entanto, futuramente, a pesquisa poderá ter um impacto na terapia transfusional para a população de anemia falciforme no Brasil através do desenvolvimento de novas drogas, exames, tratamentos ou produtos, inclusive de valor comercial.

Quais as questões financeiras eu devo considerar antes da doação?

Sua participação é voluntária, isto é, sua amostra biológica será uma doação para a pesquisa e você não terá nenhum benefício com exceção do custo do transporte e das refeições que serão fornecidos para você nas visitas de acompanhamento no estudo.

Que alternativas eu tenho?

Se você escolher não doar sua amostra de sangue para este Biorrepositório, nenhum sangue será recolhido para fins de pesquisas e suas informações não serão inseridas no banco de dados nacional de doença falciforme.

Se eu resolver participar desse estudo, quais são os meus direitos?

Você pode escolher participar ou não desse estudo. Independente da sua decisão, não haverá penalidade e você não perderá nenhum dos seus tratamentos regulares. Sair do estudo também não afetará seu tratamento médico.

Apesar do seu nome não estar junto à amostra, haverá outros dados sobre você, como detalhes clínicos. Dessa forma, as descobertas desse estudo podem algum dia, vir a ajudar outras pessoas que tenham as mesmas características que você. No entanto, também é possível, através desse tipo de estudo, que traços genéticos possam vir a ser associado ao seu grupo. Em alguns casos, isso poderia associar uma imagem negativa às pessoas com as mesmas características que você.

Seu sangue ficará guardado no Brasil, no Biorrepositório no Instituto de Medicina Tropical/USP. Uma parte do seu sangue será enviada ao Blood Systems Research Institute em São Francisco nos Estados Unidos para realização dos testes genéticos. Os pesquisadores americanos cumprirão as normas brasileiras. Após a realização desses testes, o restante do seu sangue enviado aos Estados Unidos será descartado, portanto seu sangue não ficará guardado nos Estados Unidos- apenas no Brasil.

A cada nova pesquisa a ser realizada com o seu sangue, você será chamado para receber informações e será convidado a assinar um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Você poderá aceitar ou não participar de cada nova pesquisa.

Quem pode responder minhas dúvidas sobre o estudo?

Você pode conversar com o pesquisador sobre qualquer dúvida que tiver sobre esse estudo. Para isso, entre em contato com a pesquisadora Carolina Teixeira, no telefone 31-3768-4693, no endereço Alameda Ezequiel Dias, 321 – Santa Efigênia, Belo Horizonte, horário de 08:00 às 17:00, email: carolina.teixeira@hemominas.mg.gov.br.

Você pode também tirar suas dúvidas com outros profissionais do hemocentro que não são os pesquisadores. Para isso, ligue para Dra. Ana Tuyama no telefone 31-3768-4668.

Os Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) revisam os protocolos de pesquisa elaborados pelos pesquisadores, e verificam se esses protocolos respeitam os participantes das pesquisas. Esses Comitês aprovam apenas os protocolos que estão de acordo com as resoluções sobre ética em pesquisa do Conselho Nacional de Saúde. O Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas aprovou esse estudo. Se você tiver qualquer dúvida sobre aspectos éticos dessa pesquisa, pode entrar em contato pelo telefone 31-3768-4587, endereço Alameda Ezequiel Dias, 321 - Santa Efigênia, Belo Horizonte. Horário de funcionamento 08:00 às 17:00. Email: cep@hemominas.mg.gov.br

Consentimento:

Estou de acordo em responder livremente às questões durante as entrevistas, mesmo aquelas que considero confidenciais, e concordo que seja feita a coleta dos meus dados arquivados em prontuários do hemocentro. Autorizo a divulgação dos dados necessários à pesquisa, sem minha identificação.

Autorizo também a guarda dos dados clínicos e do material biológico aqui coletado, pela instituição responsável e estou ciente que meu sangue poderá ser enviado para outras instituições, inclusive do exterior, desde que para futuras pesquisas aprovadas pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da instituição depositária, e, quando for o caso, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP).

Declaro que li e entendi todas as informações e concordo com minha participação. Estou ciente de que tenho liberdade para retirar o meu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem prejuízo algum do meu acompanhamento no hemocentro.

Nome do participante da pesquisa:

Assinatura: _____

_____/_____/_____

Data

Pesquisador

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil - REDSIII

Pesquisador: Ester cerdeira Sabino

Área Temática: Área 8. Pesquisa com cooperação estrangeira.

Versão: 5

CAAE: 02790812.0.1001.0065

Instituição Proponente: FUNDACAO FACULDADE DE MEDICINA

Patrocinador Principal: NATIONAL INSTITUTE OF HEALTH

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 347.972

Data da Relatoria: 29/07/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se da análise de recurso, razão pela qual o item em questão faz parte do Parecer inicial.

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se da análise de recurso, razão pela qual o item em questão faz parte do Parecer inicial.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se da análise de recurso, razão pela qual o item em questão faz parte do Parecer inicial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa propõe a formação de banco de dados e de amostras armazenadas de indivíduos portadores de anemia falciforme no Brasil possibilitando o desenvolvimento de novos exames, tratamentos ou produtos que terão impacto na terapia transfusional da população falciforme no Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide abaixo em "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide abaixo em "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

1. Na pág. 4/7 do relatório de pesquisa lê-se: "Assim como em qualquer meio de armazenamento

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança das informações pessoais e genéticas do paciente". É considerado eticamente inaceitável que o pesquisador responsável não garanta o sigilo e a confidencialidade dos dados resultantes da pesquisa. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Para garantir a confidencialidade e sigilo dos participantes da pesquisa, nenhuma amostra será identificada nominalmente, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta formas de anonimização das amostras e dos dados coletados, entretanto, ainda mantém a afirmação sobre a possibilidade de quebra de segurança das informações nos documentos intitulados "Anexo 3 TCLE adulto A e C.docx", página 3 de 6, item "Riscos de confidencialidade"; "Anexo 5 TCLE adulto B.docx", página 3 de 5, item "Riscos de confidencialidade"; "Anexo 4 TCLE menores A e C.docx", página 3 de 6, item "Riscos de confidencialidade"; "Anexo 6 TCLE menores B.docx", página 3 de 5, item "Riscos de confidencialidade". **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Tomamos todos os cuidados para garantir a confidencialidade de todos os participantes da pesquisa. Entretanto, entendemos que em qualquer situação existe a possibilidade de que essa quebra aconteça, podemos citar como exemplo situações em que hackers entraram em sistemas bancários ou o roubo de computadores/laptops. São situações imprevisíveis, que fogem ao nosso controle. Assim, em atenção à Resolução 196/96, IV,1.b, que exige que o TCLE descreva "os desconfortos e riscos possíveis", a equipe de pesquisa compartilha o sentimento de que estamos sendo mais éticos se informarmos esse risco. Desta maneira, consideramos importante manter esse alerta nos TCLE: "existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança".

Durante a audiência, o membro da CONEP que nos recebeu também concordou que esta informação pode e deve fazer parte do nosso TCLE. Ele sugeriu, entretanto que mudássemos a frase seguinte enfatizando que estamos garantindo confidencialidade e tomando todas as medidas possíveis.

Assim este paragrafo fica redigido da seguinte forma (em negrito a nova frase enfatizando que a confidencialidade está garantida):

"Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter seus dados em sigilo e garantir a sua privacidade. Para garantir sua confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: .conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

nome de cada participante da pesquisa.¿

Conforme solicitado, esse trecho foi alterado nos seguintes documentos: ¿TCLE adulto A e C julho 2013¿, ¿TCLE adultos B julho 2013¿.

Nos documentos ¿TCLE menores A e C julho 2013¿ e ¿TCLE menores B julho 2013¿, o trecho foi alterado para:

¿Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter os dados da criança ou adolescente, pelo qual você é responsável, em sigilo e garantir a privacidade dele/dela. Para garantir a confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com o nome da criança ou do adolescente, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.¿

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Na página 4/7, item "Metodologia Proposta", lê-se: "Trata-se de um estudo longitudinal multicêntrico a ser desenvolvido com o acompanhamento por três anos da história clínica do paciente com doença falciforme. Estudos observacionais descritivos e comparativos serão desenvolvidos durante o decorrer da pesquisa". Solicita-se que sejam detalhadas todas as etapas metodológicas a serem cumpridas para o desenvolvimento da pesquisa.

RESPOSTA: Este é um estudo de coorte onde um número considerável de variáveis será coletado (as variáveis estão descritas no apêndice do questionário). As frequências básicas destas variáveis ainda não são conhecidas. Inicialmente, será feita uma distribuição de frequências, para que possamos avaliar como as variáveis se comportam. Então, na medida em que conhecermos as frequências básicas das doenças poderá ser calculado o poder para determinadas análises associativas. O plano de análise inicial será o seguinte:

Distribuição das frequências demográficas - análise das características demográficas da população estudada: idade, sexo, cor da pele, escolaridade, dentre outras. Distribuição das complicações da Doença Falciforme na população estudada. Correlações entre as variáveis demográficas, sociais com as patologias apresentadas e o tratamento realizado pelos centros. Comparação dos centros entre si, tendo em vista as características da população e as complicações e quadro clínico, evolução da doença, tipo de tratamentos. A priori não poderemos descrever todas as análises possíveis, podemos descrever e estamos fazendo todas as variáveis que serão colhidas (o questionário foi anexado). Se houver qualquer proposta de modificação em relação ao tipo de

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

informação coletada ou exame realizado será feita uma re-submissão ao CEP, para aprovação prévia. Todos os procedimentos de análise e seus resultados, bem como as publicações produzidas serão reportados nos relatórios anuais do projeto.

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta como resposta a esta pendência, a descrição das etapas metodológicas a serem cumpridas durante o estudo. Entretanto não foi descrito no item "Metodologia Proposta" do projeto de pesquisa, as etapas a serem cumpridas durante o estudo. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: segue em anexo o projeto, arquivo "Projeto Falciforme julho 2013" incluindo no item Metodologia as etapas metodológicas descritas acima.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

3. Na página 4/7, item "Metodologia Proposta", lê-se: "Estudos observacionais descritivos e comparativos serão desenvolvidos durante o decorrer da pesquisa". É necessário que sejam esclarecidos quais os estudos que serão desenvolvidos durante o decorrer da pesquisa e quais estratégias metodológicas serão utilizadas para o desenvolvimentos dos mesmos. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Esta questão está respondida no item 2, acima.

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta como resposta a esta pendência, a descrição das etapas metodológicas a serem cumpridas durante o estudo. Entretanto não foi descrito no item "Metodologia Proposta" do projeto de pesquisa, quais os estudos que serão desenvolvidos durante o decorrer da pesquisa e quais estratégias metodológicas serão utilizadas para o desenvolvimento dos mesmos. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Todos os estudos foram descritos no projeto de pesquisa. Segue em anexo o projeto, incluindo no item Metodologia as etapas metodológicas descritas acima. O que queremos dizer com estudos observacionais é, por exemplo: suponhamos que 600 casos apresentem síndrome torácica aguda. Se isso acontecer teremos numero suficiente para fazer uma análise sobre as variáveis associadas a esta morbidade entre pacientes com anemia falciforme. Entretanto, caso essa síndrome seja encontrada em apenas 6 indivíduos, não será possível achar correlação com esta morbidade. Nós não sabemos a priori qual a frequência das comorbidades. No entanto enviaremos relatórios anuais aos CEP e informaremos todos os achados e os novos passos.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

4. Quanto ao TCLE intitulado "TCLE para adulto, etapas A e C.pdf":

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

- a) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- b) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- c) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- d) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- e) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

f) Na página 2/5 do documento, item "O que vai acontecer se eu concordar em participar do estudo e doar meu material biológico?" lê-se: "Suas amostras ficarão armazenadas permanentemente no repositório". É importante que seja estabelecido o tempo de guarda do material biológico no repositório. O prazo de armazenamento de material biológico humano em Biorrepositório deve estar de acordo com o cronograma da pesquisa correspondente e pode ser autorizado por até dez anos (item 12 da Resolução CNS 441). Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Em atenção à solicitação do parecer CONEP e à Resolução 441/11, item 12.I, o trecho foi alterado para: "Suas amostras ficarão armazenadas no Biorrepositório durante a realização dessa pesquisa e poderão permanecer armazenadas por até 10 anos, ou mais; caso o Biorrepositório seja renovado pelo Comitê de Ética".

ANÁLISE: O trecho alterado acima citado pelo pesquisador responsável, não se encontra de forma idêntica (Ipsis litteris) ao apresentado no documento intitulado "TCLE para adulto, etapas A e C.pdf", apesar do sentido da frase continuar o mesmo. PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.

RECURSO: Conforme solicitação, o trecho "Suas amostras ficarão armazenadas no Biorrepositório durante a realização dessa pesquisa e poderão permanecer armazenadas por até 10 anos, ou mais; caso o Biorrepositório seja renovado pelo Comitê de Ética" foi recortado e colado nos anexos 2 TCLE adultos A e C julho 2013 e 2 TCLE menores A e C julho 2013.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

g) Nas páginas 2 e 3/5, do documento, item "Riscos de confidencialidade" lê-se: "Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. Contudo, trabalharemos muito para manter seus dados em sigilo". É considerado eticamente inaceitável a não garantia do pesquisador responsável quanto à confidencialidade dos dados resultantes da pesquisa. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Foi acrescentada a seguinte frase: "Para garantir sua confidencialidade e sigilo, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

amostras ao nome de cada participante da pesquisa."

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta formas de anonimização das amostras e dos dados coletados, entretanto, ainda mantém a afirmação sobre a possibilidade de quebra de segurança das informações obtidas. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Tomamos todos os cuidados para garantir a confidencialidade de todos os participantes da pesquisa. Entendemos que em qualquer situação existe a possibilidade de que essa quebra aconteça, podemos citar como exemplo situações em que hackers entraram em sistemas bancários ou o roubo de computadores/laptops. São situações imprevisíveis, que fogem ao nosso controle. Assim, em atenção à Resolução 196/96, IV,1.b, que exige que o TCLE descreva "os desconfortos e riscos possíveis", a equipe de pesquisa compartilha o sentimento de que estamos sendo mais éticos se informarmos esse risco. Desta maneira, consideramos importante manter esse alerta nos TCLE: "existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança". Durante a audiência, o membro da CONEP que nos recebeu também concordou que esta informação pode e deve fazer parte do nosso TCLE. Ele sugeriu, entretanto que mudássemos a frase seguinte enfatizando que estamos garantindo confidencialidade e tomando todas as medidas possíveis. Assim este paragrafo fica redigido da seguinte forma (em negrito a nova frase enfatizando que a confidencialidade está garantida): "Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter seus dados em sigilo e garantir a sua privacidade. Para garantir sua confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa." Conforme solicitado, o trecho acima foi alterado no anexo "TCLE adultos A e C julho 2013".

ANÁLISE: **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

- h) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- i) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- j) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- k) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- l) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- m) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**
- n) **PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862**

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

5. Quanto ao TCLE intitulado "TCLE para adultos etapa B.pdf":

a) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

6. No documento TCLE intitulado "TCLE para adultos etapa B.pdf":

a) Nas páginas 2 e 3/4 do documento, item "Riscos de confidencialidade", lê-se: "Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. Contudo, trabalharemos muito para manter os seus dados em sigilo". O termo "trabalharemos muito para manter os seus dados em sigilo" não traz a garantia do pesquisador responsável quanto à manutenção da confidencialidade dos dados resultantes da pesquisa, o que é eticamente inaceitável. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Foi acrescentada a seguinte frase, na sequência da frase citada: "Para garantir sua confidencialidade e sigilo, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos, como por exemplo, AB123. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa."

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta formas de anonimização das amostras e dos dados coletados, entretanto, ainda mantém a afirmação sobre a possibilidade de quebra de segurança das informações dos documentos. Ademais, a frase não se encontra de forma idêntica (ipsis litteris) ao apresentado no documento intitulado "Anexo 5 TCLE adulto B.docx". **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Tomamos todos os cuidados para garantir a confidencialidade de todos os participantes da pesquisa. Entendemos que em qualquer situação existe a possibilidade de que essa quebra aconteça, podemos citar como exemplo situações em que hackers entraram em sistemas bancários ou o roubo de computadores/laptops. São situações imprevisíveis, que fogem ao nosso controle. Assim, em atenção à Resolução 196/96, IV, 1.b, que exige que o TCLE descreva "os desconfortos e riscos possíveis", a equipe de pesquisa compartilha o sentimento de que estamos sendo mais éticos se informarmos esse risco. Desta maneira, consideramos importante manter esse alerta nos TCLE: "existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança.". Durante a audiência, o membro da CONEP que nos recebeu também concordou que esta informação pode e deve fazer parte do nosso TCLE. Ele sugeriu, entretanto que mudássemos a frase seguinte enfatizando que estamos garantindo confidencialidade e tomando todas as medidas possíveis.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

Assim este paragrafo fica redigido da seguinte forma (em negrito a nova frase enfatizando que a confidencialidade está garantida): *¿*Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter seus dados em sigilo e garantir a sua privacidade. Para garantir sua confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.*¿* Conforme solicitado, o trecho acima foi alterado no anexo *¿*TCLE adulto B julho 2013*¿*.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

- b) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- c) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- d) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- e) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- f) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

7. Quanto ao TCLE intitulado "TCLE para menores etapas A e C.pdf":

- a) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

b) Na página 2/5 do documento, item: "O que vai acontecer se eu concordar com a participação do meu depende no estudo e doação material biológico dele?", lê-se: "As amostras do paciente ficarão armazenadas permanentemente no repositório". Deve ser informado que as amostras que constituirão o biorrepositório poderão ser armazenadas por até 10 anos, de acordo com o Art. 1º, item 12 da Resolução CNS 441/2011: "O prazo de armazenamento de material biológico humano em Biorrepositório deve estar de acordo com o cronograma da pesquisa correspondente e pode ser autorizado por até dez anos.". Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Em atenção à solicitação do parecer CONEP e à Resolução 441/11, item 12.I e 12.II, o trecho foi alterado para: "Suas amostras ficarão armazenadas no Biorrepositório durante a realização dessa pesquisa e poderão permanecer armazenadas por até 10 anos, ou mais caso o Comitê de Ética em Pesquisa aprove".

ANÁLISE: A pesquisadora responsável acrescentou a frase ao documento intitulado "Anexo 4 TCLE menores A e C.docx", esclarecendo o tempo de permanência das amostras em Biorepositório, em

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

atendimento a essa solicitação. Entretanto, não retirou a frase do parágrafo em que é dito: "As amostras do paciente ficarão armazenadas permanentemente no repositório", o que pode vir a gerar dúvidas aos participantes em relação ao tempo de retenção do material biológico coletado, se permanentemente ou se por dez anos. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: O trecho: "As amostras do paciente ficarão armazenadas permanentemente no repositório", foi excluído do TCLE menores A e C julho 2013 e do TCLE adultos A e C julho 2013.

ANÁLISE: **PENDÊNCIA ATENDIDA.**

c) Na página 3/5 do documento, item "Riscos de confidencialidade", lê-se: "Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. Contudo, trabalharemos muito para manter os dados do paciente em sigilo.". O termo "trabalharemos muito para manter os seus dados em sigilo" não traz a garantia do pesquisador responsável quanto à manutenção da confidencialidade dos dados resultantes da pesquisa, o que é eticamente inaceitável. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Foi acrescentada a seguinte frase: "Para garantir sua confidencialidade e sigilo, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa."

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta formas de anonimização das amostras e dos dados coletados, entretanto, ainda mantém a afirmação sobre a possibilidade de quebra de segurança das informações dos documentos. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Tomamos todos os cuidados para garantir a confidencialidade de todos os participantes da pesquisa. Entretanto, entendemos que em qualquer situação existe a possibilidade de que essa quebra aconteça, podemos citar como exemplo situações em que hackers entraram em sistemas bancários ou o roubo de computadores/laptops. São situações imprevisíveis, que fogem ao nosso controle. Assim, em atenção à Resolução 196/96, IV, 1.b, que exige que o TCLE descreva os desconfortos e riscos possíveis, a equipe de pesquisa compartilha o sentimento de que estamos sendo mais éticos se informarmos esse risco. Desta maneira, consideramos importante manter esse alerta nos TCLE: existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. Durante a audiência, o membro da CONEP que nos recebeu também concordou que esta informação pode e deve fazer parte do nosso TCLE. Ele sugeriu, entretanto que mudássemos a frase seguinte enfatizando que estamos garantindo confidencialidade e tomando todas as medidas possíveis.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

Assim este paragrafo fica redigido da seguinte forma (em negrito a nova frase enfatizando que a confidencialidade está garantida): **“Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter os dados da criança ou adolescente, pelo qual você é responsável, em sigilo e garantir a privacidade dele/dela. Para garantir a confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com o nome da criança ou do adolescente, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.”** Conforme solicitado, o trecho acima foi alterado no anexo **“TCLE menores A e C Julho 2013”**.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

- d) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- e) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- f) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

8. Quanto ao documento TCLE para menores etapa B:

- a) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

b) Na página 3/4 do documento, item “Riscos de confidencialidade”, lê-se: “Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança.” É eticamente inaceitável que o pesquisador não garanta a confidencialidade dos dados coletados e originados durante a realização da pesquisa. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Foi incluído o seguinte: “Para garantir a confidencialidade e sigilo do paciente, nenhuma amostra será identificada com seu nome, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.”

ANÁLISE: A pesquisadora responsável apresenta formas de anonimização das amostras e dos dados coletados, entretanto, ainda mantém a afirmação sobre a possibilidade de quebra de segurança das informações dos documentos. **PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.**

RECURSO: Tomamos todos os cuidados para garantir a confidencialidade de todos os participantes da pesquisa. Entendemos que em qualquer situação existe a possibilidade de que essa quebra aconteça, podemos citar como exemplo situações em que hackers entraram em sistemas

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

bancários ou o roubo de computadores/laptops. São situações imprevisíveis, que fogem ao nosso controle. Assim, em atenção à Resolução 196/96, IV,1.b, que exige que o TCLE descreva “os desconfortos e riscos possíveis”, a equipe de pesquisa compartilha o sentimento de que estamos sendo mais éticos se informarmos esse risco. Desta maneira, consideramos importante manter esse alerta nos TCLE: “existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança”. Durante a audiência, o membro da CONEP que nos recebeu também concordou que esta informação pode e deve fazer parte do nosso TCLE. Ele sugeriu, entretanto que mudássemos a frase seguinte enfatizando que estamos garantindo confidencialidade e tomando todas as medidas possíveis. Assim este paragrafo fica redigido da seguinte forma (em negrito a nova frase enfatizando que a confidencialidade está garantida): “Porém, assim como em qualquer meio de armazenamento de dados, existe uma pequena possibilidade de quebra de segurança. No entanto tomaremos todas as medidas para manter os dados da criança ou adolescente, pelo qual você é responsável, em sigilo e garantir a privacidade dele/dela. Para garantir a confidencialidade, nenhuma amostra será identificada com o nome da criança ou do adolescente, mas por códigos. Apenas a pesquisadora responsável e funcionários designados por ela poderão associar os códigos que identificarão as amostras ao nome de cada participante da pesquisa.” Conforme solicitado, alteramos o trecho acima no anexo “TCLE menores B julho 2013”.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

- c) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- d) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862
- e) PENDÊNCIA ATENDIDA NO PARECER CONEP 285.862

9. Solicita-se que seja elaborado e apresentação dos Termos de Assentimento aos participantes menores de 18 anos. Os documentos devem ser elaborados em linguagem adequada às diferentes faixas etárias, podendo ser ilustrado.

RESPOSTA: Foram incluídos 3 modelos de Termos de Assentimento.

ANÁLISE:

a-Na página 1/3 do documento intitulado “CD REDS Aim B Assent Control Group_Portuguese receberam transfusão enviado.docx”. O título da pesquisa apresentado no documento não é o mesmo apresentado na Folha de Rosto (mesmo se tratando de uma segunda fase de pesquisa, o título original deverá constar no documento, com um breve esclarecimento da fase da pesquisa).

Recurso: Incluímos, na verdade, 2 Termos de Assentimentos, agora renomeados para

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

Assentimento A e C julho 2013 e Assentimento B julho 2013. Para atender à solicitação CONEP, incluímos nos 2 Termos de Assentimento o título original e o de cada subprojeto. Incluímos ainda um breve esclarecimento da fase da pesquisa. O texto do Assentimento A e C julho 2013 ficou assim: PROJETO: Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil - REDSIII Sub-projeto: Estabelecimento da coorte de Doença Falciforme, criação de banco de amostras biológicas e determinantes genéticos da aloimunização. Este é o primeiro subprojeto onde vamos coletar informações e sangue de crianças que tenham a mesma doença que você. Esta fase vai coletar as informações mais importantes do estudo para entender porque o sangue transfundido causa ou não reação em você. Incorporamos essa alteração também no TCLE Adulto A e C julho 2013, esse trecho foi alterado para: Título do projeto: Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil REDS III Sub-projeto: Estabelecimento da coorte de Doença Falciforme, criação de banco de amostras biológicas e determinantes genéticos da aloimunização. Você está sendo convidado a participar desse primeiro subprojeto, onde vamos coletar informações e sangue de pessoas que tenham a mesma doença que você. Esta fase vai coletar as informações mais importantes do estudo para entender porque o sangue transfundido causa ou não reação em você. Incorporamos essa alteração também no TCLE menores A e C julho 2013, esse trecho foi alterado para: Título do projeto: Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil REDS III - Parte I. Sub-projeto: Estabelecimento da coorte de Doença Falciforme, criação de banco de amostras biológicas e determinantes genéticos da aloimunização.

O paciente, menor de 18 anos, sob sua responsabilidade, está sendo convidado a participar desse primeiro subprojeto, onde vamos coletar informações e sangue de pessoas que tenham a doença falciforme. Esta fase vai coletar as informações mais importantes do estudo para entender porque o sangue transfundido causa ou não reação nas crianças ou adolescentes. O texto do Assentimento B julho 2013 ficou assim: ...projeto Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil REDSIII. Sub-projeto: Mudanças nos perfis de expressão do RNAm e perfis de quimiocinas/citocinas associados a transfusões em subpopulações falciformes selecionadas. Estamos convidando você a fazer parte desta pesquisa para entender melhor o que ocorre no sangue dos pacientes com doença falciforme após a transfusão de sangue. Incorporamos essa alteração também no TCLE menores B julho 2013, esse trecho foi alterado para:

Título do projeto: Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil REDS III Sub-projeto: Mudanças nos perfis de expressão do RNAm e perfis de quimiocinas/citocinas associados a transfusões em subpopulações falciformes selecionadas. O paciente, menor de 18 anos que esta sob sua responsabilidade, está sendo convidado a participar desta etapa, que tem o

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: coriep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 347.972

objetivo de caracterizar o que ocorre no sangue dos pacientes com doença falciforme após a transfusão de sangue. 2 Incorporamos essa alteração também no 2 TCLE adultos B julho 20132, a redação ficou assim: 2 Titulo do projeto: Estudo longitudinal multicêntrico da Doença Falciforme no Brasil 2 REDS III Sub-projeto: 2Mudanças nos perfis de expressão do RNAm e perfis de quimiocinas/citocinas associados a transfusões em subpopulações falciformes selecionadas2. Você está sendo convidado a participar desta etapa, que tem o objetivo de caracterizar a resposta imunológica e as variações genéticas que ocorrem após a transfusão de sangue em pacientes com doença falciforme. 2 Desta maneira, os dois termos de assentimento e os 4 TCLE informam o título da pesquisa, tal como consta na folha de rosto, o título do respectivo subprojeto e um breve esclarecimento da fase da pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

b-Na página 1/3 do documento intitulado "SCD REDS Aim B Assent Control Group_Portuguese receberam transfusão enviado.docx", na frase: "Você pode escolher se deseja ou não que fazer parte deste estudo.". O texto necessita de revisão gramatical.

c-Na página 1/3 do documento intitulado "CD REDS Aim B Assent Control Group_Portuguese receberam transfusão enviado.docx", na frase: "Eu tenho que participar deste estudo de pesquisa? Você não tem que participr nesta pesquisa, se você não quiser.". O texto necessita de revisão gramatical.

d-Na página 2/3 do documento intitulado "SCD REDS Aim B Assent Control Group_Portuguese receberam transfusão enviado.docx", na frase: "Sempre que possível, iremos colher amostra de sangue junto com o sangue que precisa ser colhido para o seu tratamento, mas algumas vezes isso não será possível e teremos que colher uma amostra de sangue só para a pesquisa". A frase está redigida de maneira confusa. Deverá ser escrita de forma mais clara e compreensível.

e-Na página 1/3 do documento intitulado "Informed Assent Aim A and C in Portuguese enviado.docx" O título da pesquisa apresentado no documento não é o mesmo apresentado na Folha de Rosto (mesmo se tratando de uma segunda fase de pesquisa, o título original deverá constar no documento, com um breve esclarecimento da fase da pesquisa).

PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.

RECURSO: Esta resposta encontra-se no item 9a, acima.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.750-521
 UF: DF Município: BRASÍLIA
 Telefone: (61)3315-5878 E-mail: conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 347.872

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

BRASILIA, 06 de Agosto de 2013

Assinador por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 1º SUBSOLO, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

PROJETO DE PESQUISA**Título:** Estudo longitudinal multicêntrico da doença falciforme no Brasil ζ REDSIII**Área Temática:** Área 8. Pesquisa com cooperação estrangeira.**Pesquisador:** Ester cerdeira Sabino**Versão:** 2**Instituição:** Fundação Faculdade de Medicina - ICESP**CAAE:** 02790812.0.1001.0065**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****Número do Parecer:** 75795**Data da Relatoria:** 08/08/2012**Apresentação do Projeto:**

A doença falciforme (DF) é um tipo de doença do sangue, hereditária das mais prevalentes que existem, com milhões de pessoas afetadas no mundo, sendo que aproximadamente 300.000 crianças nascem com a doença a cada ano. Sua patologia e mecanismos patofisiológicos são complexos e as pessoas acometidas pela doença sofrem graves complicações em praticamente todos os órgãos e sistemas corporais.

O Brasil tem atualmente entre 25.000 e 30.000 casos de doença falciforme e aproximadamente 7 milhões de portadores heterozigotos (AS), com o nascimento, por ano, de cerca de 3.500 novos bebês com a doença. A prevalência, o acompanhamento e assistência médica variam consideravelmente por estado. No Brasil, pacientes falciformes normalmente recebem atendimento na rede de hemocentros públicos ou universidades. Entretanto, muitos casos ainda permanecem sem diagnóstico ou com tratamento inadequado.

No período entre 2001 e 2005, o governo brasileiro elaborou uma série de novos regulamentos sobre a doença introduzindo a triagem de crianças para doença falciforme e o maior cuidado no acompanhamento dos casos.

Entretanto, não há ainda uma base de dados nacional ou uma rede organizada para pesquisas na área.

Pacientes com DF necessitam de transfusões intermitentemente para manifestações agudas, e a síndrome torácica aguda (STA) é o indicativo mais comum nesta situação. O estudo de um grupo americano sobre a STA, demonstrou que transfusões durante STA aumentam a oxigenação em média de 63 a 71mmHg demonstrando que a transfusão pode aliviar a disfunção de órgãos em portadores de DF. Investigações na caracterização da modulação imunológica pós-transfusão podem ajudar a elucidar os mecanismos dos benefícios transfusionais nos pacientes com doença falciforme.

O uso de uma base de dados centralizada está bem estabelecido na população com doença falciforme dos EUA, desde a criação, em 1978, da coorte do Estudo Cooperativo da Doença Falciforme dos EUA (US Cooperative Study of Sickle Cell Disease). Esta coorte ajudou a definir a história natural da doença e estabeleceu as bases para décadas de pesquisas que continuam a orientar o gerenciamento atual da doença. Baseado neste sucesso, os Centros Inclusivos de Doença Falciforme (Comprehensive Sickle Cell Centers ζ CSCC) lançaram o CSCC Collaborative Data Project (CSCC C-Data) sob a direção do NHLBI em 2004. Esta base de dados envolveu avaliação exaustiva de complicações clínicas e parâmetros laboratoriais de todos os pacientes inscritos e rendeu muitas publicações importantes. Um protocolo auxiliar para coletar e armazenar o material biológico de pacientes inscritos no C-Data foi desenvolvido em 2005.

O Projeto Colaborativo de Dados (CSCC C-Data) e o protocolo genótipo-fenótipo relacionado servirão como um modelo para o estabelecimento da base de dados abrangente de informações clínicas e material biológico para a população falciforme do Brasil, sendo adaptados à realidade brasileira pelo grupo de pesquisadores deste estudo.

O estudo propõe o desenvolvimento de uma base de dados abrangente da população brasileira, com informações clínicas detalhadas, e a criação de um estoque de amostras biológicas (biorrepositório). O biorrepositório será no Laboratório de Virologia e Hematologia Tropical do Instituto de Medicina Tropical (IMT) da Universidade de São Paulo. Não será necessária a formação de um biorrepositório no exterior, pois as amostras serão enviadas apenas para a realização dos testes específicos previstos nos objetivos do projeto. Todo o material biológico humano, coletado e armazenado será mantido conforme normas técnicas, éticas e operacionais da Instituição responsável e sob gerenciamento da pesquisadora principal, Ester Cerdeira Sabino, e estando de acordo com as normas da resolução CNS 347/2005 e 441/2011.

Em uma nova etapa do projeto, para avaliar o impacto das transfusões de sangue, serão selecionados pacientes para o estudo, de mudanças nos perfis de expressão do RNAm através do sistema Illumina

HumanHT-12 v3 Expression BeadChip, de perfis de quimiocinas através de ensaios "multiplex", assim como o estudo de genotipagem para identificar polimorfismos de um único nucleotídeo, estudo associados com aloimunização de hemácias. Amostras serão enviadas para o Laboratório Central do REDS III (Blood Systems Research Institute (BSRI) - Estados Unidos), onde serão realizados estes estudos. A remessa das amostras será feita com a autorização concedida pelo CNPq, publicada no Diário Oficial 16022012 Portaria 129 (anexo), obedecendo à legislação brasileira vigente para remessa das amostras biológicas para o exterior.

O estudo envolve participação de 3 hemocentros públicos brasileiros: Fundação Hemominas (Minas Gerais), Fundação Hemope (Pernambuco) e Fundação Hemorio (Rio de Janeiro).

Recrutamento de pacientes:

Antes de qualquer procedimento, o sujeito da pesquisa será solicitado a assinar o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Para cada etapa do estudo terá um TCLE específico. TCLE Parte I será para registrar a concordância do paciente em participar das etapas A e C. TCLE Parte II foi elaborado para aceite do paciente na etapa B. Para pacientes menores de 18 anos, o consentimento deverá ser assinado pelos pais ou responsáveis.

Na etapa A espera-se inscrever aproximadamente de 6 a 7 mil pacientes com doença falciforme no estudo (70-80% dos 9000 existentes nos três hemocentros). Na etapa B será utilizado um painel de análise de quimiocinas e citocinas para avaliar mudanças em mediadores inflamatórios pós-transfusionais. Participarão dessa etapa 200 pacientes portadores de Doença Falciforme com histórico de transfusão, 200 pacientes hospitalizados com síndrome torácica aguda e 100 pacientes não transfundidos como controles. Na etapa C, serão selecionados do banco de dados 500 pacientes aloimunizados e 500 não aloimunizados, para caracterização de alo-anticorpos e comparação da base genética.

Objetivo da Pesquisa:

Criar uma base de dados e um biorrepositório para estudo da doença falciforme na população brasileira para estudos futuros.

Detalhamento:

- ¿ Estruturar uma base de dados eletrônica centralizada e abrangente sobre doença falciforme centralizando dados clínicos, laboratoriais e históricos de transfusões de pacientes atendidos nos três hemocentros participantes;
- ¿ Estabelecer um banco de amostras para dar suporte a estudos biológicos sobre a patogenia falciforme e complicações transfusionais;
- ¿ Caracterizar a modulação imunológica e as mudanças na expressão do RNAm que ocorrem após a transfusão em pacientes com doença falciforme, pela análise de painéis de citocinas e perfis da expressão genética serial;
- ¿ Investigar a expressão genética e mudanças protéicas que ocorrem com a transfusão de sangue, investigar também as bases genéticas da aloimunização em pacientes com doença falciforme.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Risco/desconforto:

Na coleta de sangue: pode causar uma dor leve quando a agulha é introduzida na veia, mas normalmente, não a longo prazo. Após o sangue ser coletado pode haver um pequeno hematoma onde a agulha foi inserida, que pode durar algumas horas ou dias.

Em ocasiões muito raras pode haver pequeno ferimento ou infecção onde a agulha foi inserida.

Risco na confidencialidade dos dados armazenados - As informações prestadas são confidenciais com a garantia de que o nome dos pacientes, seus dados pessoais e genéticos não serão usados em nenhum relatório publicado de pesquisa.

Benefícios:

Consta no TCLE que os participantes do estudo não terão nenhum benefício imediato direto, nem mesmo financeiro, no entanto através desta base de dados que será gerada, a pesquisa poderá ter um impacto na terapia transfusional para a população de doença falciforme no Brasil através do desenvolvimento de novas drogas, exames, tratamentos ou produtos, inclusive de valor comercial.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa é uma iniciativa muito importante a longo prazo na medida em que pode trazer benefícios para os pacientes com a doença falciforme no Brasil. Investigações na modulação imunológica pós-transfusão podem ajudar a elucidar os mecanismos dos benefícios transfusionais aos pacientes com doença falciforme.

O TCLE nos seus termos está de acordo com a resolução CNS 196/96 e 441 de 12 maio de 2011 e por envolver uma instituição fora do Brasil, - Blood Systems Research Institute (BSRI) - Estados Unidos- existe também um documento formal desta Instituição declarando estar em cumprimento com a resolução 196/96.

Diante do exposto e considerando que a metodologia, a avaliação de riscos/benefícios, procedimentos, e a utilização dos sujeitos na pesquisa (TCLE) está em conformidade com as exigências das resoluções do CNS/CONEP (196/96) pertinentes ao estudo com seres humanos e 441/11 relacionado ao uso de biorrepositório, este Comitê de Ética (CEP) se manifesta pela aprovação deste projeto.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nada a declarar

Recomendações:

Nada a Declarar

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considerando que a metodologia, a avaliação de riscos/benefícios, procedimentos, e a utilização dos sujeitos na pesquisa (TCLE) está em conformidade com as exigências das resoluções do CNS/CONEP (196/96) pertinentes ao estudo com seres humanos e 441/11 relacionado ao uso de biorrepositório, este Comitê de Ética (CEP) se manifesta pela aprovação deste projeto.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

SAO PAULO, 16 de Agosto de 2012

Assinado por:
Roger Chammas