

ASPECTOS DE INTERESSE RELACIONADOS À ANEMIA FALCIFORME

ASPECTS OF INTEREST RELATED TO SICKLE-CELL ANAEMIA

Guilherme Eduardo Wambier^{1*}, Henrique Wambier², Ângelo A. de Paula¹

^{1*} Autor para contato: Universidade Católica do Paraná - PUC, Departamento de Medicina, Curitiba, PR, Brasil; (41)3016-2909; guiwambier@yahoo.com.br

² Faculdade Evangélica do Paraná - FEPAR, Departamento de Medicina, Curitiba, PR

Recebido para publicação em 13/11/2007

Aceito para publicação em 10/02/2008

RESUMO

A anemia falciforme é uma doença hereditária que acomete boa parte da população brasileira. É mais comum em negros, sendo prevalente no Brasil devido à grande miscigenação. Afeta ambos os sexos e leva a várias manifestações clínicas devido a alteração da conformação molecular da hemoglobina. Seu diagnóstico é clínico e laboratorial e seu correto tratamento assegura uma melhor qualidade de vida.

Palavras-chave: anemia falciforme, manifestações clínicas, tratamento

ABSTRACT

Sickle-cell anaemia is a hereditary disease that affects a significant part of the Brazilian population. It is more common in people of African origin, and is prevalent in our country due to the great miscegenation existing here. The disease affects both men and women, and leads to several clinical manifestations, because of a change in the molecular conformation of haemoglobin. The diagnosis of this disease is clinical, supported by laboratory exams, and its treatment assures a better quality of life.

Key words: sickle-cell anaemia, clinical manifestation, treatment

Introdução

A anemia falciforme é uma doença gênica extremamente comum do grupo das hemoglobiopatias. É causada por uma mutação no cromossomo 11 (SAIZ e RODRÍGUEZ, 1999), determinando uma substituição do aminoácido valina (Val) pela glutamina (Glu) na posição 6 da cadeia b-globina (BANDEIRA et al., 1999). Quando dois genes são afetados (homozigose), o indivíduo possui a anemia falciforme, contudo quando apenas um gene é afetado, ele é considerado portador dessa doença. O mecanismo fisiopatológico da mutação do gene da hemoglobina normal (HbA) para o da hemoglobina S (HbS) ainda permanece desconhecido (GALIZA NETO et al., 2005).

A anemia falciforme foi descrita em 1910 (GALIZA NETO et al., 2005; GÓMEZ-CHIARI et al., 2003) por Herrick. Provavelmente, surgiu entre os períodos paleolítico e mesolítico (IÑIGUEZ et al., 2003; NAOUM, 1997), em países do centro oeste africano, da Índia e do leste da Ásia há cerca de 50 a 100 mil anos. Essa doença é mais freqüente em indivíduos da raça negra, porém não exclusiva (WHO, 1982).

Embora não se conheça a real prevalência no mundo, estima-se que aproximadamente 7% da população mundial seja acometida pelos transtornos das hemoglobinas, incluindo não só a doença falciforme, mas também as talassemias (BOK YOO et al., 2002; WEATHERALL e CLEGG, 2001).

No Brasil, provavelmente, se constitui na doença hereditária mais prevalente (BANDEIRA et al., 1999). Estima-se que existem pelo menos dois milhões de portadores da HbS – heterozigotos (NAOUM et al., 1987; RAMALHO, MAGNA e SILVA, 2003). Devido a grande miscigenação populacional, a anemia falciforme afeta cerca de 0,04% da população geral e em torno de 0,1% a 0,3% da população negra. A Bahia é o estado com a maior freqüência dos casos.

Acredita-se que as regiões Norte, Nordeste e Sudoeste abrigam a maior concentração da doença, uma vez que grande parte da população é de cor negra. Na região Sudeste, a prevalência estimada de portadores - heterozigotos é de 2% na população geral e, entre os negros, de 6% a 10% (PAIXÃO et al., 2001).

Em Minas Gerais, foi relatada a incidência de um caso de anemia falciforme – homozigoto - para cada 2.800 nascimentos e no Rio de Janeiro, verificou-se a existência de um caso para cada 1.196 nascimentos (LOBO et al., 2003).

Revisão da literatura Fisiopatologia da doença

A substituição do aminoácido valina pela glutamina na posição 6 da cadeia beta da hemoglobina irá modificar a estrutura molecular da hemoglobina, que passa de hemoglobina A (HbA), considerada normal, para hemoglobina S (HbS), considerada alterada. A denominação de hemoglobina S deriva do inglês 'sickle', que significa em formato de foice (GALIZA NETO et al., 2003; BUNN, 1986).

A hemoglobina S difere tanto no aspecto estrutural como no aspecto elétrico da molécula de hemoglobina A. Com a perda do ácido glutâmico, que é substituído pela valina, há perda de duas cargas elétricas por molécula de hemoglobina. Esta modificação leva a hemoglobina S a uma alteração de estabilidade e solubilidade. A alteração de estabilidade é a forte tendência a formação de polímeros pela baixa tensão de oxigênio, devido a interação dos receptores fenilalanina (β -85) e leucina (β -88) com a valina (GALIZA NETO et al., 2003).

A formação dos polímeros depende de algumas variáveis, sendo o grau de oxigenação e a concentração de hemoglobina S no sangue as principais. Isto explica a quase inexistência de sinais de anemia falciforme em recém natos ou outras hemoglobiopatias associadas, devido a maior concentração de hemoglobina fetal (HbF).

A alteração de solubilidade associada à instabilidade, leva a desidratação celular devida às perdas de íons potássio (K^+) e de água. Os principais mecanismos destas perdas ocorrem pela ativação excessiva do canal de transporte dos íons potássio e cloro (K^+Cl^-), estimulados pela acidificação e pelo edema. Isto ocorre com conseqüente aumento da concentração dos íons cálcio (Ca^{++}) (GALIZA NETO et al., 2003). Outra

conseqüência é a perda da elasticidade da célula devido ao incremento da concentração de HbS intracelular, resultando no aumento da viscosidade no citosol, à polimerização da HbS e à rigidez da membrana.

Todos os fatores acima citados, associados a uma maior adesão da hemácia em aspecto de foice (falcizada), favorecem a formação de microtrombos na circulação periférica, principalmente em vasos de menor calibre. Estes microtrombos que são os responsáveis pelo quadro clínico do paciente com doença falciforme, incluindo os sintomas algícos, crises hemolíticas, esplenomegalia, priapismo, síndrome torácica aguda, acidente vascular cerebral e outros (BALLAS e MOHANDAS, 1996).

Manifestações clínicas da doença

As manifestações da anemia falciforme são variáveis, pois seu aspecto de aparecimento depende do grau de hemoglobina S e do grau de oxigenação da hemácia. Dentre os principais sintomas relacionados à anemia falciforme, alguns merecem destaque, tais como:

Crises algícas

Geralmente é a primeira manifestação clínica da anemia falciforme. É decorrente da isquemia tissular decorrente à obstrução do fluxo sanguíneo pelas hemácias em forma de foice – falcizadas (EJINDU et al., 2007). Ao mesmo tempo em que ocorre a dor, a isquemia leva a hipóxia tecidual e acidose, exacerbando a dor e o processo de falcização. As crises dolorosas ocorrem entre 4 a 6 dias, podendo persistir por semanas.

Hipóxia, infecção, febre, acidose, desidratação e exposição ao frio extremo podem precipitar as crises algícas (EJINDU et al., 2007; ALMEIDA e ROBERTS, 2005).

Em pacientes idosos, a dor é mais comum em extremidades, abdômen e costas, podendo estas ser desencadeadas por depressão ou exaustão (ALMEIDA e ROBERTS, 2005).

Em crianças, a dor mais comum é a dactilite ou síndrome mão-pé (EJINDU et al., 2007; ALMEIDA e ROBERTS, 2005).

Manifestações músculo esqueléticas coexistem, sendo difícil o diagnóstico diferencial com osteomielite, artrite séptica, sinovite e febre reumática. A dor abdominal pode simular abdômen agudo cirúrgico ou in-

feccioso, ou processos ginecológicos (MEDDEB et al., 2003).

Dor torácica aguda

Caracterizada por dor aguda de forte intensidade, acompanhada de febre, tosse, dispnéia moderada a grave. Pode estar associada com hipoxemia e hipercapnia (BENNETT e NAMNYAK, 1990; ARDILES e DARK, 2007).

Geralmente é causada por infecção, embolia de medula óssea necrótica, vaso-oclusão pulmonar e sequestro esplênico. A mortalidade é alta se medidas suportivas não forem tomadas (SIDDIQUI e AHMED, 2003).

Febre

Devido à alta associação de infecções em pacientes com anemia falciforme, a febre é um dos sinais mais comuns (EJINDU et al., 2007; BENNETT e NAMNYAK, 1990).

O risco de septicemia ou até mesmo meningite por *Streptococcus pneumoniae* ou *Haemophilus influenzae* chega a ser 600 vezes maior em crianças com anemia falciforme. Tais infecções podem provocar morte em poucas horas (ARDILES e DARK, 2007; SIDDIQUI e AHMED, 2003).

Pneumonias, infecções renais e osteomielites também ocorrem com frequência maior em crianças e adultos com doença falciforme (SIDDIQUI e AHMED, 2003). Episódios de febre devem ser encarados como situações de risco (EJINDU et al., 2007).

Baixa imunidade

Os processos vaso-oclusivos repetidos no baço levam a asplenia funcional, uma redução da função esplênica, que diminui a capacidade imunológica, com conseqüente diminuição da opsonização (FRENETTE e ATWEH, 2007).

A diminuição da opsonização faz com que haja maior susceptibilidade de infecções por *Pneumococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*, germes encapsulados (ARDILES e DARK, 2007).

A asplenia funcional é máxima em torno de 5 anos de idade (SIDDIQUI e AHMED, 2003).

Deve-se iniciar um programa eficaz de imunizações afim de se evitar a asplenia funcional em crianças com anemia falciforme, antes dos 5 anos de idade (EJINDU et al., 2007; ALMEIDA e ROBERTS, 2005; BENNETT e NAMNYAK, 1990).

Crise aplásica

Caracterizada por sintomas de anemia aguda sem aumento do baço, podendo até mesmo ser acompanhada de sinais de choque hipovolêmico. Ocorre geralmente após processos infecciosos e a infecção pelo Parvovírus B19 é a de maior gravidade (WILLIAM e CORAZZA, 2007; SERVEY et al., 2007).

No exame laboratorial encontra-se a presença de reticulocitopenia, diferenciando-a da crise de seqüestro esplênico, onde há elevado número de reticulócitos (SIDDIQUI e AHMED, 2003).

Crise de seqüestro esplênico

É o acúmulo de grande volume de hemácias no baço levando a uma esplenomegalia e a uma diminuição súbita na hemoglobina plasmática, podendo levar a choque hipovolêmico (WILLIAM e CORAZZA, 2007).

É a causa mais comum de mortes em crianças com anemia falciforme, ocorrendo geralmente a partir dos 5 meses de vida, sendo rara após os 2 anos (WILLIAM e CORAZZA, 2007).

No exame laboratorial há aumento dos reticulócitos, pois a medula óssea continua em funcionamento, diferenciando-a da crise aplásica (SIDDIQUI e AHMED, 2003).

Litíase biliar

Ocorre em 14 % das crianças menores de 10 anos, em 30 % dos adolescentes e em 75% dos adultos portadores de anemia falciforme. Os cálculos biliares são múltiplos e em 60 % dos casos são radiopacos. Podem ser assintomáticos por muito tempo ou causar sintomas crônicos como empaxamento, náuseas, vômitos e dor no quadrante superior direito (KHATTAB et al., 2006).

As complicações mais comuns são a colecistite, obstrução do ducto biliar e, mais raramente, pancreatite aguda (FRENETTE e ATWEH, 2007).

Icterícia

Devido a menor sobrevivência dos eritrócitos na doença falciforme. A degradação aumenta os níveis séricos de bilirrubina, às custas de bilirrubina indireta, sendo freqüente a presença de icterícia. Esta pode ser exacerbada em situações de aumento da taxa de hemólise, como a que ocorre em infecções associadas (EJINDU et al., 2007).

No exame laboratorial há diminuição dos níveis de hemoglobina e aumento nos números de reticulócitos

(FRENETTE e ATWEH, 2007).

Acidente Vascular Encefálico

Ocorre em 10% dos pacientes com doença falciforme (MAZUMDAR et al., 2007) devido à isquemia e infarto decorrentes da obstrução de artérias cerebrais.

As manifestações neurológicas são geralmente focais e podem incluir hemiparesia, hemianestesia, deficiência do campo visual, afasia e paralisia de nervos cranianos. Sinais mais generalizados como coma e convulsões podem ocorrer (ADAMS et al., 1998).

A recidiva do acidente vascular cerebral provoca danos maiores e aumenta a mortalidade (ADAMS, 2000).

Úlceras de pernas

Presentes entre 8 a 10% dos portadores de doença falciforme, sendo mais comum após os 10 anos de vida (NOLAN et al., 2003).

As úlceras geralmente se localizam no terço inferior das pernas, próximas aos maléolos medial e lateral. Podem aparecer sobre a tíbia ou dorso do pé (SERJEANT et al., 2005).

Está associada a crises vaso-oclusivas e a microtraumatismos (NOLAN et al., 2003; SERJEANT et al., 2005).

Aborto

Na doença falciforme a gravidez promove maior risco para a gestante e o aborto espontâneo ocorre freqüentemente. Apesar dos riscos, não se contra-indica uma gravidez desejada (XU et al., 1999).

Todas as mulheres devem, porém, ser informadas do risco de abortamento (XU et al., 1999).

Priapismo

É a ereção dolorosa do pênis, que pode ocorrer em episódios breves e recorrentes ou em episódios longos, podendo causar impotência sexual. Ocorre com relativa freqüência, devido à baixa tensão de oxigênio e estase pela congestão venosa do pênis em ereção, o que cria condições para trombose e oclusão vascular, podendo deixar seqüelas orgânicas e causar impotência. Pode acompanhar-se de dor abdominal, dor perineal, disúria, retenção urinária, edema escrotal e aumento de próstata (GBADDOE et al., 2007; ELLIOTT et al., 2007; HSU et al., 2006).

Manifestações oculares

As alterações oculares podem afetar a conjuntiva, retina, coróide e câmara anterior do olho, e caracterizam-se pela tortuosidade e dilatação das

vênulas. Tais alterações decorrem da falcização dos eritrócitos (CUSICK et al., 2007).

Existem dois tipos de retinopatia nos pacientes com doença falciforme: proliferativa e a não-proliferativa. A retinopatia não-proliferativa inclui oclusões vasculares, hemorragia da retina e alterações maculares. Essas alterações geralmente não afetam a acuidade visual. Já a retinopatia proliferativa se caracteriza por uma neovascularização retiniana, acometendo pacientes com idade entre 20 e 40 anos (ADEWOYE et al., 2006; WITKIN et al., 2006).

Diagnóstico da doença

O diagnóstico de anemia falciforme deve ser considerado principalmente em pacientes de cor negra ou afro-descendentes.

Hemograma

No caso de traço falcêmico, o hemograma pode apresentar discreta anemia ou se apresentar normal.

O hemograma apresenta uma anemia hemolítica, na maioria das vezes normocrômica e normocítica. Em alguns casos pode ser hipocrômica ou macrocítica. Há sinais indiretos de hemólise devido os achados de hiperbilirrubinemia indireta e reticulocitose (SIDDIQUI e AHMED, 2003).

A presença de leucocitose com moderada neutrofilia não se correlaciona necessariamente com infecção. Trombocitose é mais comum em quadros de crises de vaso-oclusão, enquanto que a trombocitopenia é mais comum nos quadros de seqüestro esplênico (WILLIAM e CORAZZA, 2007).

Ao exame microscópio de sangue periférico, a presença de anisopoiquilocitose e policromasia são bastante comuns. Dentre estes, destacam-se a presença de hemácias em forma de foice e um grande número de eritroblastos em várias formas maturativas. Quando se observa eritroblastos de tamanhos aumentados, há a presença de reticulocitose ou a carência de folato associados ao quadro de anemia (SIDDIQUI e AHMED, 2003; SONATI et al., 1996).

Teste do afoiçamento (Falcização)

O teste é realizado coletando-se aproximadamente 3 ml de sangue periférico em tubos contendo EDTA de pacientes em jejum de no mínimo 4 horas. Tais tubos podem ser refrigerados por até 24 horas. Em seguida, faz-se a incubação das hemácias com metabissulfito de sódio a 2 % por certo período de

tempo (varia conforme kit laboratorial) e o preparo é analisado em microscópio. A presença de grande quantidade de eritrócitos reduzidos confirma a presença de hemoglobina S (RUIZ e ÂNGELA, 1988; VICHINSKY e LUBEN, 1987).

Vale lembrar que o teste do afoiçamento indica a presença de hemoglobina S, porém não faz a distinção entre Anemia Falciforme, Traço Falciforme e heterozigotos com talassemia (RUIZ e ÂNGELA, 1988), sendo portanto um importante teste de triagem.

Eletroforese de proteínas

Eletroforese é uma técnica baseada na separação de partículas em um determinado gel, a base de agarose ou poliacrilamida, de acordo com sua massa e carga. Tal gel possui trama de poros de tamanhos variáveis, possibilitando a separação dos fragmentos de acordo com a intensidade e voltagem aplicada. É utilizado para separação de diversas moléculas orgânicas, como lipoproteínas, proteínas, RNA e DNA (MARENOROWE, 1945; VELLA, 1968).

Para a confirmação diagnóstica de anemia falciforme, a técnica mais eficaz é a eletroforese em gel de agarose em pH alcalino (variando de 8 a 9). É realizada em meio básico pois permite análises qualitativas e quantitativas das frações da hemoglobina. Associa-se a técnica da eletroforese em gel de agarose em pH ácido para diferenciar a heterozigose entre hemoglobina S e hemoglobina D, que apresentam migrações similares em pH alcalino (NAOUM, 1990).

Quadro 1 - Quadro-Eletroforese da hemoglobina em meio básico em gel de agarose.

hemoglobina	A	■	■				campo elétrico +
	F				—		
	S		■	■	■	■	
	A ₂	■	■	■	■	■	
	AA						
	AS						
							-
AA - Hemoglobina padrão normal (Hb AA) AS - Portador assintomático (Hb AS) SS - Anemia Falciforme (HbSS) S-Tal - Aumento hemoglobina A ₂ e hemoglobina F SC - Dupla heterozigose hemoglobinas S e C SD - Dupla heterozigose hemoglobinas S e D							

O quadro acima mostra um exemplo da eletroforese da hemoglobina em meio básico em gel de agarose, sendo que a esquerda encontram-se os diferentes tipos de hemoglobina e a direita está representado o campo elétrico. Observa-se que as migrações das duplas heterozigotes SC e SD são similares, necessitando para esta diferenciação a eletroforese em meio ácido. Vale lembrar que a presença de hemoglobina D na população brasileira é extremamente rara, numa relação de 1 caso para cada 5 mil pessoas analisadas. Com isso, o teste da eletroforese em meio básico geralmente confirma o diagnóstico em associação com a clínica e outras alterações no exame hematológico.

Tratamento da doença

O tratamento precoce é indispensável para a sobrevivência de crianças com o diagnóstico de anemia falciforme, pois é uma das doenças que mais levam a óbito. Vale lembrar que cerca de 25% a 30% das crianças menores de 5 anos morrem devido a complicações da mesma (DI NUZZO e FONSECA, 2004).

As opções atualmente disponíveis e consideradas eficazes para o tratamento da anemia falciforme são o transplante de medula óssea (TMO) e a hidroxiuréia. O transplante é considerado medida curativa, porém sua aplicação é restrita, devido à necessidade de doador compatível e a alta taxa de complicações (BUCHANAN et al., 2004; FERSTER et al., 2001; SCHNOG et al., 2004).

Considerações finais

De acordo com a literatura consultada, a anemia falciforme apesar de ser considerada uma doença da raça negra, afeta grande parte da população brasileira, devido a grande miscigenação racial. A maior parte da população é portadora e não apresenta manifestações clínicas. Devido a este fato mais estudos de triagem devem ser realizados para verificar a real prevalência dos pacientes portadores e com a anemia falciforme.

A forma mais precisa de diagnosticar a doença é por meio do teste da eletroforese da hemoglobina, que apresentará a hemoglobina S em grande quantidade.

O diagnóstico precoce permite o tratamento adequado da doença, evitando suas complicações como crises algicas, dor torácica aguda, alterações hematológicas, priapismo, úlceras, infartos e outros.

REFERÊNCIAS

1. SAIZ, A; RODRIGUEZ, J. A. Respuesta inmune humoral anti-streptococcus pneumoniae en pacientes con anemia de células falciformes: Descripción de un caso. Rev. Asoc. Colomb. Alerg. Inmunol;8(3):54-54, sept. 1999.
2. BANDEIRA FMGC, LEAL MC, SOUZARR, FURTADO VC, GOMES YM, MARQUES NM. Características de recém-nascidos portadores de hemoglobina S detectados através de triagem em sangue de cordão umbilical. J Pediatr (Rio de J). 1999;75(3):167-71.
3. GALIZA NETO, GENTIL CLAUDINO DE et al. Análise dos haplótipos do gene da S^S-globina no Ceará . **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, Out 2005, vol.41, no.5, p.315-321.
4. GÓMEZ-CHIARI M, PUIGBERT JT, ARAMBURU JO. Drepanocitosis: experiência de um centro. An Pediatr. 2003;58:95-9.
5. INÍGUEZ ED, LÓPEZ MAC, JULIAN MEC, GARCÍA PG. Detección precoz neonatal de anemia falciforme y otras hemoglobinopatías en la comunidad autónoma de Madrid. Estudio piloto. An Pediatr. 2003; 58:146-55.
6. NAOUM, P. C. **Hemoglobinopatias e talassemias**. Ed. Sarvier, 1997.
7. WHO. Working Group – Hereditary anemias: genetics basis, clinical features, diagnosis and treatment. **Bull WHO**, v. 60, p. 643-60, 1982.
8. BOK YOO, HUGO HYUNG et al. Síndrome aguda do tórax como primeira manifestação de anemia falciforme em adulto. **J. Pneumologia**, Jul. 2002, vol.28, no.4, p.237-240.
9. WEATHERALL DJ, CLEGG JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Organ 2001;79(8):704-12.
10. NAOUM PC, ALVAREZ F, DOMINGOS CRB, FERRARIF, MOREIRA HW, SAMPAIO Z, et al. Hemoglobinas anormais no Brasil: prevalência e distribuição geográfica. Rev Bras Patol Clin 1987;23(3):68-79.
11. RAMALHO AS, MAGNA LA, PAIVA E SILVA RB. A portaria no 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. Cad Saúde Pública 2003;19(4):1195-9.
12. PAIXÃO MC, CUNHA FERRAZ MH, JANUARIO JN, VIANA MB, LIMA JM. Realibility of isoelectrofocusing for the detection of Hb S, Hb C, and Hb D in a pioneering

- population-based program of the newborn screening in Brazil. *Hemoglobin* 2001;25(3):297-303.
13. LOBO CLC, BUENO LM, MOURA P, OGEDA LL, CASTILHO S, CARVALHO SMF. Triagem neonatal para hemoglobinopatias no Rio de Janeiro, Brasil. *Ver Panam Salud Pública* 2003;13:154-9.
 14. GALIZA NETO, GENTIL CLAUDINO DE, PITOMBEIRA, MARIA DA SILVA. Aspectos moleculares da anemia falciforme. *J. Bras. Patol. Med. Lab.*, 2003(1):3951-56.
 15. BUNN, H.F. e FORGET, B.G Hemoglobin: molecular, genetic and clinical aspects. 1. ed. W.B. Saunders Company, 1986, 690p.
 16. BALLAS, S.K. e MOHANDAS, N. Pathophysiology of vaso-occlusion. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 10(6), 1996.
 17. EJINDU VC, HINEAL, MASHAYEKHIM, SHORVON PJ, MISRA RR. Musculoskeletal manifestations of sickle cell disease. *Radiographics*. 2007 Jul- Aug; 27(4):1005-21. Review.
 18. ALMEIDA A, ROBERTS I. Bone involvement in sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2005 May; 129(4):482-90. Review.
 19. MEDDEB N, GANDOURA N, GANDOURA M, SELLAMI S. Osteoarticular manifestations of sickle cell disease. *Tunis Med*. 2003 Jul; 81(7):441-7. Review.
 20. BENNETT OM, NAMNYAK SS. Bone and joint manifestations of sickle cell anaemia. *J Bone Joint Surg Br*. 1990 May; 72(3):494-9.
 21. ARDILES T, DARK D. Pulmonary complications of sickle cell disease in adults. *Mo Med*. 2007 May-Jun; 104(3):250-4. Review.
 22. SIDDIQUI AK, AHMED S. Pulmonary manifestations of sickle cell disease. *Postgrad Med J*. 2003 Jul; 79(933):384-90. Review.
 23. FRENETTE PS, ATWEH GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. *J Clin Invest*. 2007 Apr; 117(4):850-8. Review.
 24. WILLIAM BM, CORAZZA GR. Hyposplenism: a comprehensive review. Part I: basic concepts and causes. *Hematology*. 2007 Feb; 12(1):1-13. Review
 25. SERVEY JT, REAMY BV, HODGE J. Clinical presentations of parvovirus B19 infection. *Am Fam Physician*. 2007 Feb 1; 75(3):373-6. Review.
 26. KHATTAB AD, RAWLINGS B, ALI IS. Care of patients with haemoglobin abnormalities: history and biology. *Br J Nurs*. 2006 Oct 12-25; 15(18):994-8. Review.
 27. MAZUMDAR M, HEENEY MM, SOX CM, LIEU TA. Preventing Stroke Among Children With Sickle Cell Anemia: An Analysis of Strategies That Involve Transcranial Doppler Testing and Chronic Transfusion. *Pediatrics*. 2007 Sep
 28. ADAMS RJ, MCKIE VC, HSUL L, FILES B, VICHINSKY E, PEGELOW C, ABOUD M, GALLAGHER D, KUTLAR A, NICHOLS FT, BONDS DR, BRAMBILLAD. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography. *N Engl J Med*. 1998 Jul 2; 339(1):5-11
 29. ADAMS RJ. Lessons from the Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP) study. *J Child Neurol*. 2000 May; 15(5):344-9. Review.
 30. NOLAN VG, ADEWOYE A, BALDWIN C, WANG L, MA Q, WYSZYNSKI DF, FARRELL JJ, SEBASTIANI P, FARRER LA, STEINBERG MH. Sickle cell leg ulcers: associations with haemolysis and SNPs in Klotho, TEK and genes of the TGF-beta/BMP pathway. *Br J Haematol*. 2006 Jun; 133(5):570-8.
 31. SERJEANT GR, SERJEANT BE, MOHAN JS, CLAREA. Leg ulceration in sickle cell disease: medieval medicine in a modern world. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2005 Oct; 19(5):943-56, viii-ix. Review.
 32. XU K, SHI ZM, VEECK LL, HUGHES MR, ROSENWAKS Z. First unaffected pregnancy using preimplantation genetic diagnosis for sickle cell anemia. *JAMA*. 1999 May 12; 281(18):1701-6.
 33. GBADOE AD, GERALDO A, GUEDENON K, KOFFIS, AGBETIAFA K, AKPAKO P. Stuttering priapism in children with sickle cell anemia in Togo. *Arch Pediatr*. 2007 Jul; 14(7):861-3. Epub 2007 Apr 24.
 34. ELLIOTT L, ASHLEY-KOCH AE, DE CASTRO L, JONASSAINT J, PRICE J, ATAGAKI, LEVESQUE MC, BRICE WEINBERG J, ECKMAN JR, ORRINGER EP, VANCE JM, TELEN MJ. Genetic polymorphisms associated with priapism in sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2007 May; 137(3):262-7.
 35. HSU L, DIWAN B, WARD JM, NOGUCHI CT. Pathology of "Berkeley" sickle-cell mice includes gallstones and priapism. *Blood*. 2006 Apr 15; 107(8):3414-5.
 36. CUSICK M, TOMAHS, HWANG TS, BROWN JC, MILLER NR, ADAMS NA. Binasal visual field defects from simultaneous bilateral retinal infarctions in sickle cell disease. *Am J Ophthalmol*. 2007 May; 143(5):893-6.
 37. ADEWOYE AH, RAMSEY J, MCMAHON L, SAKAI O, STEINBERG MH. Lacrimal gland enlargement in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2006 Nov; 81(11):888-9.
 38. WITKIN AJ, ROGERS AH, KO TH, FUJIMOTO JG, SCHUMAN JS, DUKER JS. Optical coherence tomography demonstration of macular infarction in sickle cell retinopathy. *Arch Ophthalmol*. 2006 May; 124(5):746-7.
 39. SONATI, E. et al. Hereditary hemoglobinopathies in a population from Southeast Brazil. *Hemoglobin*, v. 20, n. 2, p. 175 – 179, 1996.
 40. RUIZ M.A., ANGELA I. Proposta de um protocolo para portadores de doença falciforme. *Boletim*. 1988; 10:183-190.

41. VICHINSKY E., LUBEN B.H. Suggested guidelines for the treatment of children with sickle cell anemia. *Hematology/Oncology clinics of North America*. 1987; 11:183-498.
42. MARENGO-ROWE, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of haemoglobin on cellulose acetate. *J. Clin. Pathol.*, v.18, p.790-92, 1965.
43. VELLA, F. Acid agar gel electrophoresis of human hemoglobins. *Am. J. Clin. Pathol* v. 49, p.440, 1968.
44. NAOUMP. Eletroforese: técnicas e diagnósticos. São Paulo: Santos; 1990, p. 91.
45. DI NUZZO DVP, FONSECA SF. Anemia falciforme e infecções. *Jornal de Pediatria* 2004;80(5):347-354.
46. BUCHANAN GR, et al. Sickle Cell Disease. *American society of Hematology* 2004; 35-47.
47. FERSTER A, et al. Five years of experience with hydroxyurea in children and young adults with sickle cell disease. *Blood* 2001; 97(11):3.628-3.632.
48. SCHNOG JB, et al. Sickle cell disease; a general overview. *The Journal of Medicine* 2004;62(10):364-374.