

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**THIAGO DE OLIVEIRA FERRÃO**

**COMPARAÇÃO ENTRE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E  
HISTOPATOLOGIA NA ESTIMATIVA DA SOBRECARGA DE  
FERRO HEPÁTICO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME**

**ARACAJU  
2010**

**THIAGO  
FERRÃO**

**COMPARAÇÃO ENTRE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA E HISTOPATOLOGIA NA ESTIMATIVA  
DA SOBRECARGA DE FERRO HEPÁTICO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME**

**2010**

**THIAGO DE OLIVEIRA FERRÃO**

**COMPARAÇÃO ENTRE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA  
E HISTOPATOLOGIA NA ESTIMATIVA DA  
SOBRECARGA DE FERRO HEPÁTICO EM  
PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME**

Dissertação apresentada ao Núcleo de Pós-Graduação  
em Medicina da Universidade Federal de Sergipe  
como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre  
em Ciências da Saúde.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosana Cipolotti

**ARACAJU  
2010**

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

F372c Ferrão, Thiago de Oliveira  
Comparação entre ressonância magnética e histopatologia na  
estimativa da sobrecarga de ferro hepático em portadores de  
anemia falciforme / Thiago de Oliveira Ferrão. – Aracaju, 2010.  
00 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade  
Federal de Sergipe, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa,  
Núcleo de Pós-Graduação em Medicina.

Orientador (a): Profa. Dra. Rosana Cipolotti.

1. Anemia falciforme 2. Transfusão de eritrócitos 3. Diagnóstico  
por imagem 4. Histopatologia 5. Biópsia 6. Fígado 7. Ressonância  
magnética 8. Hematologia I. Título

CDU 616.155.194-091.8



Àqueles que me têm contribuído  
para a edificação profissional,  
sobre firme alicerce construído  
inefável tesouro cultural,  
com zelo e humildade acumulado,  
fonte de permanente aprendizado,  
dedico.

## AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus Todo-Poderoso, pela vida, pela saúde, pela infinita misericórdia e pelo dom da sabedoria.

À minha família, em especial meus pais e meus irmãos, pelo apoio, pelo carinho e pelo incentivo perene.

A minha querida esposa Elaine, fonte de amor abundante e incomparável, pela dedicação, pela compreensão, pelo afeto imane; pela inefável dádiva de Heleninha, primeiro fruto de nossa união, que em breve estará conosco.

A minha orientadora Rosana, mestra e amiga, pela atenção incondicional, pela paciência, primor acadêmico e sapiência, e pela jornada iniciada na Graduação (PIBIC, monografia de conclusão de curso, seleção para Magistério Superior, Mestrado) e que certamente seguirá pelo Doutorado adiante.

Ao Centro de Medicina Integrada de Sergipe (CEMISE) e a Dr.<sup>a</sup> Miriam Peres de Oliveira Krauss, pelo crédito, pela oportunidade e pela inestimável participação na realização dos exames de imagem.

Ao Dr. Alex Vianey, pelas sugestões, por compartilhar sua experiência conosco e pela destreza e desenvoltura na realização das biópsias hepáticas.

Ao Dr. Hugo Brito, pelo esmero e minúcia na leitura das amostras teciduais.

Ao Dr. Alan Chester, pela cooperação e indispensável colaboração à execução do trabalho.

Aos recém-colegas Lécio, Lorena e Ricardo, pela árdua operacionalização, pelo empenho valoroso e pela incomensurável atuação. Um futuro brilhante vos aguarda!

Ao Dr. Amaury Lélis Dal-Fabbro, pela contribuição significativa no preparo estatístico.

Aos docentes do Núcleo de Pós-Graduação em Medicina, pela condução dos conteúdos necessários à nossa capacitação.

Aos colegas mestrandos, pelo trabalho conjunto, pela troca de experiências e pela convivência proveitosa.

Aos pacientes e seus familiares, pela simpatia, confiança e participação como sujeitos da pesquisa, nosso respeito e profunda gratidão.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

O que sabemos é uma gota, o que  
ignoramos, um oceano.  
Isaac Newton

Mestre não é quem sempre ensina,  
mas quem de repente aprende.  
João Guimarães Rosa

## RESUMO

Este trabalho propôs-se a comparar ressonância magnética (RM) com biópsia hepática como ferramentas para identificação e quantificação da sobrecarga hepática de ferro em pacientes portadores de anemia falciforme (AF) que utilizam transfusão de hemácias. Com delineamento transversal, neste estudo foram comparados os resultados da dosagem de ferritina sérica basal (na ausência de intercorrências agudas), da concentração hepática estimada de ferro através de ressonância magnética, e da determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático (critérios de Scheuer) obtido por biópsia percutânea. Observou-se correlação estatisticamente significativa ( $r = 0,75$ ) entre os cinco graus de sobrecarga de ferro identificada em fragmento de tecido hepático e a concentração média estimada de ferro calculada a partir da intensidade de sinal detectada por RM ( $p = 0,0007$ ), relação que se mantém quando se agrupa os resultados em categorias sem sobrecarga ou sobrecarga discreta (Scheuer zero e 1) e com sobrecarga (Scheuer 2 a 4), com  $p = 0,004$ . A RM foi capaz de diferenciar pacientes com e sem sobrecarga de ferro quando comparada aos dados histológicos. Por ser método não-invasivo pode ser utilizado em substituição à biópsia hepática para seguimento dos pacientes com AF, quando não houver doença hepática associada. Até o momento, é o primeiro estudo a fazer essa avaliação em pacientes com AF.

**DESCRITORES:** Anemia Falciforme; Transfusão de Eritrócitos; Ferritina; Imagem por Ressonância Magnética; Biópsia/Fígado.

## **ABSTRACT**

The aim of this cross-sectional study was to compare MRI with liver biopsy as a tool for identification and quantification of liver iron overload in patients with sickle cell anemia using blood transfusions. We compared the results of the baseline serum ferritin in the absence of acute complications, the estimated liver iron concentration by magnetic resonance imaging and semiquantitative determination of iron in a fragment of liver tissue obtained by percutaneous biopsy. We observed a statistically significant correlation ( $r = 0.75$ ) between the degree of iron overload identified in a fragment of liver tissue (Scheuer criteria) and the estimated mean concentration of iron calculated from the intensity of the signal detected by MRI ( $p = 0.0007$ ). This relationship persists when we aggregate the results in two groups: without or minimal overload (Scheuer zero and one) and presence of overload (Scheuer 2- 4),  $p = 0.004$ . MRI was able to differentiate patients with and without iron overload when compared with histological data. MRI is a non-invasive method and can be used to replace liver biopsy for monitoring patients with sickle cell anemia when there is no associated liver disease. To date, this is the first study to make this assessment in patients with sickle cell anemia.

**KEY WORDS:** Sickle Cell Anemia; Erythrocyte Transfusion; Ferritin; Magnetic Resonance Imaging; Biopsy/Liver.

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PARÂMETROS DAS SEQUÊNCIAS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	17
TABELA 2 – GRADUAÇÃO DA SOBRECARGA FÉRRICA SEGUNDO SCHEUER (DEUGNIER, 2007). ....	19
TABELA 3 – DADOS DESCRITIVOS DA AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO DOS PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME DO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, 2010 .....	22
TABELA 4 – COMPARAÇÃO ENTRE DADOS CLÍNICOS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010. ....	25
TABELA 5 – COMPARAÇÃO ENTRE IDADE, DADOS LABORATORIAIS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010.....	25
TABELA 6 – COMPARAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA ESTIMADA DE FERRO (CHEF) E DETERMINAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DE FERRO (SCHEUER) EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010.....	27

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – SOBRECARGA DISCRETA DE FERRO HEPÁTICO, SCHEUER 1, CHEF = 20.....	23
FIGURA 2 – SOBRECARGA ACENTUADA DE FERRO HEPÁTICO, SCHEUER 4, CHEF = 286.....	24
FIGURA 3 – CORRELAÇÃO ENTRE NÚMERO DE TRANSFUSÕES E CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE FERRO (CHEF). ....	26
FIGURA 4 – CORRELAÇÃO ENTRE FERRITINA E CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE FERRO (CHEF).....	26
FIGURA 5 – CORRELAÇÃO ENTRE CLASSIFICAÇÃO DE SCHEUER E CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE FERRO (CHEF) .....	27
FIGURA 6 – CORRELAÇÃO ENTRE CLASSIFICAÇÃO DE SCHEUER E FERRITINA SÉRICA.....	28
FIGURA 7 – CURVA ROC ( <i>RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC</i> ).....	29
FIGURA 8 – COMPARAÇÃO ENTRE DUAS CURVAS ROC TRAÇADAS COM BASE EM PONTOS DE CORTE DISTINTOS.....	32

## LISTA DE SIGLAS

AF	– Anemia Falciforme
ALT	– Alanina Transaminase
ANOVA	– Analysis of Variance
AST	– Aspartato Transaminase
BMS	– Biomagnetic Susceptometry
CAG	– Citosina-Adenina-Guanina
CEMISE	– Centro de Medicina Integrada de Sergipe
CHEF	– Concentração Hepática Estimada de Ferro
CTG	– Citosina-Timina-Guanina
DNA	– Deoxyribonucleic Acid
FOV	– Field of Vision
GRE	– Gradiente Eco
HbF	– Hemoglobina Fetal
HbS	– Hemoglobina S
HE	– Hematoxilina-Eosina
HU/UFS	– Hospital Universitário/Universidade Federal de Sergipe
INR	– International Normalized Ratio
PI	– Ponderação Intermediária
RIS	– Razão da Intensidade de Sinal
RM	– Ressonância Magnética
ROC	– Receiver Operating Characteristic
ROI	– Region of Interest
SQUID	– Superconducting Quantum Interference Device
TCLE	– Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TE	– Tempo de Eco
TR	– Tempo de Repetição
TSE	– Turbo Spin Eco

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\pm$	– Mais ou Menos
$>$	– Maior que
$<$	– Menor que
$\beta$	– Beta
$\text{cm}^2$	– Centímetro Quadrado
$e$	– Número de Euler
$f$	– Frequência
$\text{Fe}^{3+}$	– Ferro no Estado Férrico
$\text{Fe}^{2+}$	– Ferro no Estado Ferroso
$\text{FiO}_2$	– Fração Inspirada de Oxigênio
$\text{H}_2\text{O}_2$	– Peróxido de Hidrogênio
$\kappa$	– Teste Kappa
L/min	– Litro por Minuto
$md(mín; máx)$	– Mediana (Valor Mínimo; Valor Máximo)
$\mu\text{g/L}$	– Micrograma por Litro
$\mu\text{mol/g}$	– Micromol por Grama
$\mu\text{T}$	– Microtesla
mg	– Miligrama
mg/dL	– Miligrama por Decilitro
mg/g	– Miligrama por Grama
mL/kg	– Mililitro por Quilograma
mm	– Milímetro
$\text{mm}^3$	– Milímetro Cúbico
ms	– Milissegundo
ng/mL	– Nanograma por Mililitro
$\text{OH}\cdot$	– Radical Hidroxila
p	– Probabilidade de Significância Estatística
pH	– Potencial Hidrogeniônico
®	– Marca Registrada
r	– Coeficiente de Correlação de Pearson
UI/L	– Unidades Internacionais por Litro
$\bar{x} \pm s$	– Média mais ou menos Desvio-padrão

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	3
2.1 DEFINIÇÕES.....	3
2.2 EPIDEMIOLOGIA.....	3
2.3 FISIOPATOLOGIA.....	4
2.4 HEMOTRANSFUSÃO.....	5
2.5 SOBRECARGA DE FERRO TRANSFUSIONAL.....	6
2.6 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA DE FERRO.....	8
2.6.1 Ferritina.....	9
2.6.2 Ressonância Magnética.....	9
2.6.3 Biópsia Hepática.....	11
2.7 QUELANTES DE FERRO.....	12
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	14
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	15
4.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO.....	15
4.2 TIPO DE ESTUDO.....	15
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	15
4.4 CASUÍSTICA.....	16
4.5 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA.....	16
4.6 BIÓPSIA HEPÁTICA.....	18
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4.8 ASPECTOS ÉTICOS.....	20
<b>5 RESULTADOS</b> .....	21
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	33
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	34
<b>APÊNDICE 1</b> .....	41
<b>APÊNDICE 2</b> .....	57

## 1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é a hemoglobinopatia hereditária mais freqüente no mundo, e afeta principalmente os negros (LOUREIRO, 2005). Herrick em 1910 descreveu as manifestações clínicas e hematológicas da doença e observou, à microscopia, hemácias anômalas e alongadas em um paciente de cor negra, com 20 anos de idade, estudante de Odontologia e procedente de Granada, país da América Central, sendo esta a primeira citação a respeito de AF na literatura (HERRICK, 1910 apud LONERGAN, 2001; FRENETTE, 2007; RUIZ, 2007).

A mutação pontual ocorre no cromossomo 11, mais precisamente no sexto códon do gene da cadeia  $\beta$  da hemoglobina A, com a substituição da base nitrogenada adenina (CAG) por timina (CTG), dando origem ao aminoácido valina ao invés de ácido glutâmico (GLADWIN, 2008; INATI, 2008). Esta mutação resulta na transformação da hemoglobina A em hemoglobina falciforme – Hemoglobina S (HbS). A união de duas mutações provenientes dos pais, sendo estes chamados de traço falciforme ou portadores da AF, resulta em um filho com AF. (MOREIRA, 2007). As moléculas de HbS podem sofrer polimerização provocando a alteração clássica dos glóbulos vermelhos, o fenômeno de falcização, quando as hemácias passam a se apresentar em forma típica de foice. Dentre os diversos mecanismos fisiopatológicos consequentes dessa mutação, a oclusão da microvasculatura com isquemia tecidual é característica (HSIEH, 2009).

A variabilidade das manifestações clínicas dessa anemia hemolítica crônica é o resultado da combinação de fatores hereditários e ambientais (DINIZ, 2006). O quadro clínico da AF é de amplo espectro e atinge diversos órgãos e sistemas, interferindo significativamente na qualidade de vida dos seus portadores. Crises algicas, síndrome mão-pé, necrose da cabeça do fêmur, crescimento e desenvolvimento puberal atrasado, síndrome torácica aguda, priapismo, seqüestro esplênico, fibrose esplênica progressiva, insuficiência renal crônica e acidente vascular encefálico são as principais apresentações clínicas da AF (DI NUZZO, 2004).

Transfusões sanguíneas são utilizadas nas complicações agudas da AF devido às opções terapêuticas para esses pacientes serem limitadas e esta condição apresentar alta taxa de morbidade (MURAO, 2005). Cerca de 20% a 30% dos pacientes com doença falciforme são submetidos à transfusão crônica de hemácias. Esses pacientes apresentam melhora do curso da doença, reduzindo o número de internações, crises vasooclusivas, síndrome torácica aguda. Todavia, esse regime de transfusão sanguínea tem como consequência o

desenvolvimento de sobrecarga de ferro após 10 a 20 unidades de concentrados de hemácias. Em poucos meses, esses pacientes evoluem para valores elevados de hemocromatose, o que lhes confere maior risco de complicações, como doença cardíaca e morte precoce (CANÇADO, 2007a).

Pode-se avaliar a concentração de ferro hepático, dentre outros métodos, através da dosagem de ferritina sérica, do estudo anatomopatológico de fragmento obtido por biópsia do fígado e por métodos de imagem como a ressonância magnética (RM) (FABRON JÚNIOR, 2003). A dosagem de ferritina tem sido descrita como um método falível no acompanhamento da sobrecarga hepática de ferro, pois a ferritina é uma proteína integrante da resposta inflamatória e esta é persistentemente ativada nos portadores de AF. A biópsia hepática, por outro lado, é um método invasivo que oferece riscos, como perfuração de outro órgão abdominal, sangramentos, infecções e extravasamento de bile (HARMATZ, 2000; OOI, 2004). O desconforto e os riscos ocasionados pela biópsia impulsionaram recentemente pesquisas com métodos não-invasivos para avaliar a sobrecarga hepática de ferro, como a RM, na tentativa de aprimorar a avaliação diagnóstica desses pacientes (ANGELUCCI, 2000).

Na tentativa de reduzir os altos níveis de ferro e de manter um balanço férrico adequado, têm-se utilizado quelantes de ferro, como a desferroxamina, a depender do grau de sobrecarga e das necessidades de transfusões sanguíneas (McLEOD, 2009).

A importância da disponibilização da RM para análise da concentração hepática do ferro consiste na possibilidade de minimizar a utilização da biópsia hepática para esse fim. A biópsia não é isenta de complicações e riscos; em crianças, demanda anestesia geral e internação prévia para avaliação clínica, estabilização e realização de exames complementares (hemograma completo e coagulograma com INR – *international normalized ratio*); após o procedimento, é necessário manter o paciente internado para compensação clínica (especialmente por crises dolorosas intensas) e para observação rigorosa (para afastar outras complicações, como hemorragia).

É fundamental a comparação entre RM e histopatologia (padrão-ouro) para verificar se existe boa correlação entre ambas, o que pode corroborar o uso regular desse exame de imagem na avaliação e controle da sobrecarga de ferro. Apesar do alto custo da realização da RM, é um método de simples execução, não-invasivo, isento de complicações, que não demanda internação, exames prévios nem observação rigorosa após sua realização, e que pode ser repetido de acordo com a necessidade do paciente.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 DEFINIÇÕES

A denominação “Doença Falciforme” se refere a um grupo de hemoglobinopatias cuja concentração de HbS nos eritrócitos é maior que 50%; dentre essas chama-se atenção para a AF pela sua alta prevalência e importância clínica (MENDONÇA, 2008). Para o paciente ser portador desta condição, verifica-se que este tem que possuir a forma homozigótica para a HbS; caso apresente a forma heterozigótica, torna-se portador de outras condições, como traço falciforme, hemoglobinopatia SC e hemoglobinopatia SD, quando associa-se respectivamente a hemoglobina A, hemoglobina C e hemoglobina D (YANAGUIZAWA, 2008).

Os elevados níveis de hemoglobina fetal (HbF) até o sexto mês confere ao paciente um período protetor contra os episódios de hemólise característicos dessa enfermidade. Esse fator de proteção ocorre pelo fato de a HbF ter maior afinidade pelo oxigênio e, com isso, inibe a polimerização da HbS e então a falcização do eritrócito (GLADWIN, 2008; MOUSINHO-RIBEIRO, 2008).

Estudos multicêntricos demonstraram a importância do uso da hidroxiuréia nos pacientes com AF, ao indicar que este agente quimioterápico aumenta o nível de HbF. Seu uso é indicado, principalmente, em pacientes que apresentam crises álgicas recorrentes e/ou síndrome torácica aguda. Além disso, tem-se observado que a hidroxiuréia auxilia na redução da adesão das hemácias falcizadas ao endotélio dos capilares sanguíneos (BATISTA, 2002; GULBIS, 2005).

### 2.2 EPIDEMIOLOGIA

A AF é uma das doenças genéticas de grande relevância epidemiológica no mundo e no Brasil (DINIZ, 2009). Ela é mais freqüente, mas não exclusiva, em afrodescendentes (GUIMARÃES, 2009), havendo o hábito em algumas tribos africanas de tatuar o corpo dos

portadores da doença. No Brasil, a HbS foi introduzida através do tráfico de escravos africanos, entre 1550 e 1850, inicialmente para a Região Nordeste e depois para Minas Gerais; após a abolição da escravatura, o fluxo migratório ocasionou a expansão da doença para todo o País (RUIZ, 2007).

No mundo, estima-se que nasçam anualmente 330 000 crianças portadoras de hemoglobinopatias, e dessas, 273 900 possuam algumas das Doenças Falciformes. Além disso, 3,4% dos óbitos em crianças com menos de cinco anos de idade ocorrem devido às hemoglobinopatias (MODELL, 2008).

No Brasil, a letalidade das crianças portadoras de AF é de 25%, sendo as principais causas as infecções por germes capsulados e as crises de seqüestro esplênico (DINIZ, 2009). Após a terceira década de vida ocorrem 80% das mortes dos pacientes com esta enfermidade (LOUREIRO, 2008). Há aproximadamente dois milhões de portadores do gene para doença falciforme no Brasil, sendo mais de oito mil portadores de AF. Estima-se que a cada ano nasçam 700 a 1000 novos portadores dessa enfermidade (YANAGUIZAWA, 2008). Nas regiões Norte e Nordeste é maior a prevalência de heterozigotos para HbS (4% a 10%), sendo que no Sul e Sudeste é de 2% a 3% (CANÇADO, 2007b).

Na capital de Sergipe, 4,5% dos recém-nascidos em 2007 apresentaram traço falciforme, e 1,3% apresentou traço para hemoglobina C (FERREIRA, 2009).

### 2.3 FISIOPATOLOGIA

A HbS polimeriza-se após sofrer estresse oxidativo ou desoxigenação. A polimerização ocasiona a mudança estrutural da forma da hemácia, que adquire a forma de foice. Essa mudança resulta em lentificação do fluxo pela microvasculatura provocando hemólise crônica e vasoclusão. Esses eventos têm como consequência importante as crises álgicas causadas pelos fenômenos isquêmicos (FIGUEIREDO, 2007; GLADWIN, 2008; MENDONÇA, 2009). Essa é a principal manifestação clínica nos portadores dessa doença (GUALANDRO, ANVISA, 2008).

Os fatores que propiciam a polimerização são perda da habilidade do eritrócito em manter sua hidratação e elevadas concentrações de hemoglobina corpuscular média. Essas alterações celulares provocam a perda da afinidade da hemácia pelo oxigênio. O eritrócito só

retorna a sua conformação normal quando novamente reoxigenado. Entretanto, a repetição da formação de polímeros dentro das hemácias tem como consequência múltiplas alterações celulares: efluxo de potássio; aumento do cálcio intracelular e da membrana; formação de polímeros de hemoglobina com proteínas da membrana, levando ao aumento da adesão de hemácias ao endotélio e provocando fenômenos inflamatórios; enrijecimento da membrana celular, diminuindo o tempo de vida da hemácia; lesões microvasculares; depleção do óxido nítrico (o que contribui para vasoconstrição) e ativação da inflamação (FIGUEIREDO, 2007; ZAGO, 2007).

Os danos às membranas dos eritrócitos diminuem o seu tempo de vida causando hemólise intravascular e extravascular. A hemólise acarreta hipertensão arterial pulmonar por aumento do tônus vascular. A lesão na superfície dos eritrócitos proporciona sua aderência ao endotélio dos vasos sanguíneos, processo que constitui a base de uma lesão proliferativa envolvendo células de defesa, plaquetas, células musculares lisas e fatores de crescimento, levando à obstrução do fluxo sanguíneo (PLATT, 2008).

As diversas apresentações clínicas da AF derivam da alteração molecular característica dessa doença. Uma única mutação genética é capaz de provocar diversos fenótipos num mesmo paciente (ZAGO, 2007). As manifestações incluem palidez, icterícia e elevação de bilirrubina indireta, de urobilinogênio urinário e de reticulócitos. A formação de cálculos biliares é comum, sendo o seu precipitador o acúmulo do bilirrubinato de cálcio devido à hemólise crônica. Outra característica marcante é a fibrose e atrofia do baço devido aos episódios recorrentes de vasooclusão neste órgão. Esta autoesplenectomia torna as crianças especialmente suscetíveis aos germes capsulados (GUALANDRO, ANVISA, 2008; ZAGO, 2007), sendo a principal causa de morte até os cinco anos a infecção grave por estes agentes, como pneumonia, meningite, e sepse. A profilaxia dessas infecções é mandatória no manejo dos pacientes com AF e deve ser realizada através do uso de penicilina dos três meses até os cinco anos de idade (BITARÃES, 2008).

## 2.4 HEMOTRANSFUSÃO

O regime crônico de transfusão sanguínea pode prevenir diversas manifestações clínicas nos pacientes portadores de AF (WAYNE, 2000), tais como, crises vasooclusivas,

síndrome torácica aguda e acidente vascular encefálico, demonstrando uma melhor evolução clínica (MILLER, 2001 apud CANÇADO, 2007b).

As transfusões sanguíneas melhoram a função cardiorrespiratória e o transporte de oxigênio e previnem complicações vasculares, uma vez que aumentam o hematócrito e diminuem o número de hemácias contendo HbS. Existem inúmeras situações clínicas em que a transfusão de hemácias está indicada de forma episódica ou crônica. A transfusão episódica está indicada em seqüestro esplênico, hiper-hemólise, síndrome torácica aguda, infecções graves, acidente vascular encefálico, aplasia transitória da série vermelha, anemia severa aguda, priapismo, úlcera maleolar, gravidez complicada e preparo cirúrgico. Já a transfusão crônica, repetida a intervalos de no máximo quatro semanas, pode prevenir novo episódio de acidente vascular encefálico e é também indicada em casos de falência renal, síndrome torácica aguda recorrente, crises dolorosas recorrentes e falência cardíaca (NAUFEL, 2002; RAGHUPATHY, 2010).

## 2.5 SOBRECARGA DE FERRO TRANSFUSIONAL

O íon ferro é elemento imprescindível para a vida humana, essencial para o metabolismo energético e transporte de oxigênio. Ferro tem a capacidade de captar e doar elétrons rapidamente, alternando-se entre as formas férrica ( $\text{Fe}^{3+}$ ) e ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ); esta propriedade torna-o componente útil de moléculas que se ligam a oxigênio (hemoglobina e mioglobina), de citocromos e de certas enzimas. No entanto, essa mesma propriedade é responsável por sua toxicidade: o ferro (na forma livre) catalisa as reações de Haber-Weiss e de Fenton, que convertem o inofensivo peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) em radicais livres ( $\text{OH}\cdot$ ), compostos capazes de peroxidar lipídios e de danificar a membrana celular, proteínas e DNA. Para evitar este problema, proteínas sequestram quase todo o ferro corporal: no plasma, circula fortemente ligado à transferrina; dentro das células, é reversivelmente incorporado à ferritina, ligado à protoporfirina (heme) ou associado a proteínas reguladoras (ANDREWS, 2000; RAGHUPATHY, 2010).

Um adulto normalmente possui de 3 a 4 gramas de ferro corporal total; a maior parte é destinada à produção de hemoglobina pelos precursores eritróides. Cada hemácia contém mais de um bilhão de átomos de ferro ligados à hemoglobina; em condições normais,

corresponde à incorporação de  $2 \times 10^{20}$  átomos de ferro por dia. A massa eritróide total contém cerca de 30mg de ferro por quilograma de peso corporal; quase todo o ferro restante é armazenado no fígado (ANDREWS, 2000).

A homeostase do ferro é mantida pela regulação precisa da absorção intestinal, de acordo com as necessidades corporais. No enterócito duodenal,  $Fe^{3+}$  é reduzido para  $Fe^{2+}$  por uma redutase férrica, na presença do pH baixo do efluxo gástrico;  $Fe^{2+}$  é conduzido para dentro da célula por uma proteína transportadora localizada na “borda em escova” apical. Na ausência de sobrecarga de ferro, parte do íon é armazenada no enterócito como ferritina, e o resto é transportado através da membrana basolateral pela ferroportina, uma proteína transmembrana. Na circulação, liga-se à transferrina e é levado ao fígado e à medula óssea. No hepatócito, receptores de transferrina medeiam a endocitose do ferro, que é armazenado como ferritina e liberado através da ferroportina quando as necessidades corporais aumentam. Na medula óssea, os receptores de transferrina dos precursores eritróides captam o ferro e utilizam-no na eritropoiese. Quando a hemácia envelhece, o ferro é mantido no interior dos macrófagos no sistema reticuloendotelial e armazenado como ferritina e hemossiderina; a saída do íon do macrófago é dependente da ferroportina (RAGHUPATHY, 2010).

O ferro é altamente danoso e reativo se encontrado livre, ou seja, não ligado à transferrina. Ele é encontrado livre quando a quantidade de ferro absorvida e/ou proveniente de transfusão de hemácias excede as quantidades perdidas e as necessárias para os compostos funcionais de ferro.

O corpo humano não possui mecanismo fisiológico efetivo para excretar o excesso de ferro. Quando ocorrem múltiplas transfusões sanguíneas, a transferrina torna-se saturada e o ferro excedente circula na forma livre, o que caracteriza sobrecarga (denominada secundária). Na ausência de um correto tratamento, o ferro em excesso deposita-se em diversos órgãos, como glândulas endócrinas, pâncreas, baço, coração e fígado (nos hepatócitos e no sistema reticuloendotelial), ocasionando lesão celular e tecidual, fibrose e insuficiência funcional (RAGHUPATHY, 2010).

A perda fisiológica de ferro que ocorre durante o período menstrual (cerca de 10mg) é compensada pelo ferro oriundo da dieta, e não interfere na quantificação da sobrecarga de ferro hepático (QUEIROZ-ANDRADE, 2009).

Hemocromatose é uma desordem causada pelo acúmulo do excesso do ferro nas células que tem como consequência o dano celular e a disfunção orgânica (SPARACIA, 2000). Pode ser primária, de caráter hereditário, com deposição de ferro no parênquima (hepatócito, miocárdio,

ácino pancreático, hipófise, gônadas); ou secundária a fatores diversos, como doença hepática alcoólica, anemia hemolítica e transfusão de sangue, com acúmulo do íon no sistema reticuloendotelial, em especial no fígado e no baço (sinusóides hepáticos, células de Kupffer, macrófagos) (ANDREWS, 2000; ERNST, 1997; GOMORI, 1991; RAGHUPATHY, 2010; SIEGELMAN, 1991).

Pode-se avaliar a intensidade de lesão hepática através dos níveis de transaminases (ALT, alalina transaminase; AST, aspartato transaminase), que estarão caracteristicamente altos. Além disso, este excesso de ferro tem grande impacto na morbimortalidade pelo comprometimento cardíaco, sendo importante causa de óbito. Esse elemento químico acumula-se nas células miocárdicas, nos músculos papilares e no epicárdio; após oito a dez anos de transfusão, se os pacientes não forem submetidos a quelação de ferro, podem desenvolver miocardiopatias, arritmias, insuficiência cardíaca. Portanto, é de grande importância o diagnóstico precoce de sobrecarga de ferro, evitando possíveis complicações através do uso do quelante de ferro (CANÇADO, 2007a).

## 2.6 MÉTODOS PARA AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA DE FERRO

As principais formas de avaliação da sobrecarga de ferro em pacientes falciformes que recebem concentrados de hemácias de forma ocasional ou regular são dosagem de ferritina, biópsia hepática e RM. A análise através da ferritina, método indireto de análise, pode não representar a realidade, pois este parâmetro sofre diversas influências. Estado febril ou doença aguda, por exemplo, pode elevar seu valor, o que faz diagnóstico diferencial com hemossiderose. O segundo parâmetro, a biópsia hepática, além de identificar a sobrecarga de ferro, é capaz de avaliar outras características que têm relação direta com o prognóstico do paciente; no entanto, é um método invasivo não isento de complicações. Por isso, tem-se procurado alternativa que possibilite verificar o nível de hemossiderose através de um método não-invasivo e que seja o mais fidedigno possível (CANÇADO, 2007a).

### 2.6.1 Ferritina

A dosagem da ferritina sérica requer um método de fácil utilização, de custo relativamente baixo e não-invasivo. Apresenta correlação com o nível de ferro no organismo - para cada 8 mg a 10 mg de ferro depositado, teremos 1 ng/mL de ferritina (CANÇADO, 2007a). Além disso, foi observado que pacientes portadores de AF com ferritina superior a 1500 ng/mL apresentam maior número de crises vasooclusivas, disfunções orgânicas e mortalidade do que os pacientes com ferritina inferior a 100 ng/mL (BALLAS, 2001). Sua análise é amplamente utilizada para acompanhar a sobrecarga de ferro em pacientes transfundidos, embora se saiba que não é um método acurado, pois diversas condições podem interferir na sua quantificação, como processos inflamatórios sistêmicos e doenças do fígado (GOMORI, 1991; HARMATZ, 2000; KARAM, 2008; MAZZA, 1995). É um teste de baixa sensibilidade e de baixa especificidade, com resultados falso-positivos na presença de etilismo crônico, e com resultados falso-negativos em pacientes jovens portadores de hemocromatose (QUEIROZ-ANDRADE, 2009).

### 2.6.2 Ressonância Magnética

Método não-invasivo, a RM é útil em pacientes que possuam contra-indicação absoluta para ser submetido a biópsia hepática. Este exame de imagem tem sido recentemente proposto como uma ótima alternativa para avaliar o grau de sobrecarga de ferro no fígado e em outros órgãos, como coração, rim e tecido endócrino (ALÚSTIZA, 2004; JENSEN, 2004; SCHEIN, 2008; SPARACIA, 2000).

Observou-se que a mensuração do excesso de ferro hepático através da RM é mais específica que através da dosagem de ferritina sérica (92% vs. 21%) em pacientes com níveis de ferro cinco vezes maior que o normal (BONKOVSKY, 1990). Esse estudo demonstrou que a RM possui maior sensibilidade e especificidade que outros métodos conhecidos. Entretanto, o custo desse exame é alto quando são necessárias avaliações seriadas durante o acompanhamento de pacientes com sobrecarga hepática de ferro, sendo talvez este um motivo para ainda estar em processo de padronização e validação (CANÇADO, 2007a; OOI, 2004).

Por outro lado, biópsias seriadas também se tornam impraticáveis devido aos riscos inerentes ao procedimento e ao grande desconforto ao qual o paciente é submetido (SCHEIN, 2008), além de limitações referentes à reprodutibilidade dos ensaios quantitativos e a erros de amostragem (OOI, 2004; RAGHUPATHY, 2010).

A RM mede indiretamente a concentração de ferro tecidual ao detectar o efeito paramagnético produzido pelo ferro armazenado (ferritina e hemossiderina) sobre os prótons da molécula de água. Esse efeito é avaliado pelo cálculo dos tempos de relaxamento T1 e T2. Ambos os tempos T1 e T2 dos prótons de água são encurtados na presença de partículas paramagnéticas (JENSEN, 2004). Algumas técnicas foram desenvolvidas na tentativa de estimar o grau de sobrecarga férrica tecidual, como a susceptometria biomagnética (BMS), a relaxometria e a razão de intensidade de sinal (RIS), sem a administração de meio de contraste. A BMS permite avaliar apenas fígado e baço, e as demais técnicas podem avaliar o ferro em qualquer órgão (CARNEIRO, 2004).

A medida da BMS é feita com a aplicação de um campo magnético alternado e homogêneo da ordem de 100  $\mu$ T na região hepática, com a mensuração simultânea da magnetização dos tecidos. Os tecidos biológicos e a água são diamagnéticos (fracamente repelidos por ímã natural), enquanto o ferro depositado é paramagnético (fracamente atraído por ímã natural). Materiais ferromagnéticos (níquel, cobalto) são fortemente atraídos por ímãs, mas não existem naturalmente no corpo humano. A amplitude da magnetização no tecido hepático com sobrecarga de ferro é da ordem de 500 vezes maior que a magnetização no tecido com concentração normal, e a intensidade destas magnetizações é da ordem de  $10^7$  vezes menor que a intensidade do campo aplicado. Portanto, sua medida só é possível com uso de detectores magnéticos ultrasensíveis denominados SQUID (*Superconducting Quantum Interference Device*). Apesar de ser o método mais preciso e de maior acurácia, é muito caro e disponível em poucas instituições no mundo, geralmente para fins de pesquisa (CARNEIRO, 2004; JENSEN, 2004; RAGHUPATHY, 2010).

A relaxometria cria mapas coloridos indicativos da presença de ferro baseados na constante R2 (o inverso de T2, ou  $1/T2$ ), superpostos às imagens anatômicas convencionais (CARNEIRO, 2006). Entretanto, apresenta restrições no cálculo de grandes concentrações de ferro e, comparada com RIS, possui menor correlação com o conteúdo de ferro hepático determinado por biópsia (GANDON, 1994; JENSEN, 2004).

RIS é a técnica que tem sido mais utilizada na maioria dos centros; é obtida pela divisão do T2\* médio do fígado pelo T2\* médio de um tecido de referência, geralmente a musculatura

paravertebral, permitindo a estimativa da concentração hepática de ferro através de fórmula específica. O T2\* médio é calculado a partir de duas a três medidas de intensidade de sinal em pequenas regiões do fígado e do músculo selecionadas pelo radiologista. É um método mais simples, mais disponível que a BMS e sem as limitações da relaxometria, e tem-se mostrado uma ferramenta promissora, com resultados satisfatórios na literatura (ALÚSTIZA, 2004; BONKOVSKY, 1999; JENSEN, 2004; OOI, 2004).

### 2.6.3 Biópsia Hepática

A análise da concentração hepática de ferro de material obtido por biópsia pode ser realizada de maneira qualitativa, com método histoquímico baseado na coloração do ferro com o azul da Prússia (Método de Perls), que permite avaliar de modo grosseiro a quantidade de ferro depositado no tecido. Vários sistemas de graduação da quantidade de ferro foram propostos. A graduação semiquantitativa pelo método de Scheuer tem sido amplamente utilizada porque é a mais simples, de fácil aplicação na rotina, embora não tenha sido validada satisfatoriamente. Seu escore varia de zero a 4, sendo zero considerado ausente, 1 considerado discreto e 2, 3 e 4 sinalizam aumento dos depósitos de ferro (DEUGNIER, 2007).

Além da análise qualitativa, pode ser feito o estudo quantitativo através da determinação bioquímica da concentração hepática de ferro, em  $\mu\text{mol/g}$  de tecido seco, por colorimetria ou por espectrofotometria de absorção atômica. O estudo bioquímico é o mais específico e sensível, contudo possui custo elevado e disponibilidade limitada a alguns centros (CANÇADO, 2007a; HAMARTZ, 2000). Em indivíduos saudáveis, a concentração de ferro hepático varia de  $10\mu\text{mol/g}$  a  $36\mu\text{mol/g}$ ; sobrecarga leve, até  $150\mu\text{mol/g}$ ; sobrecarga moderada, entre  $150\mu\text{mol/g}$  e  $300\mu\text{mol/g}$ ; sobrecarga importante, acima de  $300\mu\text{mol/g}$ . Resultados obtidos a partir de fragmento fresco e de blocos desparafinizados são equivalentes (DEUGNIER, 2007).

Pode-se avaliar a intensidade e extensão do processo inflamatório hepático, quando presente, bem como a presença ou ausência de cirrose através da biópsia hepática. Entretanto é um procedimento invasivo, não isento de complicações, que requer médico habilitado e pode ter seu resultado comprometido nos casos de amostra inadequada ou de distribuição

heterogênea do ferro no parênquima hepático, principalmente em pacientes portadores de fibrose e cirrose (CANÇADO, 2007a; McLEOD, 2009; ANGELUCCI, 2000).

São elegíveis para realização da biópsia hepática pacientes portadores de anemia falciforme submetidos à transfusão sanguínea crônica; com níveis de ferritina sérica acima de 1000 µg/L (ALÚSTIZA, 2004; BONKOVSKY, 1999); com coagulação normal, e que se apresentem estáveis, sem intercorrências próprias de sua condição. Antes da realização da biópsia hepática, é necessário avaliar alguns parâmetros, como estudo prévio do hemograma completo e da coagulação sanguínea, prevenindo possíveis complicações. A admissão prévia do paciente é aconselhável para que esses critérios sejam cumpridos, conferindo maior segurança ao procedimento. A biópsia é feita sob sedação com agentes intravenosos e inalatórios, amenizando a sensação dolorosa, e com controle da respiração do paciente. Os fragmentos hepáticos são conservados em solução de formol a 10% para posterior inclusão em parafina e análise histopatológica (HAMARTZ, 2000; BONKOVSKY, 1999).

## 2.7 QUELANTES DE FERRO

O uso do quelante de ferro na terapia dos pacientes que desenvolveram hemossiderose secundária à transfusão crônica aumentou significativamente sua sobrevivência e qualidade de vida. É notória a relação de que quanto maior o acúmulo de ferro, maiores os riscos de morbidade e mortalidade. Nos últimos 30 anos, a quelação de ferro era feita principalmente com desferroxamina (Desferal<sup>®</sup>), via intravenosa por 4h a 6h, ou por via subcutânea por 8h a 12h, diariamente, cinco dias por semana. Devido a essa forma incômoda de administração, além de outros fatores (irritação no local da aplicação; efeitos neurotóxicos, visuais e auditivos; alterações ósseas e atraso no crescimento), estimulou-se a busca por novos quelantes. Centenas de quelantes foram desenvolvidos na procura incessante de uma alternativa melhor para esse tratamento. Os mais estudados são deferiprona (Ferriprox<sup>®</sup>) e o deferasirox (Exjade<sup>®</sup>), ambos administrados via oral. O quelante aprovado para pacientes maiores de dois anos portadores de anemia falciforme foi apenas o deferasirox (COHEN, 2006; FABRON Jr., 2003; GATTERMANN, 2008; PAULA, 2003).

Um dos objetivos primordiais da terapia com quelantes de ferro é prevenir o acúmulo patológico desse elemento no organismo; preferencialmente, inicia-se a quelação antes de a

sobrecarga de ferro estar instalada, tentando manter a quantidade de ferro quelada e excretada maior que a administrada pelas transfusões sanguíneas. Outra meta importante é prevenir danos teciduais causados pelo acúmulo de ferro, sobretudo no miocárdio, utilizando um quelante que minimize o tempo em que o ferro fica livre. A redução da ferritina pode ser avaliada através de sua dosagem seriada, cujos valores decrescem após uso dos quelantes. A terapia de quelação do ferro está indicada em pacientes com concentração hepática de ferro maior que 7 mg/g de tecido; e/ou em pacientes com valores de ferritina acima de 1 000 µg/L; e/ou em pacientes que tenham recebido mais de 20 unidades de concentrado de hemácias, o que equivale a 100 ml/kg ou mais (VICHINSKY, 2007; CANÇADO, 2007a; McLEOD, 2009).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 GERAL**

Comparar RM com histopatologia na detecção de acúmulo de ferro no tecido hepático de pacientes portadores de anemia falciforme.

#### **3.2 ESPECÍFICOS**

Identificar variáveis clínicas e laboratoriais preditivas de intensidade de sobrecarga de ferro no tecido hepático.

Comparar a intensidade da sobrecarga férrica entre grupos de pacientes submetidos a dois regimes transfusionais diferentes.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 LOCAL E PERÍODO DE ESTUDO

O estudo foi realizado no Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe (HU/UFS), nos ambulatórios de Hematologia Pediátrica e Hepatologia, no Laboratório Central e no setor de Patologia, em parceria com o serviço de Ressonância Magnética do Centro de Medicina Integrada de Sergipe (CEMISE). A investigação ocorreu no período de março de 2009 a julho de 2010.

### 4.2 TIPO DE ESTUDO

O trabalho apresentou delineamento transversal.

### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Foram incluídos no estudo os pacientes:

- a) portadores de AF comprovada por eletroforese de hemoglobina e que fazem acompanhamento no Ambulatório de Hematologia Pediátrica do HU/UFS;
- b) que apresentaram ferritina sérica maior que 1000 ng/mL, comprovada por dosagem sérica;
- c) já submetidos a transfusão sanguínea.

Foram excluídos os pacientes:

- a) menores de 5 anos de idade;
- b) que apresentaram episódio de reagudização da doença no momento da avaliação;
- c) portadores de sorologia positiva para hepatites B ou C;
- d) portadores de doença hepática crônica não relacionada à anemia falciforme.

#### 4.4 CASUÍSTICA

Foram selecionados todos os pacientes que preencheram os critérios de inclusão, sendo alocados em dois grupos. O grupo I foi composto pelos pacientes que fazem uso de transfusão sanguínea de modo regular (10 mL/kg a 20 mL/kg, administrados com periodicidade mensal), em decorrência de acidente vascular encefálico, síndrome torácica aguda de repetição, priapismo ou úlcera maleolar crônica não responsiva; e o grupo II foi composto pelos pacientes que fazem uso de transfusão sanguínea de modo eventual, em decorrência de complicações agudas.

Todos os pacientes foram submetidos a exame clínico, exames laboratoriais (ferritina sérica, ferro sérico, transaminases e hemograma), RM do abdome superior e biópsia do fígado, para obtenção de material para análise da concentração de ferro tecidual. As avaliações por RM precederam as biópsias, com intervalo máximo de um mês entre ambas, para reduzir a possibilidade de haver hemotransfusões nesse período, o que poderia interferir no resultado das biópsias.

Nenhum dos pacientes fez uso de quelantes de ferro antes do estudo.

#### 4.5 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

A RM de abdome superior foi realizada em aparelho Siemens<sup>®</sup> Magnetom Avanto 1,5 Tesla, Munique, Alemanha, sem utilização de meio de contraste paramagnético nem sedação.

Os parâmetros utilizados nas seqüências foram baseados no protocolo proposto por Alústiza (2004). A técnica, cujos detalhes estão descritos na tabela 1, consistiu de cinco seqüências gradiente eco (GRE) nas ponderações T1, intermediária e T2\*, adquiridas em apnéia com 20 cortes cada; e uma seqüência turbo spin eco (TSE) *trigger* ponderada em T2, sincronizada com os movimentos respiratórios com 35 cortes. As imagens foram obtidas no plano axial.

Alguns dos parâmetros originalmente descritos (razão da matriz e FOV) foram modificados no início do trabalho mediante estudo-piloto, para ajustes na razão sinal-ruído e subsequente padronização.

Todas as imagens foram interpretadas pelo próprio pesquisador e por outro avaliador independente, ambos radiologistas devidamente treinados e habilitados, portadores de Título de Especialista pelo Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem. Os casos discordantes foram enviados para um terceiro radiologista na condição de árbitro. No momento da interpretação, os dados clínicos e laboratoriais eram desconhecidos pelos radiologistas, para evitar tendenciosidade nos resultados.

TABELA 1 - PARÂMETROS DAS SEQUÊNCIAS DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

SEQUÊNCIA	TE <sup>(1)</sup>	TR <sup>(2)</sup>	SL <sup>(3)</sup>	Flip Angle	FOV <sup>(4)</sup>	Matriz
GRE ponderada em T1	4	120	7	90°	300 x 370	332 x 512
GRE PI <sup>(5)</sup>	4	120	7	20°	300 x 370	166 x 256
GRE ponderada em T2*	9	120	7	20°	300 x 370	240 x 512
GRE ponderada em T2*	14	120	7	20°	300 x 370	240 x 512
GRE ponderada em T2*	21	120	7	20°	300 x 370	240 x 512
TSE ponderada em T2	82	3650	5	-	380 x 380	320 x 320

(1) Tempo de eco (ms).

(2) Tempo de repetição (ms).

(3) Espessura de corte (mm).

(4) *Field of view* (mm).

(5) Ponderação intermediária.

As imagens foram avaliadas através de um recurso do equipamento denominado ROI (*region of interest*), definido pelo operador, utilizado para medida da intensidade de sinal dos tecidos. Os ROI, com área mínima de 1cm<sup>2</sup>, foram posicionados em três regiões do lobo hepático direito (onde as biópsias são comumente realizadas) e em duas regiões da musculatura paravertebral, uma à direita e outra a esquerda, numa mesma imagem, distantes das bases pulmonares, de vasos hepáticos e de áreas heterogêneas, de modo a evitar artefatos. Foram obtidas a média aritmética das três medidas hepáticas e a média das duas medidas musculares e calculada a razão entre as médias, denominada razão de intensidade de sinal (RIS). Cada observador fez separadamente sua medida de RIS, e em seguida obtida a média aritmética das duas medidas. A RIS foi utilizada, ao invés da intensidade de sinal isolada do tecido hepático, porque a RIS considera a queda usual da intensidade de sinal que ocorre normalmente à medida que o tempo de eco se prolonga, e pela necessidade de um tecido de referência, a musculatura paravertebral, que usualmente não sofre deposição de ferro. A partir da RIS pode ser obtida a concentração hepática estimada de ferro (CHEF), através da fórmula:

$$\text{CHEF} = e^{[5,808 - (0,877 \times T2^*) - (1,518 \times \text{PI})]}$$

onde  $T2^*$  é a RIS obtida na sequência com TE de 14ms e PI é a RIS da sequência com ponderação intermediária. Estudo anterior indica que essa fórmula mostra excelente correlação entre RIS e concentração hepática de ferro medida em tecido hepático obtido por biópsia, com  $r = 0,937$  (ALÚSTIZA, 2004).

A CHEF assim calculada foi comparada com os dados laboratoriais e com a avaliação histológica do material obtido por biópsia.

Achados adicionais do abdome superior (hepatomegalia, colelitíase, autoesplenectomia, lesão renal e adrenal) foram avaliados na sequência TSE ponderada em T2, onde se observou melhor caracterização.

#### 4.6 BIÓPSIA HEPÁTICA

As biópsias se basearam nos protocolos descritos por Bonkovsky (1999) e Alústiza (2004) e foram realizadas por hepatologista experiente e devidamente habilitado, com utilização de agulha específica (Medax<sup>®</sup> FACILE TruCut 16 gauge x 160mm, Mântua, Itália). Todas as intervenções foram guiadas por ultrassonografia e realizadas sob sedação no centro cirúrgico do HU/UFS, acompanhadas por anestesiolologista.

O paciente é internado na véspera do procedimento, avaliado clinicamente e submetido a testes de coagulação sanguínea; plaquetometria  $> 50.000$  e INR  $< 1,7$  são requisitos mínimos para biópsia.

Para sedação, são utilizados midazolam (Dormonid<sup>®</sup>) 0,1 mg/kg de peso e propofol 1mg/kg de peso, via intravenosa. Oferece-se oxigênio sob máscara a 4L/min, fornecendo  $FiO_2$  de 50%. A monitorização é feita mediante eletrocardioscopia e oximetria de pulso.

Inicia-se o procedimento com a aplicação de iodopovidona tópica no hipocôndrio direito para antisepsia local, seguida de avaliação ultrassonográfica do lobo hepático direito (com transdutor envolto em material estéril) e marcação cutânea; nesse ponto, faz-se pequena incisão com bisturi, por onde é introduzida a agulha sob orientação ecográfica e são retirados dois fragmentos, evitando estruturas vasculares e vias biliares. Removida a agulha, faz-se nova varredura ultrassonográfica para pesquisa de coleção e hematoma. Aplica-se curativo local compressivo, e o paciente é mantido em decúbito lateral direito na sala de recuperação

pós-anestésica. Após período variável de observação (geralmente de oito horas), se não houver intercorrências, o paciente recebe alta hospitalar.

Os fragmentos obtidos foram fixados em solução de formaldeído a 10% e enviados para estudo anatomopatológico no serviço de Patologia do HU/UFS. Nesse setor, o material foi submetido a processamento histológico, inclusão em parafina e realização de cortes histológicos que foram corados pela hematoxilina e eosina (HE). Em todos os casos foram realizadas colorações histoquímicas para avaliação da sobrecarga férrica (Perls) e para avaliação do colágeno (Tricrômico de Masson).

A avaliação histológica semiquantitativa da deposição de ferro hepático foi realizada de acordo com os critérios estabelecidos por Scheuer e colaboradores (DEUGNIER, 2007 – tabela 2). Nos casos com deposição férrica, foi observado se o padrão era parenquimatoso (hepatocítico), sinusoidal (reticuloendotelial) ou misto. Em todos os casos foram também avaliados controles positivos da coloração de Perls, constituídos por fragmento de tecido esplênico com extensa deposição de hemossiderina.

A análise histológica também avaliou outros parâmetros morfológicos no tecido hepático, tais como: arquitetura lobular (normal ou alterada), fibrose portal (ausente ou presente), fibrose perissinusoidal (ausente ou presente) e congestão sinusoidal (ausente ou presente).

A avaliação histológica foi realizada por patologista com experiência em Patologia Hepática, sem conhecimento prévio dos quadros clínico, laboratorial e radiológico dos pacientes. A graduação semiquantitativa pelo método de Scheuer foi realizada por dois patologistas independentes, seguida de avaliação da concordância interobservador pelo teste Kappa ( $\kappa$ ).

TABELA 2 – GRADUAÇÃO DA SOBRECARGA FÉRRICA SEGUNDO SCHEUER (DEUGNIER, 2007)

GRAU	ALTERAÇÃO
0 (ausente)	Ausência de grânulos ou grânulos observados com dificuldade na objetiva de maior aumento (40x).
1 (discreta)	Grânulos observados na objetiva de maior aumento (40x).
2 (leve)	Grânulos discretos observados na objetiva de 10x. Presença de gradiente de coloração, com predomínio em zona 1 acinar.
3 (moderada)	Grânulos discretos observados na objetiva de 4x. Presença de gradiente de coloração.
4 (acentuada)	Massas visíveis na objetiva de 10x ou à macroscopia. Ausência de gradiente de coloração. Distribuição uniforme em todas as zonas do fígado.

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados dos exames laboratoriais, de imagem e histopatológicos foram cruzados e comparados entre si e entre ambos os grupos, e apresentados na forma de tabelas e gráficos. Foram utilizadas médias e desvios-padrão para variáveis quantitativas e distribuição de frequência para variáveis proporcionais. Foi aplicado o teste de Shapiro-Wilk para identificar a normalidade na distribuição das variáveis quantitativas.

A comparação entre os grupos foi feita através dos testes qui-quadrado ou Exato de Fisher, para variáveis proporcionais e quantitativas discretas; teste *t* ou Mann-Whitney (duas amostras independentes) e ANOVA/Bonferroni ou Kruskal-Wallis (várias amostras) para variáveis quantitativas contínuas, sendo considerado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). As correlações entre CHEF, classificação de Scheuer e dosagem sérica de ferritina foram avaliadas pelo coeficiente de correlação de Pearson (*r*), com intervalo de confiança de 95%.

Como recurso estatístico, os resultados histopatológicos foram agrupados em duas categorias: A (Scheuer 0 ou 1) e B (Scheuer 2 ou 3 ou 4), para facilitar o preenchimento de tabelas de contingência 2 x 2 e aplicação do teste Kappa.

Para avaliar a acurácia da RM como teste diagnóstico frente a um padrão-ouro, foi traçada a curva ROC, com a determinação do melhor ponto de corte, sensibilidade, especificidade e valor preditivo positivo e negativo.

Os cálculos foram realizados com o auxílio dos aplicativos EpiInfo2008 versão 3.5.1, Microsoft® Excel 2007 e BioEstat versão 5.0.

#### 4.8 ASPECTOS ÉTICOS

Existe indicação formal, respaldada pela literatura (ALÚSTIZA, 2004), para realização de biópsia hepática em pacientes que preencham os critérios de inclusão da pesquisa. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da UFS (CAE 0013.0.107.000-09), e os consentimentos dos pacientes ou pais/responsáveis foram expressos pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

## 5 RESULTADOS

A população de portadores de AF acompanhados no Ambulatório e submetidos à dosagem de ferritina foi de 276 pacientes. Obtiveram-se os resultados de 157 pacientes no período, dos quais 34 apresentaram ferritina sérica acima de 1000 ng/mL. Desses pacientes, três não participaram do estudo por não preencherem os critérios de inclusão/exclusão (um paciente por ser menor de 5 anos, e dois por episódio de reagudização). Dos 31 elegíveis, 25 foram submetidos a RM de abdome superior e a biópsia hepática, com dados clínicos e laboratoriais incluídos no trabalho. Seis pacientes foram excluídos porque a biópsia não pôde ser realizada a tempo no período de estudo.

A tabela 3 mostra o perfil dos pacientes portadores de AF estudados, contendo dados referentes a idade, grupo de regime transfusional, número de transfusões por ano, ferritina, ferro e leucometria, esta avaliada através da média anual. Além disso, descreve a média, desvio-padrão, mediana e valores mínimo e máximo da CHEF, a classificação de Scheuer e menciona a presença de congestão sinusoidal, de fibrose e o padrão da hemossiderose encontrados na análise do fragmento hepático.

A idade média dos pacientes estudados foi de  $15,2 \pm 5,9$  anos e houve equivalência entre os sexos (13 do sexo masculino). Pacientes que receberam transfusão de hemácias em regime ocasional foram os mais frequentes (68,0%). A média de transfusões nos 12 meses que antecederam a pesquisa foi de 4,8 eventos. Dos 25 pacientes analisados, 10 faziam uso de hidroxiuréia, e cálculos biliares estavam presentes em 28,0%. A média de hemoglobina foi  $8,4 \pm 1,5$  mg/dL, com 8,9% de HbF e 27,9% de hematócrito. A média de ferritina foi de  $1497,3 \pm 366,2$  ng/mL. A média de CHEF foi de  $125,9 \pm 90,9$   $\mu\text{mol/g}$ . Na classificação de Scheuer, quatro pacientes apresentaram grau 1 (16,0%, figura 1), e oito pacientes apresentaram grau 4 (32,0%, figura 2). A congestão sinusoidal esteve presente em 22 pacientes (88,0%) e 21 pacientes não apresentaram fibrose (84,0%); apresentaram padrão misto de hemossiderose 15 pacientes (60,0%).

Na graduação histopatológica pelo método de Scheuer, obteve-se concordância quase perfeita entre os observadores ( $\kappa = 0,80$ ;  $p < 0,0001$ ), com mínima discrepância em todos os casos (diferença máxima de um ponto), o que indica excelente reprodutibilidade no método escolhido para análise da sobrecarga férrica tecidual.

As tabelas 4 e 5 comparam parâmetros clínicos e laboratoriais com os métodos de avaliação CHEF e Scheuer. Os dados clínicos confrontados com CHEF e Scheuer foram presença de cálculo biliar, regime transfusional e número de transfusões expresso em mL/kg de peso. Houve

diferença significativa entre CHEF e os tipos de regime transfusional ( $p = 0,007$ ), mas não houve significância estatística entre Scheuer e os parâmetros clínicos. CHEF apresentou correlação regular com o número de transfusões ( $r = 0,56$ , figura 3). Os dados laboratoriais (Fe, Hb, Ht, AST, ALT, leucometria, HbF) não mostraram correlação significativa com os dois métodos. A ferritina sérica mostrou correlação regular com CHEF ( $r = 0,52$ , figura 4), mas não mostrou significância estatística quando comparado com o Scheuer ( $p = 0,21$ ).

TABELA 3 – DADOS DESCRITIVOS DA AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO DOS PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME DO AMBULATÓRIO DE HEMATOLOGIA PEDIÁTRICA DO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO, 2010

DESCRITOR	$f$ (%) <sup>(1)</sup>	$md$ (mín; máx) <sup>(2)</sup> $\bar{x} \pm s$ <sup>(3)</sup>
Idade		
6 — 10	6 (24,0)	..
11 — 20	14 (56,0)	..
21 — 29	5 (20,0)	..
Regime Tranfusional		
Grupo regular	8 (32,0)	..
Grupo ocasional	17 (68,0)	..
Número de transfusões		2 (0; 13)
(média/ano)	..	$4,8 \pm 5,0$
Leucometria (mm <sup>3</sup> )		11 800 (6 100; 16 800)
(média/ano)	..	$11 778 \pm 2 582$
Ferro Sérico (mg/dL)		125 (42; 352)
	..	$128,1 \pm 71,1$
Ferritina (ng/mL)		1 500 (1 004; 2 403)
	..	$1 497,3 \pm 366,2$
CHEF <sup>(4)</sup> (μmol/g)		95,4 (19,0; 286,4)
	..	$125,9 \pm 90,9$
Classificação de Scheuer (grau)		
0	2 (8,0)	
1	4 (16,0)	
2	5 (20,0)	..
3	6 (24,0)	
4	8 (32,0)	
Congestão Sinusoidal presente	22 (88,0)	..
Fibrose presente	4 (16,0)	..
Padrão de Hemossiderose		
Ausente	2 (8,0)	
Parenquimatoso	0 (0,0)	..
Misto	15 (60,0)	
Reticuloendotelial	8 (32,0)	

NOTA: Sinal convencional utilizado:

.. Não se aplica dado numérico.

(1) Frequência absoluta (frequência relativa).

(2) Mediana (mínimo; máximo).

(3) Média  $\pm$  desvio-padrão.

(4) Concentração hepática estimada de ferro.

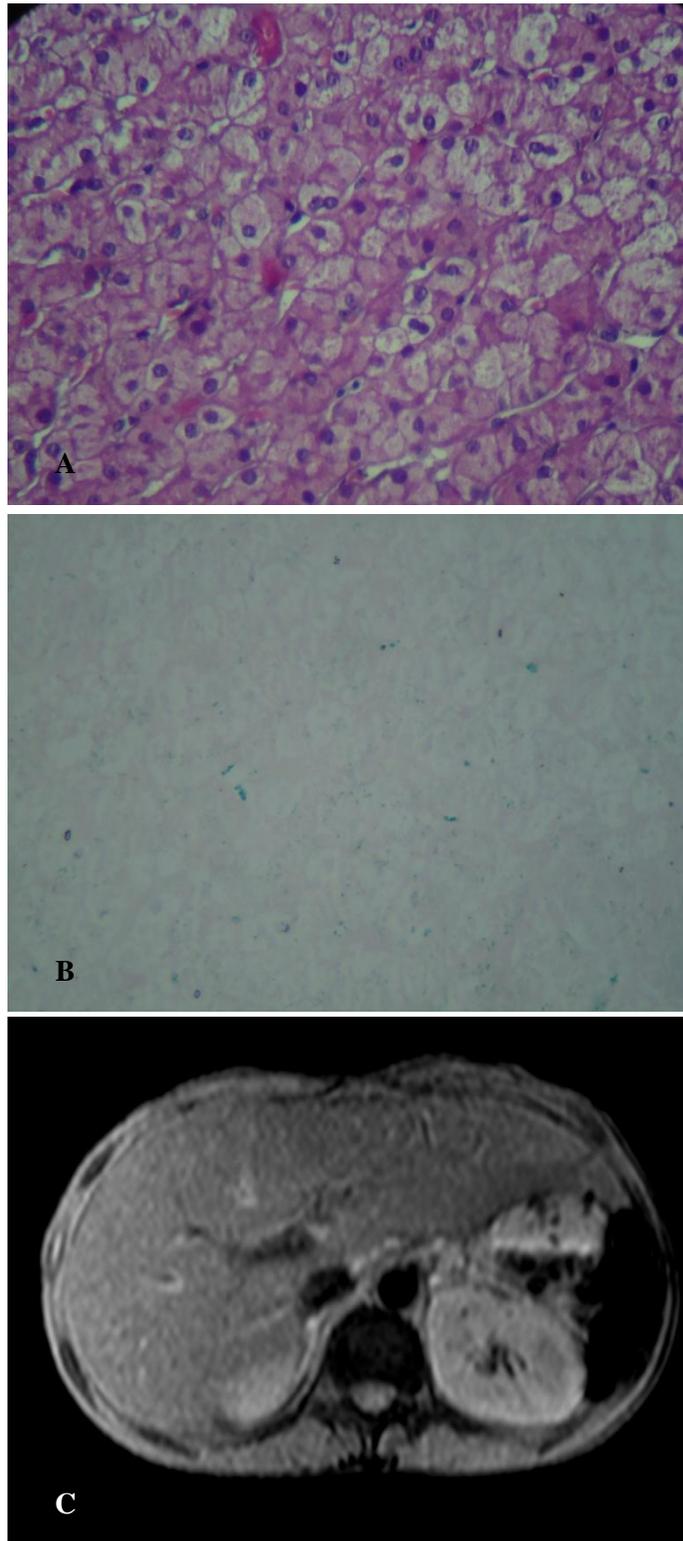


FIGURA 1 – SOBRECARGA DISCRETA DE FERRO HEPÁTICO, SCHEUER 1, CHEF = 20. (A) FRAGMENTO DE TECIDO HEPÁTICO CORADO POR HE, COM DEPÓSITOS FÉRRICOS DE DIFÍCIL DETECÇÃO. (B) MESMO FRAGMENTO, COLORAÇÃO DE PERLS, EVIDENCIA RAROS GRÂNULOS DE COR AZUL DISPERSOS PELO TECIDO. (C) RM DE ABDOME SUPERIOR, PLANO AXIAL, PONDERADA EM T2\* (TR = 120MS, TE = 9MS), MOSTRA FÍGADO ISOINTENSO À MUSCULATURA PARAVERTEBRAL.

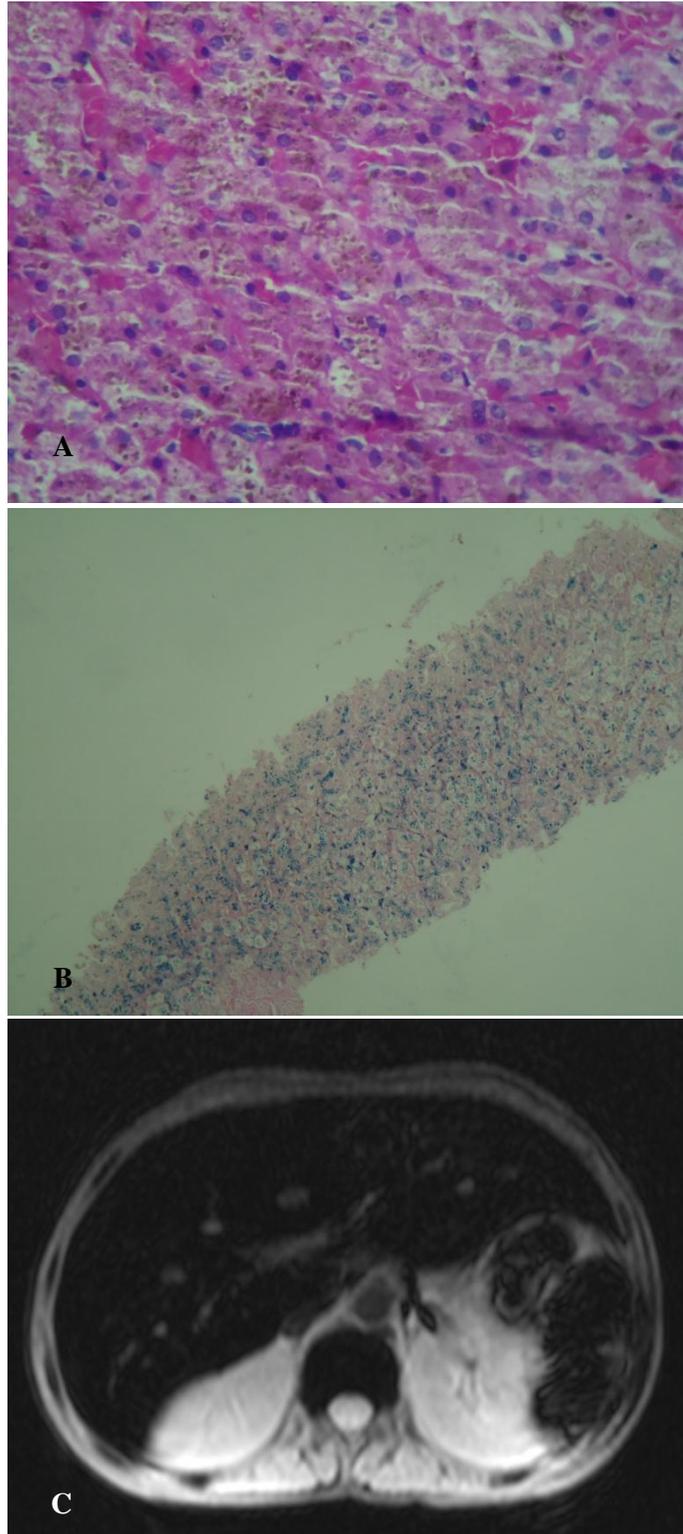


FIGURA 2 - SOBRECARGA ACENTUADA DE FERRO HEPÁTICO, SCHEUER 4, CHEF = 286. O ESTUDO HISTOPATOLÓGICO EVIDENCIA VÁRIOS GRÂNULOS FÉRRICOS DE DISTRIBUIÇÃO UNIFORME, DE COR MARROM NA COLORAÇÃO POR HE (A) E DE COR AZUL NA COLORAÇÃO DE PERLS (B). (C) RM DE ABDOME SUPERIOR, PLANO AXIAL, PONDERADA EM T2\* (TR = 120MS, TE = 9MS), MOSTRA FÍGADO HIPOINTENSO À MUSCULATURA PARAVERTEBRAL.

TABELA 4 - COMPARAÇÃO ENTRE DADOS CLÍNICOS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010

DADOS CLÍNICOS	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO				
	CHEF <sup>(1)</sup>		Scheuer <sup>(2)</sup>		
	$\bar{x} \pm s$ <sup>(3)</sup>	p <sup>(4)</sup>	A <sup>(5)</sup>	B <sup>(6)</sup>	p <sup>(7)</sup>
Cálculos Biliares					
Sim	161,2 ± 99,5	0,276	2	5	0,554
Não	112,2 ± 86,3		4	14	
Regime Transfusional					
Regular	199,7 ± 84,2	0,007	1	7	0,349
Ocasional	91,1 ± 72,7		5	12	

(1) Concentração hepática de ferro estimada pela ressonância magnética.

(2) Determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático.

(3) Média ± desvio-padrão.

(4) Teste de Mann-Whitney.

(5) Referente aos graus zero e 1 de Scheuer.

(6) Referente aos graus 2, 3 e 4 de Scheuer.

(7) Teste Exato de Fisher.

TABELA 5 - COMPARAÇÃO ENTRE IDADE, DADOS LABORATORIAIS E MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE SOBRECARGA HEPÁTICA DE FERRO EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010

DADOS	MÉTODOS DE AVALIAÇÃO			
	CHEF <sup>(1)</sup>	Scheuer <sup>(2)</sup>		
	r <sup>(3)</sup>	A <sup>(4)</sup>	B <sup>(5)</sup>	p <sup>(6)</sup>
Idade	0,33	10,8 ± 3,4	16 ± 5,9	0,07
Hemoglobina (mg/dL)	0,001	8,7 ± 1,6	8,6 ± 1,2	0,89
Leucometria (mm <sup>3</sup> )	- 0,12	13 280 ± 3 364	11 681 ± 2 548	0,32
Hemoglobina Fetal (%)	0,03	11,1 ± 6,9	7,2 ± 3,2	0,46
Ferro (mg/dL)	0,09	110,7 ± 35,8	131,9 ± 83,3	0,82
Ferritina (ng/mL)	0,52	1 342,5 ± 190,5	1 546,2 ± 397,7	0,21
Aspartato Transaminase (UI/L)	0,48	37 ± 11,4	48,7 ± 27,6	0,41
Alanina Transaminase (UI/L)	0,40	25,4 ± 11,2	41,8 ± 36,9	0,23

NOTA: Os valores expressos com o símbolo "±" indicam média ± desvio-padrão.

(1) Concentração hepática de ferro estimada pela ressonância magnética.

(2) Determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático.

(3) Coeficiente de correlação de Pearson.

(4) Referente aos graus zero e 1 de Scheuer.

(5) Referente aos graus 2, 3 e 4 de Scheuer.

(6) Teste de Mann-Whitney.

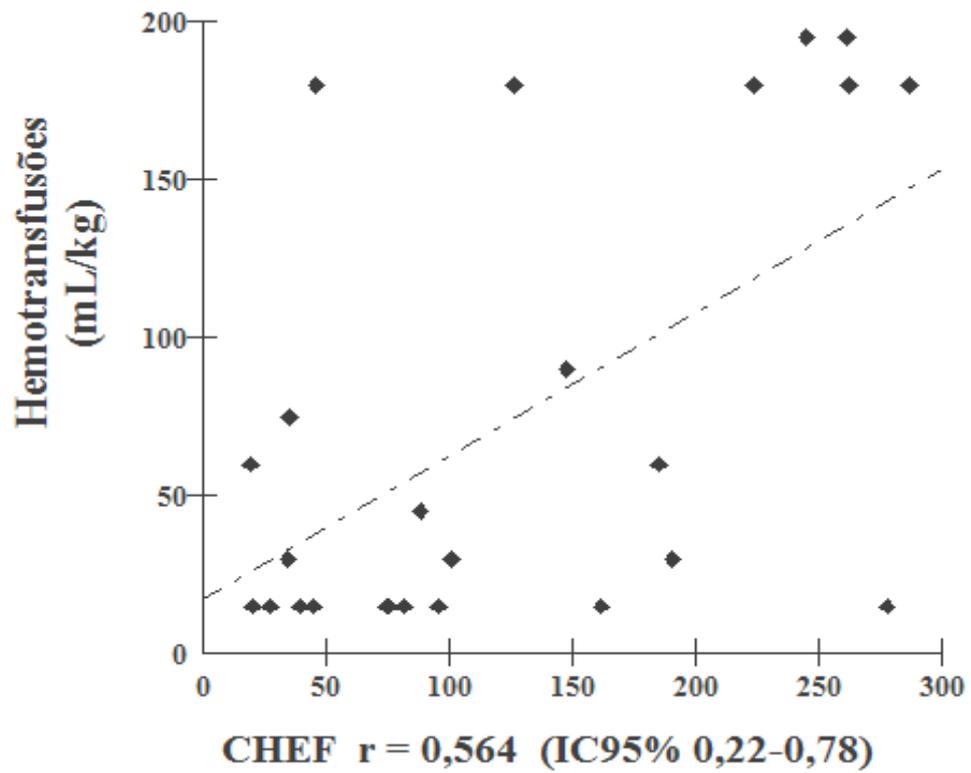


FIGURA 3 – CORRELAÇÃO ENTRE NÚMERO DE TRANSFUÇÕES E CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA DE FERRO (CHEF)

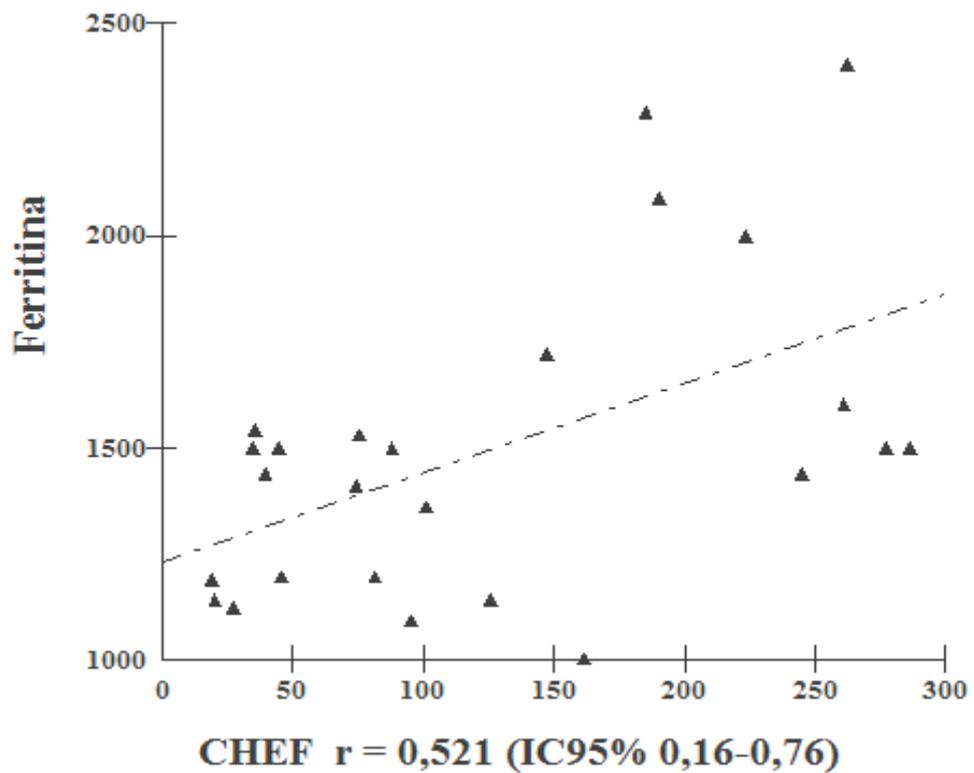


FIGURA 4 – CORRELAÇÃO ENTRE FERRITINA E CHEF

A tabela 6 apresenta a comparação entre os métodos utilizados neste estudo para avaliação de sobrecarga hepática de ferro. Foi observado um “p” significativo ( $p = 0,0007$ ) entre as diferentes categorias de Scheuer e as médias de CHEF, além de uma forte correlação entre os métodos ( $r = 0,75$ , figura 5).

TABELA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO HEPÁTICA ESTIMADA DE FERRO (CHEF) E DETERMINAÇÃO SEMIQUANTITATIVA DE FERRO (SCHEUER) EM PACIENTES PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME, 2010

Categoria	SCHEUER		CHEF ( $\mu\text{mol/g}$ )		p
	$f^{(1)}$	$\bar{x} \pm s^{(2)}$	$md(\text{mín}; \text{máx})^{(3)}$		
0	2	$31,1 \pm 5,8$	31,1 (27,0; 35,2)	<sup>(4)</sup> 0,0007	
1	4	$49,4 \pm 28,6$	45,2 (19,1; 88,1)		
2	5	$73,9 \pm 38,5$	74,1 (34,5; 126,1)		
3	6	$128,8 \pm 82,1$	124,2 (20,2; 261,1)		
4	8	$218,1 \pm 68,8$	234,1 (75,4; 286,4)		
Sem sobrecarga (Scheuer 0 e 1)	6	$43,3 \pm 24,2$	39,9 (19,0; 88,1)	<sup>(5)</sup> 0,004	
Com sobrecarga (Scheuer 2 a 4)	19	$152,0 \pm 88,7$	147,5 (20,2; 286,4)		

(1) Frequência absoluta.

(2) Média  $\pm$  desvio-padrão.

(3) Mediana (valor mínimo; valor máximo)

(4) ANOVA, seguida do pós-teste de Bonferroni.

(5) Teste de Mann-Whitney.

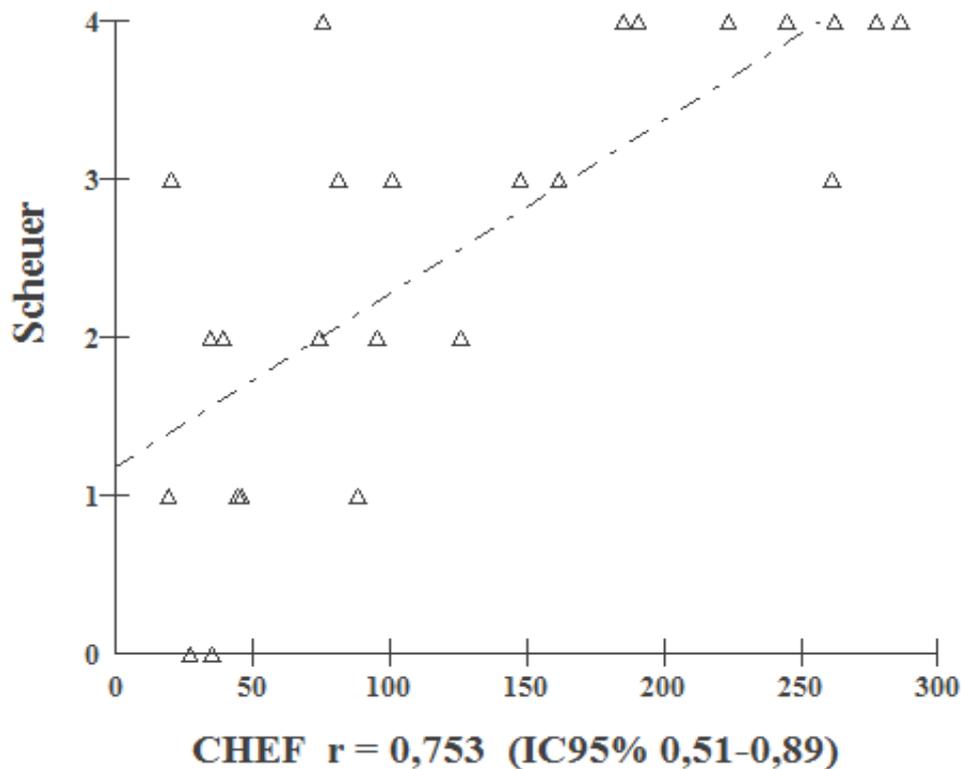


FIGURA 5 – CORRELAÇÃO ENTRE CLASSIFICAÇÃO DE SCHEUER E CHEF

A figura 6 compara os níveis de ferritina sérica com as categorias de sobrecarga hepática de Scheuer, mostrando correlação regular ( $r = 0,50$ ).

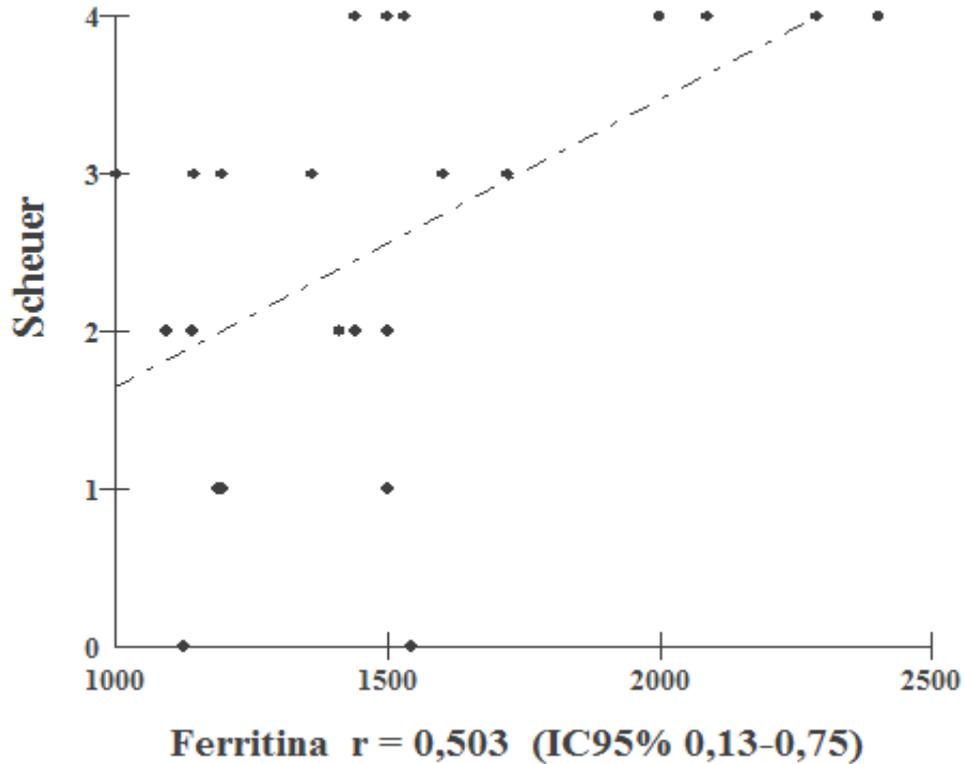


FIGURA 6 – CORRELAÇÃO ENTRE CLASSIFICAÇÃO DE SCHEUER E FERRITINA SÉRICA

Com base na curva ROC, demonstrada na figura 7, o melhor ponto de corte foi CHEF = 74,1  $\mu\text{mol/g}$ , com sensibilidade de 0,84, especificidade de 0,83, valor preditivo positivo de 94,1%, valor preditivo negativo de 62,5% e acurácia de 84,0%.

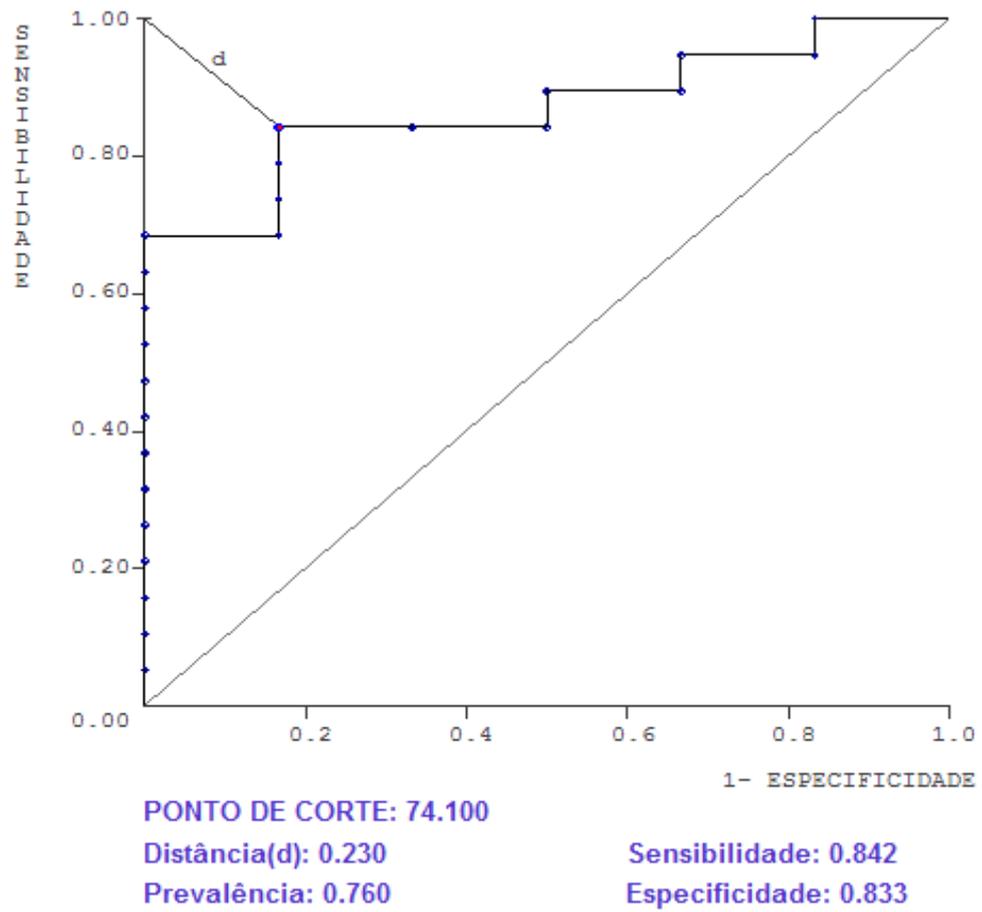


FIGURA 7 – CURVA ROC (*RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC*)

## 6 DISCUSSÃO

A busca por um método de avaliação de sobrecarga hepática de ferro não-invasivo, acurado e que possa ser repetido de acordo com a necessidade do paciente levou este grupo a comparar RM com biópsia hepática nos pacientes com anemia falciforme.

Apesar de ser método padrão-ouro, a indicação de biópsia hepática para avaliação de sobrecarga hepática de ferro mostrou-se, em estudos anteriores, impraticável para fins de seguimento do paciente (BONKOVSKY, 1999; GOMORI, 1991; HARMATZ, 2000; SCHEIN, 2008). A possibilidade da RM como método não-invasivo para avaliar o excesso de deposição do ferro hepático foi visualizada em diversas pesquisas (ANGELUCCI, 2000; SCHEIN, 2008; CANÇADO, 2007; ERNST, 1997; GANDON, 1994).

O presente trabalho é o primeiro estudo a avaliar a sobrecarga hepática de ferro através da comparação entre RM e a histologia hepática utilizando amostra formada exclusivamente de portadores de anemia falciforme. Os dados da literatura disponível referem-se a amostras constituídas por pacientes portadores de hemocromatose hereditária, talassemia, doença hepática alcoólica, hepatite viral crônica, esteatohepatite, hemossiderose não especificada ou combinações destes (ALÚSTIZA, 2004; BONKOVSKY, 1999; CHAN, 2005; ERNST, 1997; GANDON, 1994; GOMORI, 1991; MAZZA, 1995; OOI, 2004; SIEGELMAN, 1991). Karam (2008) avaliou somente portadores de anemia falciforme em sua casuística, mas não incluiu avaliação por RM, restringiu-se apenas a correlação entre ferritina e biópsia hepática.

Foram utilizados os valores de ferritina acima de 1000 ng/mL como ponto de partida para análise de sobrecarga hepática de ferro através da biópsia hepática, como sugerido por Bonkovsky (1999) e Alústiza (2004). Apesar de estudos mostrarem que apenas uma medida de ferritina não seja tão acurada devido à influência de diversos fatores (infecções, hepatopatias, hipotireoidismo, neoplasias), nosso trabalho utilizou-se de apenas uma medida do paciente obtida na ausência de condições que pudessem modificar o resultado (ANGULO, 2008; JENSEN, 2004; KARAM, 2008; KOHGO, 2008; VERMYLEN, 2008).

No presente estudo, evidenciou-se correlação moderada entre os valores de ferritina sérica e CHEF obtida por RM, semelhante ao observado por Gandon (2004). Entretanto, não foi evidenciada diferença significativa entre as médias de ferritina sérica dos grupos com e sem sobrecarga pela classificação de Scheuer, apesar da correlação regular entre ambos,

achado semelhante ao obtido por Karam (2008), mas discordante daquele descrito por Mazza e colaboradores (1995), que realizaram a mesma análise em pacientes com talassemia. Eles observaram correlações significativas entre ferritina e as categorias de Scheuer, e nenhuma correlação entre ferritina e os achados de RM. Uma explicação para tal diferença seria a presença do componente inflamatório crônico característico na anemia falciforme que pode interferir nos níveis de ferritina sérica, que é um reagente de fase aguda, mascarando possíveis diferenças entre grupos com sobrecarga de ferro distinta.

Semelhante aos achados da literatura, nossos resultados evidenciaram forte correlação entre a sobrecarga de ferro hepático estimada por RM (CHEF) e a avaliada no fragmento de tecido obtido por biópsia. Utilizamos o método semiquantitativo de Scheuer para estipular o conteúdo de ferro tecidual. No entanto, a maioria dos trabalhos compara a estimativa por RM com métodos quantitativos, como espectrofotometria (ALÚSTIZA, 2004; BONKOVSKY, 1999). Apesar de não ter sido possível quantificar o ferro hepático por espectrofotometria em nosso estudo, por motivos logísticos e operacionais, a utilização de escores é referendada pela literatura (GANDON, 1994), dentre eles a graduação histológica de Scheuer, também utilizada por Harmatz (2000), Karam (2008) e Mazza (1995), que representa adequadamente a quantificação de ferro hepático, sem prejuízo à interpretação dos resultados. Ademais, o que se observa na prática é que a espectrofotometria é raramente utilizada na rotina de avaliação de concentração de ferro hepático.

Extraído da curva ROC, o ponto de corte de nossa casuística (CHEF = 74,1  $\mu\text{mol/g}$ ), para determinação de sobrecarga de ferro hepático, é um pouco diferente do relatado por Alústiza (2004), que foi de 80,0  $\mu\text{mol/g}$ . Contudo, em nossa amostra, o ponto de corte 74,1  $\mu\text{mol/g}$  mostrou melhor equilíbrio na relação entre sensibilidade e especificidade (0,84 e 0,83, respectivamente) que o ponto de corte 80,0  $\mu\text{mol/g}$  (0,74 e 0,83, respectivamente), com evidentes diferenças na área sob a curva, conforme demonstrado na figura 8.

Dentre os parâmetros clínicos e laboratoriais estudados, o tipo de regime transfusional mostrou relevância como preditor de sobrecarga de ferro no fígado, e o número de hemotransfusões apresentou correlação regular com CHEF. A média de CHEF foi significativamente maior no grupo que recebeu transfusões regulares em relação ao grupo de transfusões ocasionais, concordando com os achados descritos por Lonergan (2001). Pacientes regularmente submetidos a hemotransfusão acumulam ferro tecidual em maior proporção que os transfundidos sob demanda; assim, o tipo de regime transfusional e o número de transfusões seriam parâmetros clínicos associados à hemossiderose. Mais estudos

são necessários para avaliar o papel dessas variáveis como fatores de risco de sobrecarga de ferro nos tecidos.

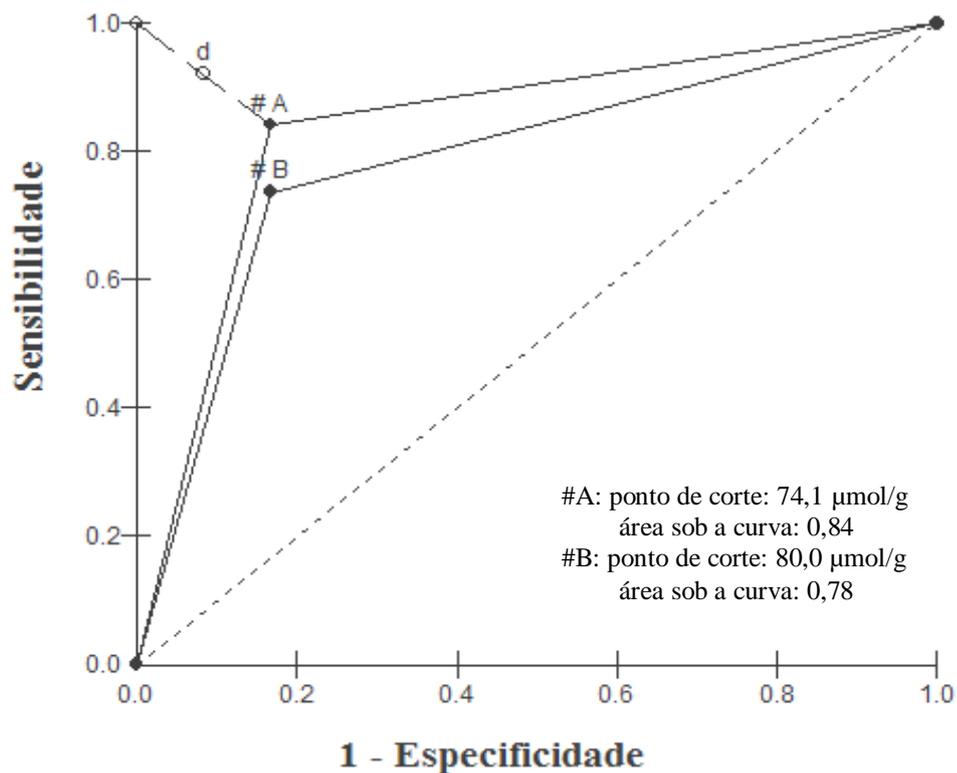


FIGURA 8 – COMPARAÇÃO ENTRE DUAS CURVAS ROC TRAÇADAS COM BASE EM PONTOS DE CORTE DISTINTOS

Com base em nossa casuística, recomenda-se a utilização da RM no lugar de biópsia para efeito de seguimento de pacientes portadores de AF com sobrecarga hepática de ferro, quando não houver doença hepática associada.

O presente estudo é pioneiro na comparação entre RM e biópsia hepática com base em amostra contendo exclusivamente portadores de anemia falciforme.

## **7 CONCLUSÃO**

A RM é um método de significativa acurácia na detecção e estimativa de sobrecarga de ferro no fígado, em pacientes portadores de anemia falciforme submetidos a terapia transfusional.

Dentre as variáveis clínicas e laboratoriais estudadas, apenas o padrão de regime transfusional mostrou-se preditor da intensidade de sobrecarga de ferro hepático, mais acentuada nos pacientes submetidos a regime regular de transfusão de hemácias.

## REFERÊNCIAS

- ALÚSTIZA, J. M.; ARTETXE, J.; CASTIELLA, A.; AGIRRE, C.; EMPARANZA, J. I.; OTAZUA, P.; GARCÍA-BENGOECHEA, M.; BARRÍO, J.; MÚJICA, F.; RECONDO, J. A. MR quantification of iron hepatic concentration. **Radiology**, v. 230, n. 2, p. 479-484, 2004.
- ANDREWS, N. C. Iron metabolism: iron deficiency and iron overload. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v.1, p. 75-98, 2000.
- ANGELUCCI, E.; BRITTENHAM, G. M.; McLAREN, C. E.; RIPALTI, M.; BARONCIANI, D.; GIARDINI, C.; GALIMBERTI, M.; POLCHI, P.; LUCARELLI, G. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. **New England Journal of Medicine**, v. 343, n. 5, p. 327-332, 2000.
- ANGULO, I. L.; COVAS, D. T.; CARNEIRO, A. A.; BAFFA, O.; ELIAS JÚNIOR, J.; VILELA, G. Determination of iron overload in thalassemia by hepatic MRI and ferritin. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 6, p. 449-452, 2008.
- ANVISA. **Manual de Diagnóstico e Tratamento da Doença Falciforme**, Brasília, 2008.
- BALLAS, S. K. Iron overload is a determinant of morbidity and mortality in adult patients with sickle cell disease. **Seminars in Hematology**, v. 38, n. 1, p. 30-36, 2001.
- BATISTA, A.; ANDRADE, T. C. Anemia falciforme: uma doença de saúde pública no Brasil. **Universitas Ciências da Saúde**, v. 3, n. 1, p. 83-99, 2002.
- BITARÃES, E. L.; OLIVEIRA, B. M.; VIANA, M. B. Compliance with antibiotic prophylaxis in children with sickle cell anemia: a prospective study. **Jornal de Pediatria**, v. 84, n. 4, p. 316-322, 2008.
- BONKOVSKY, H. L.; SLAKER, D. P.; BILLS, E. B. WOLF, D. C. Usefulness and limitations of laboratory and imaging studies in iron-storage disease. **Gastroenterology**, v. 99, n. 4, p. 1079-1091, 1990.
- BONKOVSKY, H. L.; RUBIN, R. B.; CABLE, E. E.; DAVIDOFF, A.; RIJCKEN, T. H. P.; STARK, D. D. Hepatic iron concentration: noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. **Radiology**, v. 212, n. 1, p. 227-234, 1999.

CANÇADO, R. D. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, 316-326, 2007(a).

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, p. 203-206, 2007(b).

CARNEIRO, A. A. O.; FERNANDES, J. P.; ARAÚJO, D. B. de; BAFFA, O.; COVAS, D. T.; ELIAS JÚNIOR, J.; MARTINELLI, A. L. C. Avaliação do excesso de ferro no organismo por métodos não invasivos. **Revista Brasileira de Física Médica**, 2004.

CARNEIRO, A. A. O.; VILELA, G. R.; ARAÚJO, D. B. de; BAFFA, O. MRI relaxometry: methods and applications. **Brazilian Journal of Physics**, v. 36, n. 1A, p. 9-15, 2006.

CHAN, Y.; LI, C.; CHIK, K.; LAW, M.; HOWARD, R. Liver volume in thalassaemia major: relationship with body weight, serum ferritin and liver function. **Pediatric Radiology**, v. 35, p. 165-168, 2005.

COHEN, A. R. New advances in iron chelation therapy. **Hematology**, v. 2006, n. 1, p. 42-47, 2006.

DEUGNIER, Y.; TURLIN, B. Pathology of hepatic iron overload. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, n. 35, p. 4755-4760, 2007.

DI NUZZO, D. V. P.; FONSECA, S. F. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, v. 80, n. 5, p. 347-354, 2004.

DINIZ, D.; GUEDES, C.; BARBOSA, L. TAUIL, P. L.; MAGALHÃES, I. Prevalência do traço e da anemia falciforme em recém-nascidos do Distrito Federal, Brasil, 2004 a 2006. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 25, n. 1, p. 188-194, 2009.

ERNST, O.; SERGENT, G.; BONVARLET, P.; CANVA-DELCAMBRE, V.; PARIS, J. C.; L'HERMINE, C. Hepatic iron overload: diagnosis and quantification with MR imaging. **American Journal of Roentgenology**, v. 168, p. 1205-1208, 1997.

FABRON JÚNIOR, A.; TRICTA, F. Terapia quelante oral com deferiprona em pacientes com sobrecarga de ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, n. 3, p. 177-188, 2003.

FERREIRA, L. M. B. P.; CIPOLOTTI, R.; COUTINHO, H. M. Frequência de portadores de hemoglobinopatias em puérperas e seus recém-nascidos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 5, p. 391-392, 2009.

FIGUEIREDO, M. S. Fatores moduladores da gravidade da evolução clínica da anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 215-217, 2007.

FRENETTE, P. S.; ATWEH, G. F. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts and future promise. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 117, n. 4, 2007.

GANDON, Y.; GUYADER, D.; HEAUTOT, J. F.; REDA, M. I.; YAOUANQ, J.; BUHÉ, T.; BRISSOT, P.; CARVIN, M.; DEUGNIER, Y. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. **Radiology**, v. 193, p. 533-538, 1994.

GATTERMANN, N. Overview of guidelines on iron chelation therapy in patients with myelodysplastic syndromes and transfusional iron overload. **International Journal of Hematology**, v. 88, n. 1, p. 24-29, 2008.

GLADWIN, M. T.; VICHINSKY, E. Pulmonary complications of sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, v. 359, p. 2254-2265, 2008.

GOMORI, J. M.; HOREV, G.; TAMARY, H.; ZANDBACK, J.; KORNREICH, L.; ZAIKOV, R.; FREUD, E.; KRIEF, O.; BEN-MEIR, J.; ROTEM, H.; KUSPET, M.; ROSEN, P.; RACHMILEWITZ, E. L.; GORODETSKY, R. Hepatic iron overload: quantitative MR imaging. **Radiology**, v.179, p. 367-369, 1991.

GUIMARÃES, T. M. R.; MIRANDA, W. L.; TAVARES, M. M. F. O cotidiano das famílias de crianças e adolescentes portadores de anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 1, p. 9-14, 2009.

GULBIS, B.; HABERMAN, D.; DUFOUR, D.; CHRISTOPHE, C.; VERMYLEN, C.; KAGAMBEGA, F.; CORAZZA, F.; DEVALCK, C.; DRESSE, M.; HUNNINCK, K.; KLEIN, A.; LE, P. Q.; LOOP, M.; MAES, P.; PHILLIPET, P.; SARIBAN, E.; GEET, C. V.; FERSTER, A. Hydroxyurea for sickle cell disease in children and for prevention of cerebrovascular events: the Belgian experience. **Blood**, v. 105, n. 7, p. 2685-2690, 2005.

GURKAN, E.; ERGUN, Y.; ZORLUDEMIR, S.; BAŞLAMIŞLI, F.; KOÇAK, R. Liver involvement in sickle cell disease. **Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 16, n. 4, p. 194-198, 2005.

HARMATZ, P.; BUTENSKY, E.; QUIROLO, K.; WILLIAMS, R.; FERRELL, L.; MOYER, T.; GOLDEN, D.; NEUMAYR, L.; VICHINSKY, E. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. **Blood**, v. 96, n. 1, p. 76-79, 2000.

HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. **Archives of Internal Medicine**, v. 6, n. 517-521, 1910.

HSIEH, M. M.; KANG, E. M.; FITZHUGH, C. D.; LINK, M. B.; BOLAN, C. D.; KURLANDER, R.; CHILDS, R. W.; RODGERS, G. P.; POWELL, J. D.; TISDALE, J. F. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for sickle cell disease. **New England Journal of Medicine**, v. 361, n. 24, p. 2309-2317, 2009.

INATI, A.; KOUSSA, S.; TAHER, A.; PERRINE, S. Sickle cell disease: new insights into pathophysiology and treatment. **Pediatric Annals**, v. 37, n.5, p. 311-321, 2008.

JENSEN, P.D. Evaluation of iron overload. **British Journal of Haematology**, v. 124, n. 6, p. 697-711, 2004.

KARAM, L. B.; DISCO, D.; JACKSON, S. M.; LEWIN, D.; McKIE, V.; BAKER, R. D.; BAKER, S. S.; LAVER, J. H.; NIETERT, P. J.; ABBOUD, M. R. Liver biopsy results in patients with sickle cell disease on chronic transfusions: poor correlation with ferritin levels. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 50, p. 62-65, 2008.

KOHGO, Y.; IKUTA, K.; OHTAKE, T.; TORIMOTO, Y.; KATO, J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. **International Journal of Hematology**, v. 88, n. 1, p. 7-15, 2008.

LONERGAN, G. J.; CLINE, D. B.; ABBONDANZO, S. L. Sickle cell anemia. **RadioGraphics**, v. 21, p. 971-994, 2001.

LOUREIRO, M. M.; ROZENFELD, S. Epidemiology of sickle cell disease hospital admissions in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 39, n. 6, p. 1-6, 2005.

LOUREIRO, M. M.; ROZENFELD, S.; PORTUGAL, R. D. Acute clinical events in patients with sickle cell disease: epidemiology and treatment. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 2, p. 95-100, 2008.

MAZZA, P.; GIUA, R.; DE MARCO, S.; BONETTI, M. G.; AMURRI, B.; MASI, C.; LAZZARI, G.; RIZZO, C.; CERVELLERA, M.; PELUSO, A.; PISCONTI, S.; SUMA, V.; SPARTERA, M. A.; MORELLI, G.; SOGARI, V.; D'AGOSTINO, A.; GUARNERA, D.; PADOVANO, F.; SEMERARO, F. Iron overload in thalassemia: comparative analysis of magnetic resonance imaging, serum ferritin and iron content of the liver. **Haematologica**, v. 80, n. 5, p. 398-404, 1995.

McLEOD, C.; FLEEMAN, N.; KIRKHAM, J.; BAGUST, A.; BOLAND, A.; CHU, P.; DICKSON, R.; DUNDAR, Y.; GREENHALGH, J.; MODELL, B.; OLUJOHUNGBE, A.; TELFER, P.; WALLEY, T. Deferasirox for the treatment of iron overload associated with regular blood transfusions (transfusional haemosiderosis) in patients suffering with chronic anemia: a systematic review and economic evaluation. **Health Technology Assessment**, v. 13, n. 1, p. 1-144, 2009.

MENDONÇA, A. C.; GARCIA, J. L.; ALMEIDA, C. M.; MEGID, T. B. C.; FABRON JÚNIOR, A. Muito além do "Teste do Pezinho". **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 2, p. 88-93, 2008.

MODELL, B.; DARLISON, M. Global epidemiology of hemoglobin disorders and derived service indicators. **Bulletin of the World Health Organization**, 2008.

MOREIRA, G. A. Repercussões respiratórias da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 33, n. 3, p. 18-20, 2007.

MOUSINHO-RIBEIRO, R. C.; CARDOSO, G. L.; SOUSA, I. E. L.; MARTINS, P. K. C. Importância da avaliação da hemoglobina fetal na clínica da anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 30, n. 2, p. 136-141, 2008.

MURAO, M.; VIANA, M. B. Risk factors for alloimmunization by patients with sickle cell disease. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, p. 675-682, 2005.

NAUFEL, C. C. S.; BRAGA, J. A. P.; CANÇADO, R. D.; LANGHI JÚNIOR, D. M.; BORDIN, J. O. Reação transfusional hiper-hemolítica em pacientes portadores de anemia falciforme: relato de dois casos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 4, p. 292-299, 2002.

OOI, G. C.; KHONG, P. L.; CHAN, G. C.; CHAN, K. N.; CHAN, K. L.; LAM, W.; NG, I.; HA, S. Y. Magnetic resonance screening of iron status in transfusion-dependent  $\beta$ -thalassaemia patients. **British Journal of Haematology**, v. 124, n. 3, p. 385-390, 2004.

PAULA, E. V. de; SAAD, S. T. O.; COSTA, F. F. Quelação oral de ferro na  $\beta$ -talassemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, n. 1, p. 59-63, 2003.

PLATT, O. S. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 358, p. 1362-1369, 2008.

QUEIROZ-ANDRADE, M.; BLASBALG, R.; ORTEGA, C. D.; RODSTEIN, M. A. M.; BARONI, R. H.; ROCHA, M. S.; CERRI, G. G. MR imaging findings of iron overload. **Radiographics**, v. 29, p. 1575-1589, 2009.

RAGHUPATHY, R.; MANWANI, D.; LITTLE, J. A. Iron overload in sickle cell disease. **Advances in Hematology**, v. 2010, article ID 272940, 9 p., 2010.

RUIZ, M. A. Anemia falciforme: objetivos e resultados no tratamento de uma doença de saúde pública no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 203-206, 2007.

SCHEIN, A.; ENRIQUEZ, C.; COATES, T. D.; WOOD, J. C. Magnetic resonance detection of kidney iron deposition in sickle cell disease: a marker of chronic hemolysis. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 28, n. 3, p. 698-704, 2008.

SIEGELMAN, E. S.; MITCHELL, D. G.; RUBIN, R.; HANN, H. W.; KAPLAN, K. R.; STEINER, R. M.; RAO, V. M.; SCHUSTER, S. J.; BURK JUNIOR, D. L.; RIFKIN, M. D. Parenchymal versus reticuloendothelial iron overload in the liver: distinction with MR imaging. **Radiology**, v. 179, p. 361-366, 1991.

SPARACIA, G.; IAIA, A.; BANCO, A.; D'ANGELO, P.; LAGALLA, R. Transfusional hemochromatosis: quantitative relation of MR imaging pituitary signal intensity reduction to hypogonadotropic hypogonadism. **Radiology**, v. 215, p. 818-823, 2000.

VERMYLEN, C. What is new in iron overload? **European Journal of Pediatrics**, v. 167, n. 4, p. 377-381, 2008.

VICHINSKY, E.; ONYEKWERE, O.; PORTER, J.; SWERDLOW, P.; ECKMAN, J.; LANE, P.; FILES, B.; HASSELL, K.; KELLY, P.; WILSON, F.; BERNAUDIN, F.; FORNI, G. L.; OKPALA, I.; RESSAYRE-DJAFFER, C.; ALBERTI, D.; HOLLAND, J.; MARKS, P.; FUNG, E.; FISCHER, R.; MUELLER, B. U.; COATES, T. A randomised comparison of deferasirox *versus* deferoxamine for the treatment of transfusional iron overload in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 136, n. 3, p. 501-508, 2007.

WAYNE, A. S.; SCHOENIKE, S. E.; PEGELOW, C.H. Financial analysis of chronic transfusion for stroke prevention in sickle cell disease. **Blood**, v. 96, n. 7, p. 2369-2372, 2000.

YANAGUIZAWA, M.; TABERNER, G. S.; CARDOSO, F. N. C.; NATOUR, J.; FERNANDES, A. R. C. Diagnóstico por imagem na avaliação da anemia falciforme. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, n. 2, p. 102-105, 2008.

ZAGO, M. A.; PINTO, A. C. S. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 207-214, 2007.

APÊNDICE 1 – ARTIGO ORIGINAL A SER SUBMETIDO À REVISTA RADIOLOGY

ARTIGO ORIGINAL

**Ressonância Magnética versus histologia na avaliação da sobrecarga de ferro hepática em portadores de anemia falciforme**

MRI versus histology in the assessment of hepatic iron overload in sickle cell anemia

Authors

Thiago de Oliveira Ferrão. Ferrão, T.O. - Médico Radiologista, Mestrando em Ciências da Saúde; professor-assistente do Departamento de Medicina, UFS

Lorena Dias Dantas. Dantas, L.D. - Graduanda em Medicina, UFS

Alex Vianey Callado França. França, A.V.C. - Médico Hepatologista, Doutor em Medicina; professor livre-docente do Departamento de Medicina, UFS

Hugo Leite de Farias Brito. Brito, H. L. F – Médico Patologista, Doutor em Medicina; professor livre-docente do Departamento de Medicina, UFS

Ricardo Dantas Rocha. Rocha, R.D. - Graduando em Medicina, UFS

Lécio dos Anjos Bourbon-Filho. Bourbon-Filho, L. A. – Médico graduado pela UFS

Rosana Cipolotti – Cipolotti, R. - Médica Hematologista Pediátrica, Doutora em Medicina; professora adjunta do Departamento de Medicina, UFS.

Autor correspondente: Thiago de Oliveira Ferrão

Endereço físico: Rua Heráclito Muniz Barreto, 66, Apto. 902. Bairro Luzia, Aracaju-SE,  
CEP: 49045-200

Telefone: (79) 9900-4605

Endereço eletrônico: rosanaci@yahoo.com

Instituição: Universidade Federal de Sergipe

Título Resumido: SOBRECARGA DE FERRO EM AF

Conflito de interesses: Nada a declarar.

## 1- RESUMO

**OBJETIVO:** Comparar ressonância magnética (RM) com biópsia hepática como ferramentas para identificação e quantificação da sobrecarga hepática de ferro em pacientes com Anemia Falciforme (AF).

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Estudo transversal envolvendo portadores de AF que utilizam transfusão de hemácias. Foram comparados os resultados da dosagem de ferritina sérica basal na ausência de intercorrências agudas, da concentração hepática estimada de ferro através de ressonância magnética, e a determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático (critérios de Scheuer) obtido por biópsia hepática percutânea.

**RESULTADOS:** Observou-se correlação estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) entre os 5 graus de sobrecarga de ferro identificada em fragmento de tecido hepático e a concentração média estimada de ferro calculada a partir da intensidade de sinal detectada por RM ( $p = 0,001$ ), relação que se mantém quando se agrupa os resultados em grupo sem sobrecarga ou sobrecarga normal (Scheuer zero e I) e com sobrecarga (Scheuer II a IV), com  $p = 0,014$ .

**DISCUSSÃO:** A RM foi capaz de diferenciar pacientes com e sem sobrecarga de ferro quando comparada aos dados histológicos. Por ser método não-invasivo pode ser utilizado em substituição à biópsia hepática para seguimento dos pacientes com AF, quando não houver doença hepática associada. Sendo o primeiro estudo a fazer essa avaliação em pacientes com AF.

**PALAVRAS-CHAVE:** anemia falciforme, ressonância magnética, biópsia hepática, ferritina.

## ABSTRACT

**PURPOSE:** Comparing MRI with liver biopsy as a tool for identification and quantification of liver iron overload in patients with sickle cell anemia.

**MATERIALS AND METHODS:** Cross-sectional study involving patients with sickle cell anemia using blood transfusions. We compared the results of the baseline serum ferritin in the absence of acute complications, the estimated liver iron concentration by magnetic resonance imaging and semiquantitative determination of iron in a fragment of liver tissue obtained by percutaneous biopsy.

**RESULTS:** We observed a statistically significant correlation between the degree of iron overload identified in a fragment of liver tissue (Scheuer criteria) and the estimated mean concentration of iron calculated from the intensity of the signal detected by MRI ( $p = 0.001$ ) relationship that keeps when groups the results in the group without or normal overload (Scheuer zero and one) and presence of overload (Scheuer 2- 4),  $p = 0,014$ .

**DISCUSSION:** MRI was able to differentiate patients with and without iron overload when compared with histological data. Being non-invasive method can be used to replace liver biopsy for monitoring of patients with sickle cell anemia when there is no associated liver disease. This is the first study to make this assessment in patients with sickle cell anemia.

**KEY WORDS:** sickle cell anemia, blood transfusion, ferritin, liver biopsy, MRI.

## 2. INTRODUÇÃO

A Anemia falciforme (AF) é a hemoglobinopatia hereditária mais freqüente no mundo que afeta principalmente a população negra<sup>1</sup>. Herrick em 1910 observou à microscopia hemácias anômalas e alongadas em um paciente negro da América Central, sendo esta a primeira citação a respeito de AF na literatura<sup>2,3</sup>.

A mutação ocorre no cromossomo 11, posição 6, da cadeia  $\beta$  da hemoglobina A, representada pela substituição da base adenina por timina dando origem ao aminoácido ácido glutâmico ao invés de valina<sup>4</sup>. Esta mutação resulta na transformação da hemoglobina A em hemoglobina falciforme – HbS. A união de duas mutações provenientes dos pais, sendo estes traço falciforme ou portadores da AF, resulta em um filho com AF (HbSS)<sup>5</sup>. As moléculas de HbS podem sofrer polimerização provocando a alteração clássica dos glóbulos vermelhos, o fenômeno de falcização, quando as hemácias passam a se apresentar em forma clássica de foice. Dentre os diversos mecanismos fisiopatológicos consequentes dessa mutação, a oclusão da microvasculatura com isquemia tecidual é característico<sup>6</sup>.

A variabilidade das manifestações clínicas desta anemia hemolítica crônica é o resultado da combinação de fatores hereditários e ambientais<sup>7</sup>. O quadro clínico da AF é de amplo espectro e atinge diversos órgãos e sistemas, interferindo significativamente na qualidade de vida dos seus portadores. Crises algicas, síndrome mão-pé, necrose da cabeça do fêmur, crescimento e desenvolvimento puberal atrasado, síndrome torácica aguda, priapismo, seqüestro esplênico, fibrose esplênica progressiva, insuficiência renal crônica, acidente vascular encefálico são as principais apresentações clínicas da AF<sup>8</sup>.

Transfusões sanguíneas são utilizadas nas complicações agudas da AF devido às opções terapêuticas para esses pacientes serem limitadas e esta condição apresentar alta taxa de morbidade<sup>9</sup>. Cerca de 20 a 30% dos pacientes com doença falciforme são submetidos à

transfusão crônica de hemácias. Esses pacientes apresentam melhora do curso da doença, reduzindo o número de internações, crises vaso-oclusivas, síndrome torácica aguda. Todavia, esse regime de transfusão sanguínea tem como consequência o desenvolvimento de sobrecarga de ferro após 10 a 20 unidades de concentrados de hemácias. Em poucos meses, esses pacientes evoluem para valores elevados de hemocromatose conferindo-lhes maiores riscos de complicações, como doença cardíaca e morte precoce<sup>10</sup>.

Pode-se avaliar a concentração de ferro hepático, dentre outros métodos, através da dosagem sérica da ferritina, do resultado da biópsia hepática e recentemente lança-se mão de métodos de imagem como a ressonância magnética (RM), este último através da utilização da intensidade do sinal na sequência T2. Esta sequência fornece através de uma fórmula os valores de concentração hepática estimada de ferro, demonstrando ausência de sobrecarga hepática de ferro quando seu valor está abaixo de 20 $\mu$ mol/g. Valores entre 20-39  $\mu$ mol/g indica nível normal ou leve de sobrecarga. Entre 40-79  $\mu$ mol/g indica nível moderado de sobrecarga. Valores acima de 80  $\mu$ mol/g significam importantes níveis de sobrecarga de ferro<sup>11</sup>. A dosagem de ferritina tem sido descrita como um método falível no acompanhamento da sobrecarga hepática de ferro. A biópsia hepática é um método invasivo que apresenta pequeno risco de perfuração de outro órgão abdominal, injúria ao fígado, assim como sangramentos e infecções<sup>12</sup>. A graduação arbitrária pelo método de Perls fornece a classificação de Scheuer, que varia de 0 a IV, sendo 0 considerado ausente, I considerado normal e II, III e IV sinalizam aumento dos depósitos de ferro<sup>5,10</sup>. O desconforto e os riscos ocasionados pela biópsia hepática têm impulsionado recentemente pesquisas com métodos não-invasivos para avaliar a sobrecarga hepática de ferro, como a RM, na tentativa de aprimorar o método diagnóstico desses pacientes<sup>13</sup>. Não existe na literatura brasileira e internacional trabalhos comparativos a respeito de sobrecarga hepática de ferro entre a RM e a biópsia hepática nos pacientes com AF.

### 3- MATERIAIS E MÉTODOS

Foi realizado um estudo transversal dos pacientes portadores de AF em seguimento no ambulatório de Hematologia do Hospital Universitário do estado de Sergipe, em parceria com os serviços de Hepatologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe e com a clínica CEMISE durante o período 2009 e 2010.

A análise foi feita através da comparação entre os grupos por meio dos testes qui-quadrado ou Mann-Withney (variáveis proporcionais e quantitativas discretas) e pelo teste “t” para amostras independentes ou Kruskal Wallis (variáveis quantitativas contínuas), sendo considerável o nível de significância de 5% ( $p < 0,005$ ). Para análise dos dados foram utilizadas as médias e desvios-padrão para variáveis quantitativas e distribuição de frequência para variáveis proporcionais. As correlações entre a concentração hepática estimada de ferro e parâmetros clínicos e laboratoriais foram avaliadas pelo coeficiente de correlação de *Pearson*.

Foram incluídos no estudo aqueles pacientes que:

- a) são portadores de AF comprovada pela eletroforese de hemoglobina e que fazem acompanhamento no ambulatório de hematologia pediátrica do Hospital Universitário de Sergipe;
- b) possuem ferritina sérica maior que 1000 ng/dL, comprovada por dosagem sérica dessa proteína;
- c) tenham idade igual ou maior que cinco anos, por questões referentes à realização da biópsia hepática.

Foram excluídos pacientes que apresentaram doença hepática crônica não relacionada à AF.

A população submetida à dosagem de ferritina foi de pacientes portadores de AF deste ambulatório, total de duzentos e setenta e seis pacientes. Obtiveram-se os resultados de 157 pacientes, dos quais 34 tiveram o valor da ferritina  $> 1000$  ng/dL. Desses pacientes com

ferritina superior à 1000 ng/dL: dois não foram incluídos segundo critério de idade, um devido a seqüelas motoras de AVE. Os pacientes que foram submetidos a ambos os métodos de análise de sobrecarga hepática, RM e biópsia hepática, totalizaram 23 pacientes. Foram analisados os dados clínicos e laboratoriais dos 31 pacientes elegíveis à biópsia hepática.

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição responsável (CAE 0013.0.107.000-09) e os consentimentos dos pacientes ou pais/responsáveis foram expressos pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

#### 4- RESULTADOS

Duzentos e setenta e seis pacientes eram elegíveis, sendo avaliada a ferritina sérica de 157. Vinte e três pacientes desse grupo realizaram RM de fígado e tiveram os resultados correlacionados com a histologia hepática. Os dados clínicos e laboratoriais do grupo com ferritina superior a 1000 ng/dl referem-se aos 31 pacientes desse grupo.

A tabela 1 mostra o perfil dos pacientes de AF estudados, em relação à idade e sexo, como também, dados descritivos sobre o grupo de regime transfusional em que o paciente se encontra, número de transfusões por ano, uso de hidroxiuréia, presença de cálculos biliares e percentual de hemoglobina fetal (HbF). A tabela 1 também apresenta dados laboratoriais: ferritina, ferro, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), leucócitos, hemoglobina (Hb) e hematócrito (Ht), sendo esses três últimos avaliados através da média anual. Além disso, descreve a média, desvio-padrão, mediana e valores mínimos e máximos da concentração hepática de ferro (CHEF) e a classificação de Scheuer, como também presença de congestão sinusoidal, de fibrose e padrão da hemossiderose encontrados na análise do fragmento hepático.

A idade média dos pacientes estudados foi de 15,74 (6 a 29) anos e houve equivalência entre os sexos (17, feminino e 14, masculino). Pacientes que recebem transfusão

de hemácias ocasionalmente foram os mais frequentes (71%), com média de 4,7 transfusões por ano. Dos 31 pacientes analisados, 45,2% faziam uso de hidroxiuréia, e cálculos biliares estavam presentes em 71%, achado decorrente de hemólise crônica. A média de ferritina foi de 1481,8 ng/dl (menor e maior). A média de CHEF foi de 124,5. Na classificação de Scheuer 8 pacientes apresentaram grau 4 (33,3%). A congestão sinusoidal esteve presente em 22 pacientes (92,7%) e 15 pacientes não apresentaram fibrose (62,5%). Apresentaram padrão misto de hemossiderose 15 pacientes (62,5%).

Tabela 1- Dados descritivos dos pacientes portadores de anemia falciforme em avaliação para sobrecarga hepática de ferro.

<b>Variável clínica</b>	<b>N (%)</b>	<b>Mediana (mínimo e máximo) Média (desvio-padrão)</b>
<b>Idade</b>		15 (6 a 29) 15,74 (5,9)
<b>6-10</b>	6 (19,35)	
<b>11-20</b>	18 (58,06)	
<b>21-30</b>	7 (22,58)	
<b>Sexo masculino</b>	14 (45,17)	
<b>Regime transfusional</b>		
<b>Grupo regular</b>	9 (29)	
<b>Grupo ocasional</b>	22 (71)	
<b>Número de transfusões (média/ano)</b>		3 (0 e 13) 4,7 (4,8)
<b>Hidrêia</b>		
<b>Sim</b>	14 (45,2)	
<b>Cálculos biliares</b>		
<b>Sim</b>	22 (71)	
<b>Hemoglobina Fetal (%)</b>		7,5 (0 e 21) 8,9 (5,5)
<b>Ferritina (ng/dL)</b>		1443 (1004 e 2403) 1481,8 (346,1)
<b>CHEF (<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>		95,4 (19,03 e 286,4) 124,5 (87,6)
<b>Classificação de Scheuer (graus)</b>		

<b>0</b>	1 (4,2)	
<b>1</b>	4 (16,7)	
<b>2</b>	5 (20,8)	
<b>3</b>	6 (25)	
<b>4</b>	8 (33,3)	
<b>Congestão sinusoidal</b>		
<b>Sim</b>	22 (91,7)	
<b>Fibrose</b>		
<b>Sim</b>	9 (37,5)	
<b>Padrão de hemossiderose</b>		
<b>Misto</b>	15 (65,2)	
<b>Reticulo-endotelial</b>	8 (34,8)	
<b>Ferro sérico (mg/dL)</b>		123 (42 e 352) 125,1 (72,74)
<b>Aspartato aminotransferase (UI/L)</b>		40,5 (20 e 127) 44,8 (23,33)
<b>Alanina aminotransferase (UI/L)</b>		33 (12 e 179) 36,86 (29,54)
<b>Leucócitos (mm<sup>3</sup>)</b>		11800 (6100 e 16800)
<b>(média/ano)</b>		12037 (2754,4)
<b>Hemoglobina (mg/dL)</b>		8,4 (6,5 e 10,7)
<b>(média/ano)</b>		8,5 (1,26)
<b>Hematócrito (%)</b>		26,85 (19,4 e 31)
<b>( média/ano)</b>		25,58 (5,77)

A tabela 2 correlaciona parâmetros clínicos e laboratoriais com os métodos de avaliação de CHEF e Scheuer. Os dados laboratoriais (Fe, Hb, Ht, AST, ALT, leucócitos, HbF) não mostraram correlação significativa entre os dois métodos, demonstrando que esses dados não são capazes de prever sobrecarga hepática de ferro. A ferritina sérica mostrou correlação moderada com CHEF (0,5235), mas não mostrou significância quando comparado com o Scheuer (p=0,251). Os dados clínicos correlacionados com CHEF e Scheuer foram cálculos biliares, regime transfusional e idade. Houve correlação significativa entre CHEF e regime transfusional (p=0,0397), mas não houve com Scheuer.

Tabela 2- Correlação entre dados clínicos e laboratoriais com os métodos de avaliação de sobrecarga hepática de ferro: concentração hepática estimada de ferro por ressonância magnética (CHEF) e determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático (Scheuer) em pacientes portadores de anemia falciforme em avaliação para sobrecarga hepática de ferro

	CHEF (media; DP)	p	Scheuer (N;%)		p <sup>&amp;</sup>
			1 <sup>+</sup>	2 <sup>@</sup>	
<b>Cálculos</b>					
<b>Sim</b>	164,2; 96,7	0,1666*	1	5	0,633
<b>Não</b>	110,6; 82,3		4	14	
<b>Regime</b>					
<b>Regular</b>	181,2; 98,4	0,0397*	1	4	0,359
<b>Ocasional</b>	96,1; 68,1		8	11	
<b>Idade (media; desvio-padrão)</b>	15,7; 5,9	0,2813#	10,8; 3,4	16; 5,9	0,069
<b>Hemoglobina (mg/dl)</b>	8,5; 1,2	0,0375#	8,7; 1,6	8,57; 1,22	0,886
<b>Leucócitos</b>	12037; 2754,4	0,2795#	13280; 3364	11681; 2548	0,318
<b>Hemoglobina Fetal (%)</b>	8,9; 5,5	0,0248#	11,1; 6,9	7,16; 3,2	0,457
<b>Fe (mg/dL)</b>	125,1; 72,7	0,1620#	110,7; 35,8	131,9; 83,3	0,823
<b>Ferritina (ng/dL)</b>	1481,8; 343,1	0,5235#	1302,4; 182,4	1546,2; 397,7	0,251
<b>AST (UI/L)</b>	44,8; 23,3	0,4835#	37; 11,4	48,7; 27,6	0,411
<b>ALT (UI/L)</b>	36,8; 29,5	0,3963#	25,4; 11,2	41,8; 36,9	0,232

\*Kruskal-Wallis

# Coef. Correlação de Pearson

<sup>&</sup>Exato de Fisher

<sup>+</sup>Referente aos graus 0 e I de Scheuer

<sup>@</sup>Referente aos graus II, III e IV de Scheuer

A tabela 3 apresenta a comparação entre os métodos de avaliação utilizados neste estudo para avaliação de sobrecarga de ferro hepática. Após realizar a análise estatística entre os métodos foi observado um p significativo ( $p < 0,05$ ) demonstrando que a análise através da RM, utilizando CHEF, correlaciona-se com o grau de sobrecarga de ferro hepática quando comparado à análise do fragmento hepático, por Scheuer.

Tabela 3 – Correlação entre concentração hepática estimada de ferro por ressonância magnética (CHEF) e determinação semiquantitativa de ferro em fragmento de tecido hepático (Scheuer) em pacientes portadores de anemia falciforme em avaliação para sobrecarga hepática de ferro.

<b>CHEF</b>	<b>N</b>	<b>Média</b> <b>(<math>\mu\text{mol/g}</math>)</b>	<b>DP</b>	<b>Mediana</b>	<b>Intervalo</b>	<b>p</b>
<b>Scheuer</b>						
<b>0</b>	1	27,01	0	27,01	27-27	
<b>1</b>	4	49,38	28,61	45,19	19,08- 88,11	0,001*
<b>2</b>	5	73,89	38,5	74,1	34,52- 126,07	
<b>3</b>	6	128,78	82,13	124,24	20,21- 261,08	
<b>4</b>	8	218,12	68,75	234,09	75,42- 286,42	
<b>Sem sobrecarga de ferro (Scheuer 0 e I)</b>	5	44,9	26,72	44,63	19,03- 88,11	0,014 <sup>#</sup>
<b>Com sobrecarga de ferro (Scheuer</b>	19	151,95	88,65	147,52	20,21- 286,42	

---

**II a IV)**

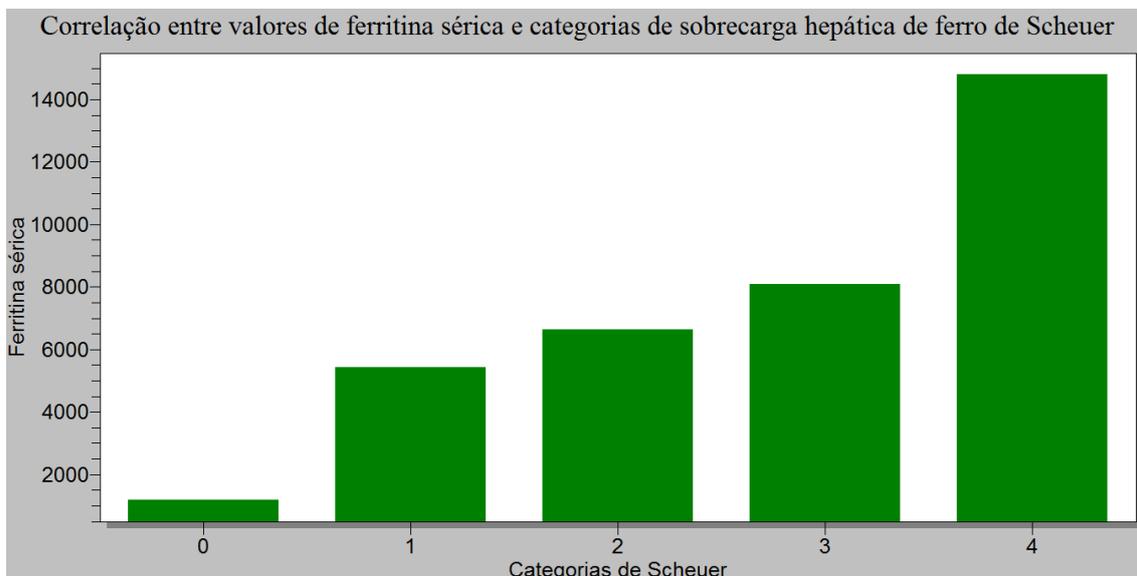
---

\*ANOVA

# Kruskal-Wallis

A figura 1 correlaciona os níveis de ferritina sérica com as categorias de sobrecarga hepática de Scheuer. Observa-se que quanto maior o nível de ferritina maior é o grau de sobrecarga hepática de acordo com esta classificação.

Figura 1- Correlação entre valores de ferritina sérica e categorias de sobrecarga hepática de ferro de Scheuer.



### 3- DISCUSSÃO

A busca por um método de avaliação de sobrecarga hepática de ferro não-invasivo, acurado e que possa ser repetido de acordo com a necessidade do paciente levou a este grupo comparar a RM com biópsia hepática nos pacientes com anemia falciforme.

A indicação de biópsia hepática como padrão-ouro para avaliação de sobrecarga hepática de ferro mostrou-se ser, em estudo anterior, um método invasivo e impraticável para este fim no seguimento do paciente<sup>5, 9</sup>. A possibilidade da RM como método não-invasivo para avaliar o excesso de deposição do ferro hepático foi visualizado em outros estudos<sup>6, 9, 10</sup>. O presente trabalho é o primeiro estudo a avaliar a sobrecarga hepática de ferro através da comparação entre RM e a histologia hepática em pacientes com anemia falciforme.

Foram utilizados os valores de ferritina acima de 1000 ng/dL como ponto de partida para análise de sobrecarga hepática de ferro através da biópsia hepática, como sugerido por Alústiza e colaboradores<sup>11</sup>. Apesar de estudos mostrarem que apenas uma medida de ferritina não seja tão acurada devido à influência de diversos fatores (infecções, hepatopatias, cânceres)<sup>12, 13, 14</sup>, o presente estudo utilizou-se de apenas uma medida do paciente AF sem intercorrências agudas.

No presente estudo observou-se correlação entre os valores de ferritina sérica e CHEF. Entretanto não foi evidenciada correlação dos valores de ferritina sérica com Scheuer. Este resultado mostrou-se diferente do trabalho de Mazza e colaboradores<sup>15</sup> quando realizadas as mesmas correlações em pacientes com talassemia.

Ao observar nossos resultados entre o CHEF e o Scheuer foi evidenciado uma significativa relação ( $p < 0,05$ ) entre ambos os métodos de avaliação de sobrecarga hepática de ferro nos pacientes com AF. No trabalho de Bonkovsky e colaboradores<sup>16</sup> foi utilizada a RM como um método não-invasivo e acurado para estimar a concentração hepática de ferro. Portanto faz-se mister utilizar a RM no lugar de biópsia hepática para efeito de seguimento de pacientes com AF com sobrecarga hepática de ferro, quando não houver doença hepática associada.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Gladwin MT, Vichinsky E. Pulmonary Complications of Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2008;359:2254-65.
2. Hsieh MM, Kang EM, Fitzhugh CD, Link MB et al. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med.* 2009;361:2309-17.
3. Murao M, Viana MB. Risk factors for alloimmunization by patients with sickle cell disease. *Braz J Med Biol Res.* 2005;38:675-82.
4. Cançado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev. bras. hematol. Hemoter.* 2007;29:203-06.
5. Harmatz P, Butensky E, Quirolo K et al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood.* 2000;96:1:76-79.
6. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med.* 2000;343:5:327-32
7. Anvisa. Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doença Falciformes. 2008.
8. Zago M A, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29:3:207-14.
9. Schein A, Enriquez C, Coates TD et al. Magnetic resonance detection of kidney iron deposition in sickle cell disease: a marker of chronic hemolysis. *J Magn Reson Imaging.* 2008;28:3:698-704.
10. Cançado RD. Sobrecarga e quelação de ferro na anemia falciforme. *Rev. bras. hematol. hemoter.* 2007;29:3:316-26.
11. Alústiza JM, Artexte J, Castiella A et al. MR quantification of iron hepatic concentration. *Radiology.* 2004;230:2:479-84.

12. Kohgo Y et al. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008;88:7–15.
13. Angulo IL et al . Determination of iron-overload in thalassemia by hepatic MRI and ferritin. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*2008:30-36.
14. Vermynen C. What is new in iron overload? *Eur. J Pediatr.* 2008;167:377-81.
15. Mazza P, Giua R, Marco S et al. Iron overload in thalassemia: comparative analysis of magnetic resonance imaging, serum ferritin and iron content of the liver. *Haematologica.* 1995;80:398-404.
16. Bonkovsky HL, Rubin RB, Cable RR et al. Hepatic iron concentration: noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. *Radiology.* 1999;212:1:227-34.

APÊNDICE 2 – ARTIGO ORIGINAL (DADOS PRELIMINARES) SUBMETIDO À  
REVISTA “RADIOLOGIA BRASILEIRA”, EM APRECIÇÃO

## ARTIGO ORIGINAL

SOBRECARGA DE FERRO TRANSFUSIONAL EM PORTADORES DE ANEMIA FALCIFORME: AVALIAÇÃO POR RESSONÂNCIA MAGNÉTICA

TRANSFUSIONAL IRON OVERLOAD IN PATIENTS WITH SICKLE CELL DISEASE: MAGNETIC RESSONANCE IMAGING EVALUATION

## Autores:

Lécio dos Anjos Bourbon Filho. Bourbon-Filho, L.A. - Graduando em Medicina, Universidade Federal de Sergipe (UFS)

Thiago de Oliveira Ferrão. Ferrão, T.O. - Médico Radiologista, Mestrando em Ciências da Saúde; professor-assistente do Departamento de Medicina, UFS

Alex Vianey Callado França. França, A.V.C. – Médico Hepatologista, Doutor em Medicina; professor livre-docente do Departamento de Medicina, UFS

Ricardo Dantas Rocha. Rocha, R.D. - Graduando em Medicina, UFS

Lorena Dias Dantas. Dantas, L.D. - Graduando em Medicina, UFS

Rosana Cipolotti – Cipolotti, R. - Médica Hematologista Pediátrica, Doutora em Medicina; professora adjunta do Departamento de Medicina, UFS.

## 1. Resumo

**OBJETIVOS:** Identificar variáveis preditoras de sobrecarga de ferro em portadores de anemia falciforme (AF), e correlacionar indicadores bioquímicos e imaginológicos.

**MATERIAIS E MÉTODOS:** Trinta e dois portadores de AF foram submetidos à dosagem sérica de ferro, ferritina e a ressonância magnética (RM) do fígado. Foram realizadas cinco sequências *gradiente-echo* e uma *spin-echo*. A intensidade de sinal foi obtida em cada sequência pelas médias das regiões de interesse no fígado e musculatura paravertebral para obter a razão da intensidade de sinal (RIS) fígado/músculo. A partir da RIS foi obtida a concentração hepática estimada de ferro (CHEF) pela fórmula:  $e^{[5,808 - (0,877 \times T2^*) - (1,518 \times PI)]}$ , onde T2\* é a RIS na sequência com TE de 13ms e PI é a RIS da sequência com ponderação intermediária.

**RESULTADOS:** As intensidades de sinal foram significativamente menores no grupo com ferritina mais elevada. O grupo que recebeu hemotransfusões regulares apresentou sobrecarga de ferro hepático mais intensa. Os grupos transfusionais foram confrontados através da comparação de todas as variáveis clínicas e laboratoriais estudadas, sendo significativas as diferenças entre RIS, CHEF e ferritina sérica.

**CONCLUSÃO:** Valores elevados de CHEF obtidos por RM se associaram a elevação da ferritina sérica.

**UNITERMOS:** anemia falciforme, ressonância magnética, ferritina.

## ABSTRACT

**PURPOSE:** To identify predictors of iron overload in patients with sickle cell submitted to two different transfusional regimens, and to correlate with imaging and biochemical markers.

**MATERIALS AND METHODS:** Cross-sectional study of 32 sickle cell patients using sporadic or regular blood transfusion, evaluating serum iron, ferritin and magnetic resonance imaging. Signal intensity (SI) was measured on images obtained with each sequence by means of regions of interest placed in the liver and paraspinal muscle to obtain the liver-to-muscle SI ratio.

**RESULTS:** Magnetic resonance imaging showed lower signal intensities in the group with high ferritin levels, a statistically significant difference ( $p < 0.05$ ). The transfusion group was shown to be predictive of iron overload, more intense in the regular transfusion group ( $p = 0.0032$   $p = 0.0234$ , respectively for the cutoffs estimated hepatic iron concentration at 40 and 80 mmol/g). Transfusional groups were compared to each other by comparing all the clinical and laboratory markers of the study. The values that showed statistical difference were the signal intensities of magnetic resonance imaging, estimated liver iron concentration, and serum ferritin.

**CONCLUSION:** Elevated values of estimated hepatic iron concentration were associated with high serum ferritin, showing mild linear correlation.

**KEYWORDS:** sickle cell anemia, magnetic resonance imaging, ferritin.

## 2. Introdução

Na vigência de complicações agudas da anemia falciforme (AF), a queda adicional da hemoglobina pode precipitar descompensação da função cardiorrespiratória, tornando a transfusão de hemácias um recurso terapêutico de grande importância <sup>1</sup>. Com a administração frequente e a longo prazo, algumas complicações como sobrecarga de ferro podem ocorrer <sup>2</sup>, já que não existe mecanismo de excreção ativa desse micronutriente. As principais manifestações de sobrecarga de ferro avançada são as disfunções de órgãos como fígado, coração e órgãos endócrinos.

Existem métodos diretos e indiretos para a aferição do ferro corporal <sup>3</sup>. A ferritina sérica é o mais disponível e facilmente reproduzível, apesar de não possuir boa especificidade <sup>3</sup>. A biópsia hepática, apesar de ser o método validado como padrão de referência, é invasiva e, portanto, possui riscos inerentes ao procedimento <sup>4</sup>. Por isso, discute-se a possibilidade de substituição desse exame por um procedimento de avaliação por imagem, não invasivo, como a ressonância magnética (RM) <sup>5</sup>.

Vários estudos descrevem o uso da RM na quantificação do conteúdo hepático de ferro, com resultados variáveis entre si <sup>5, 6, 7, 8</sup>. A sobrecarga férrica causa redução da intensidade do sinal no parênquima hepático e a aferição dessa sobrecarga é possível, pois existe uma correlação entre a magnitude da redução do sinal e o grau de excesso de ferro <sup>8</sup>.

O presente estudo tem como objetivo correlacionar indicadores bioquímicos e imaginológicos de sobrecarga de ferro em portadores de anemia falciforme, identificando variáveis preditoras em pacientes submetidos a dois regimes transfusionais diferentes.

## 3. Materiais e métodos

Foi realizado um estudo transversal envolvendo pacientes acompanhados em ambulatório de referência do Estado de Sergipe, na região Nordeste do Brasil. Trata-se de área de elevada prevalência do gene para hemoglobina S devido à composição étnica da população <sup>9</sup>. Foram elegíveis os pacientes

portadores de AF comprovada por eletroforese de hemoglobina que já haviam sido submetidos à transfusão sanguínea. Foram excluídos pacientes que apresentassem doença hepática crônica não relacionada à AF.

Trinta e dois pacientes foram selecionados seqüencialmente e divididos em dois grupos: o primeiro foi composto por pacientes que faziam uso de transfusão sanguínea de modo esporádico (GE), em decorrência de complicações, e o segundo por pacientes que faziam uso de transfusão sanguínea de modo regular (GR): 10mL/kg a 20mL/kg administrados com periodicidade mensal por antecedente de acidente vascular encefálico ou úlceras maleolares crônicas.

Todos os pacientes foram submetidos a exame físico, exames laboratoriais (ferritina sérica, ferro sérico, aminotransferases e hemograma) e RM. Os resultados desses exames foram cruzados e comparados entre si e entre ambos os grupos. A RM de abdome superior foi realizada em aparelho Siemens® Magnetom Avanto 1,5T, Munique, Alemanha, sem utilização de contraste ou sedação.

Os parâmetros utilizados nas seqüências foram baseados no protocolo proposto por Alústiza<sup>8</sup>. A técnica consistiu de cinco seqüências GRE (adquiridas em apnéia, com 20 cortes cada), e uma seqüência TSE *trigger* (sincronizada com os movimentos respiratórios, com 35 cortes), cujos detalhes estão descritos no quadro 1.

QUADRO 1. Parâmetros das seqüências das imagens da RM

Seqüência	TE <sup>a</sup>	TR <sup>b</sup>	SL <sup>c</sup>	FA <sup>d</sup>	FOV <sup>e</sup>
GE <sup>f</sup> ponderada em T1	4	120	7	90°	370
GE PI <sup>g</sup>	4	120	7	20°	370
GE ponderada em T2*	9	120	7	20°	370
GE ponderada em T2*	14	120	7	20°	370
GE ponderada em T2*	21	120	7	20°	370
TSE <sup>h</sup> ponderada em T2	82	3650	5	-	380

a) tempo de eco (ms) b) tempo de repetição (ms) c) espessura de corte (mm) d) *flip angle* e) *field of view* (mm) f) gradiente eco g) ponderação intermediária h) *turbo spin echo*

Alguns dos parâmetros originalmente descritos<sup>8</sup> foram modificados para melhorar a razão sinal-ruído, o que foi observado experimentalmente no início do trabalho, através de estudo-piloto.

Todas as imagens foram analisadas por um radiologista somente, devidamente habilitado e capacitado (T.O.F., Membro Titular do Colégio Brasileiro de Radiologia). Os ROI (*region of interest*),

com medição mínima de 1cm<sup>2</sup>, foram posicionados em três áreas do lobo hepático direito para medida da intensidade de sinal (IS) e em duas áreas da musculatura paravertebral, uma à direita e outra a esquerda, distantes das bases pulmonares, de vasos hepáticos e de áreas heterogêneas, de modo a evitar artefatos. Foi obtida a média aritmética das três medidas hepáticas e das duas medidas musculares, e calculada a razão entre as médias, denominada razão de intensidade de sinal (RIS). A RIS foi utilizada, ao invés da IS isolada do tecido hepático, porque a RIS considera a queda usual da intensidade de sinal que ocorre normalmente à medida que o tempo de eco se prolonga, e pela necessidade de um tecido de referência, a musculatura paravertebral, que usualmente não sofre deposição de ferro. A partir da RIS pode ser obtida a concentração hepática estimada de ferro (CHEF), através da fórmula:

$$e^{[5,808 - (0,877 \times T2^*) - (1,518 \times PI)]}$$

onde T2\* é a RIS obtida na seqüência com TE de 14ms e PI é a RIS da seqüência com ponderação intermediária. Estudo anterior indica que essa fórmula mostra excelente correlação entre RIS e concentração hepática de ferro medida em tecido hepático obtido por biópsia ( $r=0,937$ )<sup>8</sup>.

Para análise dos dados foram utilizadas as médias e desvios-padrão para variáveis quantitativas e distribuição de freqüência para variáveis proporcionais.

A comparação entre os grupos foi feita através dos testes qui-quadrado ou teste de Fisher (variáveis proporcionais e quantitativas discretas) e pelo teste “t” para amostras independentes ou *Kruskal-Wallis* (variáveis quantitativas contínuas), sendo considerado o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ). A correlação entre RIS e dosagem sérica de ferro e ferritina foi avaliada pelo coeficiente de correlação de *Pearson* ( $r$ ).

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição responsável (CAE 0013.0.107.000-09), e os consentimentos dos pacientes ou pais/responsáveis foram expressos pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

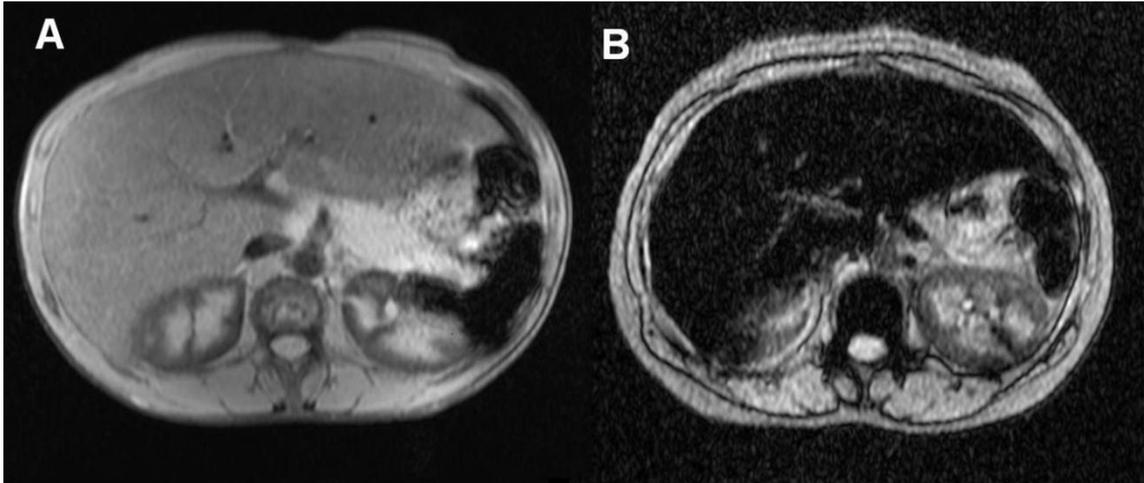
#### 4. Resultados

Trinta e dois pacientes foram submetidos a RM e tiveram suas ferritinas séricas aferidas. Desse total de pacientes, 23/32 (78,12%) faziam uso de transfusão sanguínea de modo esporádico (GE) enquanto 9/32 (28,12%) faziam parte do grupo de transfusão regular (GR).

Houve discreto predomínio do gênero masculino, com 19/32 pacientes (59,37%). A idade média foi de  $14,21 \pm 5,46$  anos. O valor médio de ferritina sérica foi de  $1.124,34 \pm 644,26\mu\text{g/L}$ , e o de ferro sérico foi  $123,94 \pm 45,12\mu\text{g/dL}$ . Os valores médios de ALT (alanina transaminase) e AST (aspartato transaminase) foram  $35,62 \pm 27,82\text{U/L}$  e  $46,65 \pm 23,12\text{U/L}$ , respectivamente. A hemoglobina média anual foi  $8,20 \pm 1,24\text{g/dL}$ , a contagem total de leucócitos teve média de  $12.009 \pm 3764/\text{mm}^3$  e a de plaquetas,  $370.853 \pm 134.101/\text{mm}^3$ .

Os pacientes foram estratificados quanto à sobrecarga de ferro de acordo com a CHEF calculada a partir dos resultados da RM segundo dois pontos de corte:  $40\mu\text{mol/g}$  e  $80\mu\text{mol/g}$ , e avaliadas as variáveis clínicas e laboratoriais preditoras de intensidade de sobrecarga de ferro. A Figura 1 mostra as imagens obtidas por RM do fígado de um paciente com CHEF de  $20,7\mu\text{mol/g}$  (A) e de  $262,2\mu\text{mol/g}$  (B).

A ferritina apresentou média 58% superior no grupo com sobrecarga de ferro, quando se utilizou  $40\mu\text{mol/g}$  como ponto de corte, e 50% maior, quando o corte foi feito com  $80\mu\text{mol/g}$ , sendo em ambos os casos as diferenças estatisticamente significativas ( $p = 0,0001$  e  $p = 0,0002$ , respectivamente). A variável “grupo transfusional” se mostrou preditora de sobrecarga, sendo esta mais intensa no grupo que recebe transfusões regulares ( $p = 0,0032$  e  $p = 0,0234$ , respectivamente para os pontos de corte de CHEF em  $40\mu\text{mol/g}$  e  $80\mu\text{mol/g}$ ). As outras variáveis não apresentaram significância estatística, como demonstrado na Tabela 1.



**Figura 1. Ressonância magnética abdominal, seqüência ponderada em T2\* (TE=13ms). A: paciente com CHEF\* de 20,7 µmol/g. B: paciente com CHEF\* igual a 262,2 µmol/g. Observa-se a evidente diferença de intensidade de sinal entre os fígados.**

**\*Concentração hepática estimada de ferro**

**TABELA 1. Características gerais dos pacientes de acordo com a concentração hepática estimada de ferro, demonstrada com dois pontos de corte e seus respectivos p.**

	Concentração hepática estimada de ferro (µmol/g)					
	> 40	< 40	P	> 80	< 80	P
Idade	14,42	13,9	0,8229	15,2	13,3	0,3047
Masc <sup>a</sup>	63(12/19)	38,4(5/13)	0,1766	57 (8/14)	50(9/18)	0,4681
AST <sup>b</sup>	45,94	47,21	0,8734	46,5	46,7	0,9928
ALT <sup>c</sup>	39,31	29,50	0,4515	41,21	31,27	0,7812
Hb <sup>d</sup>	8,41	7,90	0,2280	8,31	8,12	0,5857
Leuco <sup>e</sup>	12257	11932	0,3721	12014	12005	0,7947
Plaquetas <sup>f</sup>	400015	329678	0,1451	378378	365000	0,7619
Ferro (µg/dL)	121,20	127,73	0,6959	128,44	120,24	0,6203
Ferritina(µg/L)	1477,49	608,20	0,0001	1560,07	785,44	0,0002
GE <sup>g</sup>	52(10/19)	100(13/13)	0,0032	50(7/14)	88,8(16/18)	0,0234
GR <sup>h</sup>	48(9/19)	0(0/13)		50(7/14)	11,2(2/18)	

a) Gênero masculino; b) Aspartato transaminase (U/L); c) Alanina transaminase (U/L); d) Hemoglobina anual média (g/dL); e) Leucograma anual médio (/mm<sup>3</sup>); f) Plaquetas anuais médias (/mm<sup>3</sup>); g) Grupo transfusional esporádico; h) Grupo transfusional regular.

A correlação entre as médias das razões de intensidade de sinal obtidas por RM e a ferritina sérica, tendo como parâmetro dois grupos de referência (1000mg/dL e 500mg/dL), foi calculada e se encontra expressa na Tabela 2. Observa-se que todas as seqüências da RM apresentaram intensidades

de sinal menores no grupo com ferritina mais elevada, para ambos os pontos de corte, resultado estatisticamente significativo. O mesmo não foi visto quando se usou o ferro sérico como referência.

TABELA 2. Ponderação das seqüências da RM e sua relação com dois grupos de ferritina e com o ferro, além dos seus respectivos p.

IS	Ferritina ( $\mu\text{g/L}$ )			Ferro ( $\mu\text{g/dL}$ )					
	> 1000	< 1000	p	> 500	< 500	P	> 150	< 150	P
T1 <sup>a</sup>	0,7233	1,2145	0,0017	0,7952	1,2386	0,0062	0,8729	0,9188	0,8082
PI <sup>b</sup>	0,6433	1,0818	0,0005	0,7036	1,1171	0,0014	0,7486	0,8025	0,7618
T2* 9ms <sup>c</sup>	0,3795	0,9509	0,0002	0,4472	1,0357	0,0008	0,5729	,5929	0,9111
T2* 13ms <sup>c</sup>	0,2971	0,9009	0,0001	0,3556	1,0371	0,0001	0,4714	0,5304	0,7448
T2* 21ms <sup>c</sup>	0,2024	0,7309	0,0002	0,2332	0,9229	0,0001	0,3386	0,4075	0,6752

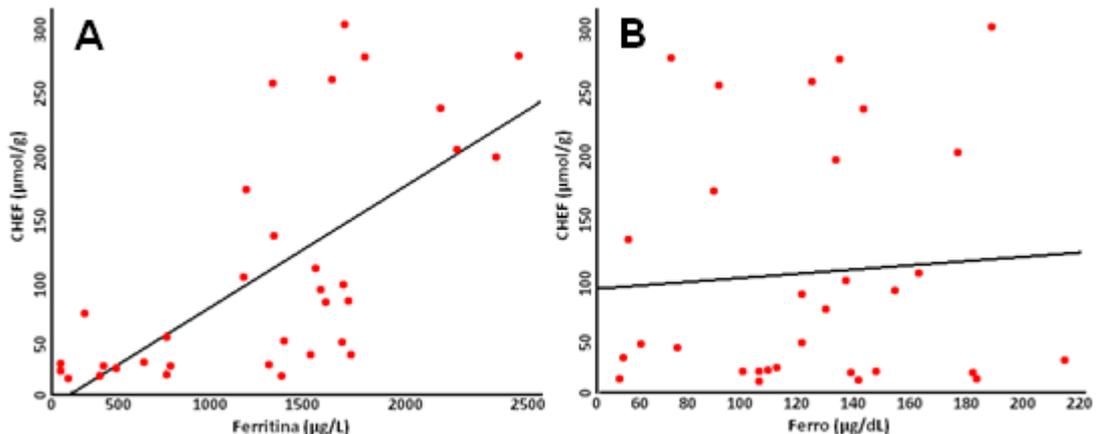
a) Seqüência ponderada em T1; b) Seqüência com ponderação intermediária;

c) Seqüências *gradiente eco* ponderadas em T2 com tempos de eco de 9ms, 13ms e 21ms, respectivamente.

Os grupos transfusionais foram confrontados entre si através da comparação de todas as variáveis clínicas e laboratoriais estudadas. Os valores que mostraram diferença estatística foram as razões de IS das RM, a CHEF, e a ferritina sérica. As demais variáveis clínicas e laboratoriais não mostraram diferença estatisticamente significativa, conforme Tabela 3.

A Figura 2 representa as correlações entre CHEF e ferritina (A) e ferro (B). A ferritina não apresentou boa relação linear com a CHEF, com um coeficiente de correlação de *Pearson* igual a 0,44.

A correlação com o ferro sérico foi ainda pior do que a da ferritina ( $r = 0,01$ ).



**Figura 2. A: Correlação entre ferritina sérica e CHEF\* (r=0,44). B: Correlação entre ferro sérico e CHEF\* (r=0,01).**

**\*Concentração hepática estimada de ferro**

TABELA 3. Comparação entre os indivíduos do grupo que faz transfusão de modo esporádico com o grupo de transfusão regular de acordo com todas as variáveis estudadas.

	GE <sup>g</sup>	GR <sup>h</sup>	p
CHEF <sup>a</sup>	62,5176	196,1711	0,0001
T1 <sup>b</sup>	1,0544	0,4400	0,0001
PI <sup>c</sup>	0,9552	0,3733	0,0001
T2* 9ms <sup>d</sup>	0,7196	0, 2078	0,0006
T2* 13ms <sup>d</sup>	0,6384	0,1422	0,0006
T2* 21ms <sup>d</sup>	0,4844	0,1211	0,0105
Ferritina (µg/L)	962,78	1.537,22	0,0249
Ferro (µg/dL)	129,05	111,46	0,3297
AST <sup>e</sup>	44,0	53,44	0,4941
ALT <sup>f</sup>	29,69	50,77	0,1596
Leucograma (média/ano)	12.237,08	11.466,66	0,6047
Hemoglobina (média/ano)	8,22	8,21	0,9067
Plaquetas (média/ano)	369.625,00	391.033,33	0,6059
Idade	14,26	14,11	0,7548
Gênero:			
Masculino	43,5% (10/23)	77,8% (7/9)	0,1242
Feminino	56,5% (13/23)	22,2% (2/9)	

a) Concentração hepática estimada de ferro (µmol/g); b) RIS da seqüência ponderada em T1; c) RIS da seqüência com ponderação intermediária; d) RIS das seqüências *gradiente eco* ponderadas em T2\* com tempos de eco de 9ms, 13ms e 21ms, respectivamente; e) Aspartato transaminase (U/L); f) Alanina transaminase (U/L); g) grupo transfusional esporádico; h) grupo transfusional regular

## 1. Discussão

A disponibilização de um método acurado e reproduzível seria uma ferramenta bastante útil na detecção, avaliação e estratificação da sobrecarga de ferro transfusional. O presente estudo comparou dois métodos que são, atualmente, usados com esse fim, a ferritina sérica e a RM.

Segundo estudo anterior, a ferritina não mostra correlação com a concentração hepática de ferro <sup>10</sup>. Porém, outras fontes apontam uma correlação linear entre a ferritina e o total de ferro corporal obtido através de biópsia hepática <sup>3, 11, 12</sup>. Sabe-se, porém, que suas aferições podem ser influenciadas por uma série de fatores, como gênero, infecções, hepatopatias e cânceres <sup>3, 13, 14</sup>. Por isso, a sua dosagem seriada é mais acurada do que a aferição isolada <sup>13, 14</sup>.

Apesar de este estudo ter sido realizado com medida isolada de ferritina, a coleta foi realizada sempre ambulatorialmente, na ausência de intercorrências agudas.

Angulo e colaboradores <sup>13</sup> não evidenciaram relação linear entre a ferritina sérica média em quatro anos e a CHEF obtida por RM, em acordo com o presente estudo (ver Figura 2).

A partir dos resultados do presente estudo, pode-se observar que as únicas variáveis clínicas e laboratoriais preditoras de sobrecarga transfusional são a ferritina e o grupo transfusional, em acordo com a literatura <sup>3, 11</sup>. As enzimas hepáticas não se mostraram um bom indicador de sobrecarga, o que já foi previamente observado <sup>11</sup>. Nenhuma outra variável do estudo pôde ser usada como preditora de sobrecarga, independente do ponto de corte usado.

Pela comparação da intensidade da sobrecarga de ferro entre os grupos de pacientes submetidos a dois regimes transfusionais diferentes, pode-se concluir que o grupo que faz uso de transfusão de modo regular está mais sujeito às complicações de sobrecarga, por apresentar em média o triplo da CHEF em relação ao grupo que faz transfusões esporádicas. Esse resultado está de acordo com a literatura, já que está bem estabelecido que o número de transfusões é fator preditivo para sobrecarga de ferro <sup>3, 11</sup>. As outras variáveis que são preditoras de sobrecarga (IS e ferritina) também se encontraram alteradas naquele grupo. Portanto, os pacientes do GR devem ser conduzidos com maior vigilância em relação ao diagnóstico e tratamento da sobrecarga transfusional.

O fígado é o principal órgão de armazenamento do ferro e o primeiro a ser lesado, entretanto o dano decorrente da sobrecarga de ferro no miocárdio é a principal causa de morte desses pacientes<sup>3,11,13,15,16</sup>. Por este motivo, a identificação da sobrecarga hepática pode permitir intervenções terapêuticas baseadas no uso de quelantes de ferro, com vistas à preservação da função cardíaca. A ampliação do número de pacientes que fazem uso de transfusão de modo regular e o estudo da concentração hepática de ferro de material obtido por biópsia hepática, bem como os resultados da terapia quelante, devem, futuramente, permitir outras conclusões.

## 5. Conclusões

A CHEF obtida por RM possui moderada relação linear com a ferritina sérica e a elevação dos valores de ambas se associou ao grupo transfusional: pacientes que fazem transfusão de concentrado de hemácias de modo regular estão mais sujeitos a sobrecarga de ferro hepática.

Agradecimentos: Os autores agradecem ao Centro de Medicina Integrada de Sergipe Ltda. (CEMISE) pela colaboração na realização dos exames de RM.

## 6. Referências

1. Naufel CCS. Reação transfusional hiper-hemolítica em pacientes portadores de anemia falciforme: Relato de dois casos. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2002; 24:04.
2. Wayne AS, schoenike, S. E.; pegelow, C.H. Financial analysis of chronic transfusion for stroke prevention in sickle cell disease. Blood. 2000;96:2369-72.
3. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T et al. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. Int J Hematol. 2008;88:7-15.
4. Gurkan E, Ergun Y, Zorludemir S et al. Liver involvement in sickle cell disease. Turk J Gastroenterol 2005;16:4:194-8.

5. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med*, 2000;343:327-31.
6. Pierre TGS, Clark PR, Chua-anusorn W et. al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*, 2005;105:855-61.
7. Wood JC, Cathleen E, Nilesh G et. al. MRI R2 and R2 mapping accurately estimates hepatic iron concentration in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease patients. *Blood*. 2005;106:1460-65.
8. Alústiza JM, Artetxe J, Castiella A et al. MR Quantification of Hepatic Iron Concentration. *Radiology*. 2004: 230.
9. Vivas WLP, Rebouças DS, Fabro ALD et al. Heterozigose para hemoglobinopatias em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2006;8:4.
10. Harmatz P, Butensky E, Quirolo K et. al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood*. 2000;96:1:76-9.
11. Cançado RD. Sobrecarga e queelação de ferro na anemia falciforme. *Rev. bras. hematol. hemoter*. 2007;29:3:316-26.
12. Gandon Y, Guyader D, Heautot JF et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet*. [2004;31:363\(9406\):341-2.](#)
13. Angulo IL, Covas DT, Carneiro AA et al . Determination of iron-overload in thalassemia by hepatic MRI and ferritin. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*.2008;30:6.
14. Vermynen C. What is new in iron overload? *Eur. J Pediatr*. 2008;167:377-81.
15. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-Chelating Therapy and the Treatment of Thalassemia. *Blood*.1997;89:739-61.
16. Gisbert, JP, Gomollón F. An update on iron physiology. *World Journal of Gastroenterology*, 2009.