

**FACULDADE NOVA ESPERANÇA DE MOSSORÓ – FACENE/RN**

**BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**WISLLAYNNE RAPHAELLE COSTA E ALVES**

**HEMOGLOBINOPATIAS: COM FOCO EM ANEMIA FALCIFORME EM CRIANÇAS.**

**MOSSORÓ/RN**

**2019**

WISLLAYNNE RAPHAELLE COSTA E ALVES

**HEMOGLOBINOPATIAS: COM FOCO EM ANEMIA FALCIFORME EM CRIANÇAS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade Nova Esperança de Mossoró (FACENE/RN), como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Esp. Dassayev Anderson de Oliveira Lopes.

MOSSORÓ/RN

2019

A474h Alves, Wisllayne Raphaele Costa e.  
Hemoglobinopatias: com foco em anemia falciforme em  
crianças / Wisllayne Raphaele Costa e Alves. – Mossoró,  
2019.  
43f. : il.

Orientador: Prof. Esp. Dassayev Anderson de Oliveira  
Lopes.

Monografia (Graduação em Biomedicina) – Faculdade  
Nova Esperança de Mossoró.

1. Anemia falciforme. 2. Doença genética. 3. Criança. I.  
Lopes, Dassayev Anderson de Oliveira. II. Título.

CDU: 616.155.16-053.2

WISLLAYNNE RAPHAELLE COSTA E ALVES

**HEMOGLOBINOPATIAS: COM FOCO EM ANEMIA FALCIFORME EM CRIANÇAS.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado a Faculdade Nova Esperança de Mossoró (FACENE/RN), como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em Biomedicina.

Aprovada em 28 de Novembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Esp. Dassayev Anderson de Oliveira Lopes

Prof. Esp. Dassayev Anderson de Oliveira Lopes.

ORIENTADOR

Prof.<sup>a</sup> Ma. Bárbara Monique de Freitas Vasconcelos

Prof.<sup>a</sup> Ma. Bárbara Monique de Freitas Vasconcelos.

MEMBRO

Prof. Dr. André Menezes do Vale

Prof. Dr. André Menezes do Vale

MEMBRO

Mossoró/RN

2019

Dedico este trabalho a minha mãe  
Julane Queiroz e minha irmã Wisllanne  
Emannuella por todo amor e apoio  
incondicional durante a minha jornada  
acadêmica.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, sem ele nada disso seria possível, pois tudo que tenho na vida foi conquistado com a tua bênção e por isso te agradeço todos os dias.

A minha mãe Julane pelo incentivo, em momentos de cansaço, todo esforço, cuidado e carinho foram cruciais para esta vitória, a minha irmã Wisllanne, meu cunhado Silas, a meu primo e amigo João Paulo e a minha vó Socorro, obrigada por não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

A meu orientador maravilhoso Dassayev, pelo suporte, correções, puxões de orelha dedicados à perfeita execução deste trabalho, meu carinho imenso e eterno, levarei comigo para sempre.

Aos professores por todo conhecimento passado não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, principalmente a professora Camila de Lizier obrigada por ter acreditado na minha capacidade.

Aos amigos, companheiros da faculdade, em especial as minhas amigas Nayara, Karla, Lívia, Ritsa, Gabriely, Andrezza e meu amigo João Victor que diretamente fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza, muito grata por todo sorriso, palavra amiga, cada puxão de orelha foi muito bom conhecer e caminhar com vocês.

“O sucesso nasce do querer da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

## RESUMO

Dentre as doenças genéticas, as hemoglobinopatias constituem uma das principais e mais frequentes doenças que acometem seres humanos. Dentre elas tem-se a anemia falciforme ou doença falciforme (DF), sendo caracterizada como a hemoglobinopatia mais frequente no Brasil. É causada por uma mutação genética responsável pela deformidade de glóbulos vermelhos que perdem a forma arredondada e adquirem o aspecto de foice quando em estado desoxigenado. O objetivo do presente trabalho foi buscar a partir de dados bibliográficos quais as possíveis formas de diagnóstico da anemia falciforme em crianças. As informações foram coletadas a partir dos bancos de dados de periódicos científicos de domínio público como: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Banco Virtual de Saúde (BVS), Google acadêmico e Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD), após a seleção dos artigos foi feita a análise e síntese dos mesmos a partir de leitura seletiva seguida de uma leitura interpretativa dos resultados obtidos para uma melhor elaboração textual. Com isso foi possível mostrar estudos que relatam a prevalência da anemia falciforme assim como as principais técnicas laboratoriais usadas para a detecção da HbS em crianças mostrando assim a importância da Triagem Neonatal como algo fundamental, pois através do diagnóstico laboratorial pode-se fazer a detecção precoce da doença, evitando assim as complicações decorrentes dela, buscando a melhor forma de tratamento e evitando que o recém-nascido ou criança venha a óbito. Dentre a grande variedade de testes qualitativos e quantitativos que permite a detecção da HbS, a HPLC considerada como um teste de padrão ouro para detecção de HbS. Já para o diagnóstico confirmatório para esta doença é a biologia molecular por meio das técnicas de PCR.

Palavras chaves: Anemia falciforme; Doença genética; Criança.

## ABSTRACT

Among the genetic diseases, hemoglobinopathy is one of the main and most frequent diseases that affect humans. Among them there is sickle cell anemia or sickle cell disease (SCD), being characterized as the most frequent hemoglobinopathy in Brazil. It is caused by a genetic mutation responsible for the deformity of red blood cells that lose their round shape and become sickle-like when in a deoxygenated state. The objective of the present study was to search from bibliographic data the possible ways to diagnose sickle cell anemia in children. Information was collected from databases of scientific journals in the public domain such as: Scientific Electronic Library Online (SciELO), Virtual Health Bank (VHL), Academic Google and Digital Library of Theses and Dissertations (BDTD), after selection. The articles were analyzed and synthesized from selective reading followed by an interpretative reading of the results obtained for a better textual elaboration. Thus, it was possible to show studies that report the prevalence of sickle cell anemia as well as the main laboratory techniques used for the detection of HbS in children, thus showing the importance of Neonatal Screening as something fundamental, because through laboratory diagnosis can be made early detection disease, thus avoiding the complications arising from it, seeking the best form of treatment and preventing the newborn or child from dying. Among the wide range of qualitative and quantitative tests that allow detection of HbS, HPLC is considered a gold standard test for HbS detection. For the confirmatory diagnosis for this disease is molecular biology through PCR techniques.

Keywords: Sickle cell anemia; Genetic disease; Child.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Processo de vaso-oclusão.....	19
<b>Figura 2.</b> Processo de transcrição da hemoglobina normal.....	21
<b>Figura 3.</b> Processo de transcrição da hemoglobina S.....	22
<b>Figura 4.</b> Frequência do gene S nas diferentes regiões do Brasil.....	23
<b>Figura 5.</b> Eletroforese em pH alcalino (acetato de celulose) e pH ácido (ágar citrato).....	26
<b>Figura 6.</b> Cromatograma de amostra normal de recém-nascido (HPLC).....	27

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>12</b>
1.1. Problematização e justificativa .....	14
1.2. Hipotese .....	14
1.3. Objetivos.....	16
1.3.1. Objetivo geral.....	16
1.3.2. Objetivos específicos.....	16
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>17</b>
2.1. Histórico.....	17
2.2. Hemoglobinas .....	17
2.3. Manifestações clínicas .....	18
2.3.1. Crises de falcização .....	19
2.3.2. Crises vaso-oclusivas .....	19
2.3.3. Crises aplásticas .....	20
2.3.4. Crises hemolíticas ou crises hiper-hemolíticas .....	20
2.3.5. Crise de sequestro esplênico.....	20
2.3.6. Infecção .....	20
2.3.7. Síndrome torácica aguda (STA).....	21
2.4. Fisiopatologia.....	21
2.5. Epidemiologia em crianças .....	23
2.6. Aspectos psicossociais da doença falciforme em crianças .....	24
2.7. Diagnostico .....	24
2.8. Tratamento .....	27
<b>3. METODOLOGIA.....</b>	<b>29</b>
3.1. Coleta de dados .....	29
3.2. Critérios de Inclusão .....	29
3.3. Critérios de exclusão.....	29

3.4. Análise de dados .....	29
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
4.1. Prevalência da anemia falciforme .....	30
4.2. Importância do diagnóstico precoce da anemia falciforme .....	33
4.3. Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme .....	35
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>39</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as doenças genéticas, as hemoglobinopatias constituem uma das principais e mais frequentes doenças que acometem seres humanos. Dentre elas tem-se a anemia falciforme ou doença falciforme (DF), sendo caracterizada como a hemoglobinopatia mais frequente no Brasil (SILLA, 1999).

Doença falciforme (DF) é um termo genérico que engloba um grupo de anemias hemolíticas hereditárias caracterizada por uma alteração estrutural na cadeia da beta da hemoglobina, em que há a substituição de uma base nitrogenada do códon GTG para GAG, resultando na troca do ácido glutâmico (Glu) pela valina (Val) na posição número seis do gene da globina (MANFREDINI *et al.*, 2007). Levando assim à produção de uma hemoglobina anormal denominada HbS (derivado do inglês sickle), dando origem ao nome da doença (FELIX *et al.*, 2010). Como uma de suas principais características as células vermelhas apresentam um formato anormal (forma de foice). Em 1927 foi descoberto por Hanh e Gillepsie que a falcização dos eritrócitos ocorria como consequência da exposição das células a uma baixa tensão de O<sub>2</sub> (FIGUEIREDO, 1993 *apud* NETO *et al.*, 2002).

A Anemia Falciforme pode ser diagnosticada já no nascimento ou na infância. Os sintomas são, geralmente, observados após o sexto mês de vida. Normalmente, os pacientes com Anemia Falciforme são assintomáticos no período neonatal, devido aos altos níveis de hemoglobina F (DI NUZZO *et al.*, 2004 *apud* FELIX *et al.*, 2010). A inclusão obrigatória das hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), pela portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde (MS) no exame de triagem neonatal, conhecido como “teste do pezinho”, diminuiu a porcentagem de mortalidade entre crianças devido à identificação precoce da doença pela introdução imediata da profilaxia adequada (MENDONÇA, 2009).

Na infância, a anemia falciforme (homozigose da HbS) tem sido associada com alta morbidade e mortalidade devido a crises de infarto ósseo, sepse bacteriana, sequestração esplênica e síndrome torácica aguda, além dos efeitos deletérios da anemia no desenvolvimento fisiológico e intelectual do indivíduo. Por isso, o diagnóstico precoce auxilia diretamente na forma de tratamento, diminuindo em grande escala a mortalidade de criança em recém-nascidos (SILLA, 1999).

Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil, o gene pode ser encontrado em frequências de 2% a 6% nas regiões do país, podendo aumentar para 6% a 10% na população afrodescendente brasileira. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que, anualmente, nasçam no Brasil cerca de 1.900 crianças com Anemia Falciforme. Segundo o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), no período de 2001 a 2005, foram identificados 2.554 portadores de hemoglobinopatias. No entanto, os dados epidemiológicos disponíveis sobre a Anemia Falciforme não indicam a prevalência real da doença no país, pois o PNTN ainda está sendo implantado gradativamente no Brasil (BOTHER *et al.*, 2010).

A substituição do ácido glutâmico pela valina na posição 6 da extremidade N-terminal da cadeia  $\beta$  da globina origina a hemoglobina S, causando assim uma mutação no gene da globina que deforma o eritrócito, fazendo com que a célula perca seu formato discoide e côncavo, tornando-se alongada com filamentos na sua extremidade. A deformação dos eritrócitos discoides em falcizadas altera a funcionalidade da bomba de sódio e potássio, com consequente perda de potássio e água, tornando os eritrócitos mais densos e favorecendo o acúmulo de HbS, provocando a elevação da concentração intracelular de cálcio pela perda da bomba de cálcio/ATPase, dos íons monovalentes, e aumentando a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), diminuindo assim a permeabilidade celular.

Devido o formato de foice, os eritrócitos não conseguem circular adequadamente na microcirculação, causando assim sua destruição precoce por obstrução dos vasos. Por causa dessas alterações físicas nos eritrócitos, ocorrerá a redução da deformabilidade e fragilidade dos eritrócitos, onde a oxidação da hemoglobina vai causar a formação da beta-hemoglobina e superóxidos, desnaturação da hemoglobina com formação de heme livre e ferro livre, anormalidades das proteínas de membrana (anquirina e espectrina), exposição de fosfatidilserina na membrana celular e aumento de adesão ao endotélio mediada por moléculas plasmáticas, da membrana e do endotélio (HOFFBRAND, 2008 *apud* SOUZA *et al.*, 2016).

A transformação das hemácias em uma forma alongada conhecida por “hemácia em foice” não é instantânea. Ela ocorre em decorrência da desoxigenação da hemácia, que causará sua polimerização, alterando a morfologia do glóbulo e facilitando o seu empilhamento em monofilamentos e agregações em cristais alongados, deformando a membrana citoplasmática e levando a célula a tomar a forma de foice. Caso a hemoglobina

volte a se reoxigenar, a falcização não ocorre, pois com a oxigenação a célula volta a sua conformidade original bicôncava (HOFFBRAND, 2008 *apud* SOUZA *et al.*, 2016).

A triagem neonatal ou teste do pezinho (TP) como é popularmente chamado é um exame de rastreamento realizado em recém-nascidos (RN) (LEITE; PONTES, 2009) onde é retirado gotas de sangue do calcanhar do RN, pois esta área é considerada bastante vascularizada e em seguida é realizada a coleta do sangue no papel-filtro (SANTOS *et al.*, 2011). Esse exame tem como objetivo identificar as doenças do metabolismo, antes mesmo que estas comecem a manifestar os primeiros sinais e sintomas, proporcionando assim aos RN's uma melhor qualidade de vida (ALMEIDA *et al.*, 2006).

### **1.1.PROBLEMATIZAÇÃO E JUSTIFICATIVA**

É preocupante a percentagem de mortalidade entre crianças no Brasil portadoras da anemia falciforme, comprovando-se a necessidade de um diagnóstico precoce que auxilie na busca para o melhor tratamento. O acompanhamento regular com o auxílio de equipes multiprofissionais de saúde, além de suporte social pode reduzir muito e até evitar os agravos e complicações da doença.

Apesar da inclusão das hemoglobinopatias no Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) a partir da portaria nº 822/01 do MS. Nem todos os estados do Brasil utilizam da Fase II “teste do pezinho”, uma boa parte utiliza apenas a fase I, esta por sua vez não possui a detecção da anemia falciforme devido a presença da Hb fetal nos primeiros meses de vida. (RAMALHO *et al.*, 2003).

Este estudo se justifica e tem relevância, pois teve como base os mais diversos e recentes estudos sobre a Anemia Falciforme, buscando acrescentar esclarecimentos sobre a doença, suas características, sintomatologia, tratamento, incidência em crianças e qual o melhor método de diagnóstico. Por se tratar de um assunto que em decorrência desse tipo de anemia, e seu grande número de casos, passou a constituir um grave problema de saúde pública além de buscar o diagnóstico precoce e informar à sociedade a importância do mesmo para que possa haver uma diminuição dessa taxa de mortalidade infantil.

### **1.2.HIPOTESE**

**H0-** De acordo com estudos apenas o teste do pezinho é suficiente para diagnosticar a anemia falciforme em crianças.

**H1-** De acordo com estudo é necessária a realização de outros testes laboratoriais além do teste do pezinho para que haja a confirmação do diagnóstico da anemia falciforme em crianças

### **1.3.OBJETIVOS**

#### **1.3.1. Objetivo geral.**

Buscar a partir de dados bibliográficos quais as possíveis formas de diagnóstico da anemia falciforme em crianças.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

- ✓ Mostrar a partir de estudos já existentes qual a prevalência da anemia falciforme em no Brasil.
- ✓ Mostrar a partir de dados bibliográficos a importância do diagnóstico precoce;
- ✓ Avaliar a partir de dados bibliográficos quais exames laboratoriais são utilizados atualmente no diagnóstico da anemia falciforme.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1.Histórico

Essa mutação teve origem no continente africano, mas podendo ser encontrada em diversas partes do mundo. Apresentando elevadas incidências na África, Arábia Saudita e Índia (JESUS,2010). Acredita-se que a anemia falciforme seja um dos melhores exemplos da seleção natural, visto que o gene da hemoglobina modificada, chamada HbS, permaneceu estável durante gerações em virtude da proteção contra a malária que possuem os portadores de traço falciforme. Essa relação foi concebida com base na presença de portadores do traço falciforme em regiões da África endêmicas de malária e na observação de sua maior resistência à infecção pelo *Plasmodium falciparum*, em comparação aos demais indivíduos da mesma região (CAVALCANTI, 2011 *apud* SOUZA *et al.*,2016).

A introdução da hemoglobina S, responsável pela anemia falciforme no Brasil, ocorreu através do tráfico de escravos contendo inúmeras tribos africanas, tráfico este iniciado em 1550, para trabalho escravo na indústria da cana-de-açúcar do Nordeste e, posteriormente, para a lavra do ouro e extração de metais preciosos em Minas Gerais, e suspenso oficialmente em 1850. A partir da abolição da escravatura, o fluxo migratório expandiu-se para várias regiões do país (RUIZ,2007).

### 2.2.Hemoglobinas

A hemoglobina é a proteína respiratória de formato esférico, globular, presente no interior dos eritrócitos dos mamíferos que tem como principal função o transporte de oxigênio ( $O_2$ ) por todo o organismo, sendo formada por quatro subunidades, compostas de dois pares de cadeias globínicas, polipeptídicas, sendo um par denominado de cadeias do tipo alfa (alfa- $\alpha$  e zeta- $\xi$ ) e o outro de cadeias do tipo não-alfa (beta- $\beta$ , delta- $\delta$ , gama- $\gamma$  e epsilon- $\epsilon$ ). Sua estrutura é quimicamente unida a um núcleo prostético de ferro, a ferroprotoporfirina IX (heme), que detém a propriedade de receber, ligar e/ou liberar o oxigênio nos tecidos ((GALIZA NETO & PITOMBEIRA, 2003).

Sendo comumente conhecida, a hemoglobina A (HbA) é constituída por duas cadeias alfa ( $\alpha$ ) e duas cadeias beta ( $\beta$ ) ( $\alpha_2\beta_2$ ), sendo a Hb predominante e representando cerca de 96% das moléculas totais de Hb em indivíduos saudáveis; já a hemoglobina A<sub>2</sub> (HbA<sub>2</sub>) é constituída de duas cadeias alfa ( $\alpha$ ) e duas cadeias delta ( $\delta$ ) ( $\alpha_2\delta_2$ ). Essas cadeias delta são

sintetizadas a partir do primeiro trimestre após o nascimento e representam cerca de 2,5-3% das hemoglobinas em indivíduos saudáveis; a hemoglobina fetal (HbF), presente na vida fetal, é constituída por duas cadeias alfa ( $\alpha$ ) e duas cadeias gama ( $\gamma$ ) ( $\alpha_2\gamma_2$ ) e apresenta níveis diminuídos na vida adulta (GALIZA NETO & PITOMBEIRA, 2003).

**Tabela 1.** Concentração normal das hemoglobinas no recém-nascido e adulto

Hemoglobina	% No RN	% No adulto
Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ )	0 a 20	96 a 98
Hb A <sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ )	0 a 1	2,0 a 3,7
Hb F ( $\alpha_2\gamma_2$ )	80 a 100	0,2 a 1,5

Fonte: FERRAZ & MURAO, 2007

A homozigose (HbS) para o gene  $\beta^S$ , em geral resultante da herança de um gene anormal do pai e um da mãe, corresponde à forma mais grave das síndromes falciformes. Há ausência de HbA, predominando a produção de HbS acompanhada de quantidades normais de HbA<sub>2</sub> (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014). A HbS tem característica especial, em decorrência da desoxigenação da hemácia, resultando na sua polimerização, alterando sua morfologia e a deixando em forma de foice (MANFREDINI, *et al.*, 2007).

A heterozigose na anemia falciforme é comumente conhecida como traço falciforme. O paciente portador desta patologia não apresenta alterações hematológicas. Sendo assim, os processos vaso-oclusivos sob condições fisiológicas normais inexistem, portanto, não há mortalidade nem morbidade seletivas. Normalmente, os portadores de HbAS são detectados em estudos populacionais ou análise devido à presença do gene da hemoglobina S em algum membro da família. Geneticamente, a condição heterozigota se deve à herança do gene da globina  $\beta^S$  por parte de um dos pais, juntamente com o gene da globina  $\beta^A$  proveniente do outro. Nessa condição, a concentração de HbA é sempre mais elevada que HbS. Portanto, os heterozigotos possuem ambas as hemoglobinas (A e S), suas hemácias têm meia-vida fisiológica normal e a falciformação *in vivo* só ocorre nos casos de os indivíduos portadores serem submetidos a anestesia geral, infecções, vôo em avião não-pressurizado, exposição à regiões de grande altitude e excesso de esforço físico (MANFREDINI *et al.*, 2007).

### 2.3. Manifestações clínicas

As manifestações clínicas da anemia falciforme são extremamente variáveis, mas são derivadas primariamente da oclusão vascular e, em menor grau, da anemia. Praticamente todos os órgãos podem ser afetados pela oclusão vascular. Os recém-nascidos portadores da doença possuem níveis elevados de HbF e, por essa razão, não apresentam manifestações clínicas significativas. De fato, apenas quando os níveis de HbF declinam significativamente aparecem os primeiros sinais e sintomas da doença, em geral após os seis meses de idade. (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

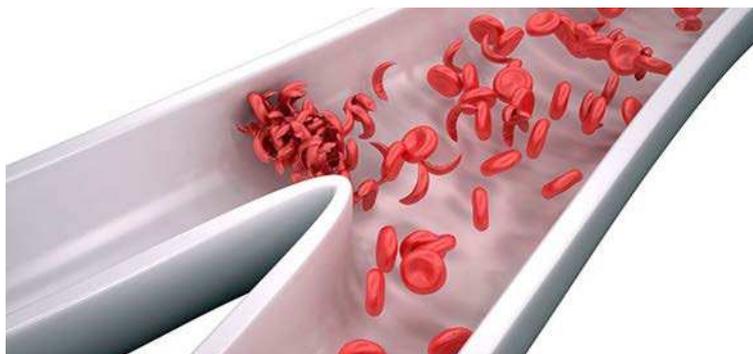
### 2.3.1. Crises de falcização

Ocorrem quando pacientes com doença falciforme apresentam períodos sem manifestações clínicas. Corresponde à fase estável da doença, que pode ser interrompida por manifestações agudas, denominadas crises de falcização, podendo ser classificadas em crises vaso-oclusivas ou episódios dolorosos, crises aplásticas, hemolíticas e de sequestro (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

### 2.3.2. Crises vaso-oclusivas

São episódios dolorosos agudos onde são representadas as manifestações clínicas mais comuns e características das doenças falciformes. A frequência e a gravidade das crises variam de paciente para paciente, e em um mesmo paciente, modificando-se bastante em diferentes períodos da vida. Fatores como infecções, desidratação e tensão emocional de qualquer natureza podem desencadear crises dolorosas (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

**Figura 1.** - Processo de vaso-oclusão.



**Fonte:** <https://multisaude.com.br/artigos/anemia-falciforme/>

### 2.3.3. Crises aplásticas

Não ocorrem com frequência, surgindo geralmente após um processo infeccioso que na maioria dos casos ocorre devido à infecção do *Parvovirus B19*, pois ele possui tropismo pelas células que antecedem os eritrócitos. Quando associada a uma anemia hemolítica crônica, ocasiona uma exorbitante diminuição na contagem de reticulócitos e hematócrito. Os sintomas causados são: dispneia, hipotensão, cansaço acentuado ou insuficiência cardíaca, hemoglobina menor que 5g/do, tendo a possibilidade de causar morte súbita por colapso vascular (MARQUES *et al.*, 2012).

### 2.3.4. Crises hemolíticas ou crises hiper-hemolíticas

É uma crise rara e aparentemente, está relacionada a infecções por *Mycoplasma*, deficiência de G6PD ou esferocitose hereditária associada derivada de um incremento brusco na taxa de hemólise. Suas manifestações clínicas podem incluir agravamento da anemia e acentuação da icterícia. No entanto, antes de fazer o diagnóstico de crise hemolítica, devem ser afastadas outras causas mais frequentes de elevação dos níveis de bilirrubinas, como obstrução por cálculo de vesícula, hepatite ou falcização com colestase intra-hepática (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

### 2.3.5. Crise de sequestro esplênico

Ocorre a partir de uma complicação devido a obstrução das cavidades sinusóides do baço pelos eritrócitos falcizados, resultando em anemia, reticulose e plaquetopenia, afetando principalmente crianças com a faixa etária entre 5 meses a 2 anos de idade (ÂNGULO, 2003).

### 2.3.6. Infecção

Quando indivíduos que possuem a anemia falciforme apresentam quadros de febre é necessário atenção, pois possuem uma predisposição à infecção causada por microorganismos encapsulados, principalmente *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae tipo B*. A medida mais indicada a ser tomada é um tratamento preventivo através de administração de penicilina, para diminuir o risco de uma septicemia e meningite pneumocócica, principalmente antes dos 4 meses de idade (WATANABE *et al.*, 2008).

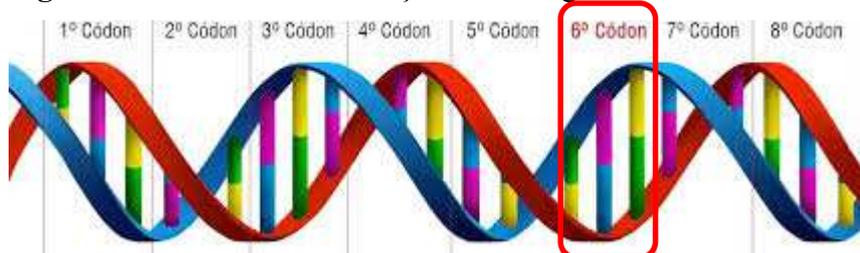
### 2.3.7. Síndrome torácica aguda (STA)

Caracteriza-se por infiltrado pulmonar novo, sendo ele sintoma ou sinal respiratório (dor torácica, tosse, dispneia, taquipneia etc) e hipoxemia. Em crianças, a febre está presente em 85% dos casos. A STA é causada por infecção, embolia de medula óssea necrótica, vaso-oclusão pulmonar e sequestro pulmonar (BRASIL, 2012)

### 2.4. Fisiopatologia

As mutações na molécula de hemoglobina podem alterar a sequência primária de aminoácidos da globina e assim resultar em hemoglobinopatias, dentre elas a anemia falciforme. A anemia falciforme ou doença falciforme, também conhecida como sisclêmia ou depreanocitose, é uma doença hereditária originada por uma mutação no cromossomo 11 (OLIVEIRA *et al.*, 2019), onde ocorre a substituição de um ácido glutâmico pela valina. Devido a simples substituição pontual de uma base nitrogenada, timina por adenina (GTG → GAG), no códon 6 da extremidade N-terminal na cadeia  $\beta$  da globina. Essa mutação aumenta a força de atração entre as cadeias  $\beta_1$  e  $\beta_2$  das moléculas de hemoglobina, fenômeno conhecido como polimerização da HbS (FRANÇA, 2016).

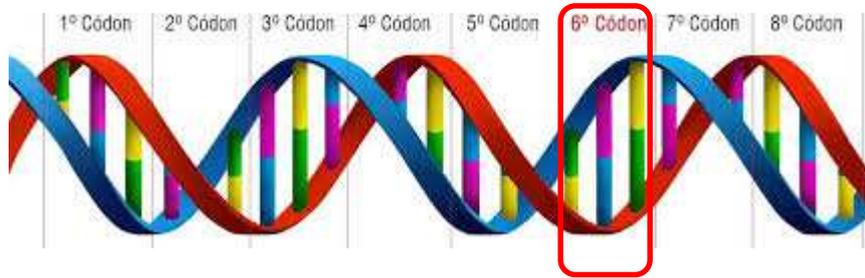
**Figura 2.** Processo de transcrição da hemoglobina normal.



Fonte: Ministério da Saúde

GTG

**Figura 3.** Processo de transcrição da hemoglobina S



Fonte: Ministério da Saúde

GAG

Quando oxigenada, a molécula de HbS está de certa forma “relaxada”, e nesta conformação estrutural as globinas  $\beta_S$  se encontram mais separadas. Quando desoxigenada, a molécula de HbS torna-se esticada e as  $\beta$  globinas  $\beta_S$  se aproximam. Essa mudança de conformação favorece o contato entre as regiões da desoxiemoglobina, o que não é possível no estado oxigenado. Por meio da união de vários tetrâmeros de HbS, formando um número considerável de moléculas agregadas que geram longos polímeros, alterando a morfologia do eritrócito para a forma de foice (MANFREDINI *et al.*, 2007).

Devido à deformação dos eritrócitos discoides em falcizados a bomba de sódio e potássio tem sua funcionalidade alterada, tendo como consequência a perda de potássio e água, tornando os eritrócitos mais densos e favorecendo o aumento de polímeros de HbS. Ocorre, também, a elevação da concentração intracelular de cálcio pela falência da bomba de cálcio/ATPase e, conseqüentemente, aumentando assim a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (BRUGNARA, 2003 *apud* MANFREDINI *et al.*, 2007).

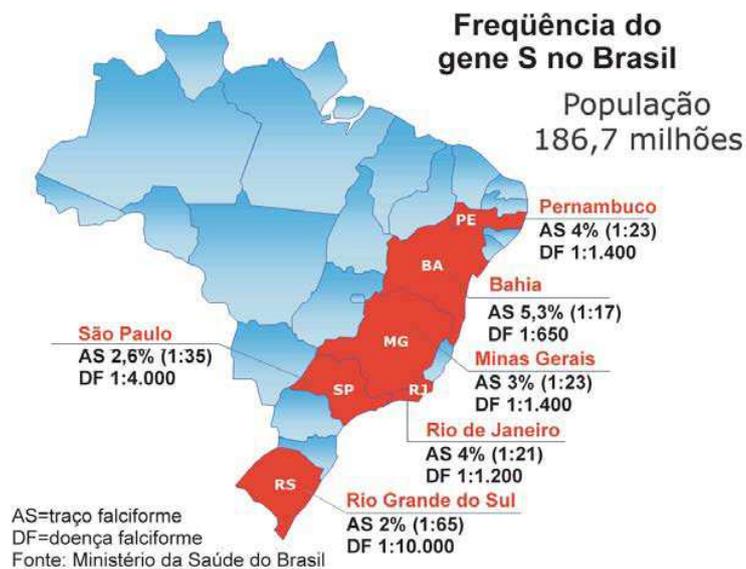
O fenômeno onde a hemácia fica em formato de foice é a causa responsável por todo o quadro fisiopatológico. Quando as hemácias assumem essa forma, apresentam maior rigidez e vivem na circulação sanguínea em média 10 dias, muito menos que o tempo médio usual de 120 dias, estando mais sujeitas à destruição, resultando assim em uma anemia crônica intensa (BRASIL, 2015).

## 2.5. Epidemiologia em crianças

A distribuição da doença falciforme no Brasil é bastante heterogênea, dependendo de composição negróide ou caucasóide da população, porém no Brasil há uma grande miscigenação de povos. Assim, a prevalência de heterozigotos para a HbS é maior nas regiões norte e nordeste (6% a 10%), enquanto nas regiões sul e sudeste a prevalência é menor (2% a 3%) (CANÇADO & JESUS, 2007).

A região nordeste apresenta a maior diminuição nas taxas de mortalidade infantil com cerca de 5,5% ao ano entre 1990 e 2007. Mas, independente dessa diminuição junto com a região norte, continua com os maiores níveis de mortalidade infantil no país (BRASIL, 2009).

**Figura 4.** Frequência do gene S nas diferentes regiões do Brasil.



**Fonte:** CANÇADO & JESUS, 2007.

As hemoglobinopatias são responsáveis, mundialmente, por 3,4% dos óbitos em crianças com faixa etária abaixo de cinco anos. Os pacientes portadores da DF apresentam altos índices de morbidade e mortalidade, principalmente nos países em desenvolvimento (MCGANN, 2014 *apud* SABARENSE *et al.*, 2015).

## 2.6.Aspectos psicossociais da doença falciforme em crianças

Doenças crônicas trazem diversas complicações no decorrer da vida do paciente. Na infância, principalmente, devido o tratamento ser a longo prazo, tem como principal consequência muitas limitações, como visitas com frequência a hospitais, alterando portanto a rotina diária da criança (LORENCINI & PAULA, 2015).

No caso da doença falciforme, muitas famílias desconhecem a herança genética e só tomam conhecimento da doença após a triagem neonatal ou nas primeiras crises dolorosas fortes ocorridas ainda na infância, fazendo com que geralmente a família sinta a necessidade de uma reorganização para de certa forma se adapte com a situação (FERRAZ, 2012).

A criança quando doente apresenta uma série de alterações orgânicas, emocionais e sociais que exigem, temporária ou permanentemente, demandas de cuidados específicos que, quando não são realizados adequadamente, interferem diretamente em sua sobrevivência (BARROS, 2016). Devido a complexidades de sintomas, a criança se torna mais vulnerável, vivenciando vários momentos desgastantes e estressores capazes de debilitar não só os aspectos físicos, mas outros aspectos como emocional, social e psicológico. Por esses motivos, faz-se necessário o acompanhamento dessas crianças não somente pela questão saúde, mas também pela questão educacional dos mesmos (SILVA *et al.*, 2018).

Fatores psicossociais, como discriminação racial, desigualdade econômica e falta de programas estruturados para o atendimento da população com AF afetam diretamente essas crianças, sendo assim, é necessário que não só a família, como principalmente profissionais da saúde e também os da educação que lidam com crianças que possuem a DF reconheçam as limitações impostas por essa doença e a forma com que eles enfrentam e lidam com a situação de adoecimento, com a finalidade de buscar uma melhor assistência e ajudá-los frente aos agravos que determinam, em algumas ocasiões, seu estado de saúde (CUSTÓDIO, GOMES & LEITÃO, 2018).

## 2.7.Diagnostico

O diagnóstico das hemoglobinopatias é bem complicado, por este motivo é muito importante o diagnóstico precoce para um melhor tratamento. O diagnóstico da AF é dividido em testes de triagem, que são utilizados para fazer um pré – diagnóstico desta patologia que são Hemograma, Teste de falcização, Teste de Solubilidade, Dosagem de Hemoglobina Fetal e Hemoglobina A2, Focalização Isoelétrica, Imunoensaio e Triagem em Neonatal. Já o diagnóstico confirmatório da doença falciforme é realizado pela detecção da HbS e da sua associação com outras frações, assim, a técnica mais eficaz é a eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose ou em agarose, com pH variando de 8 a 9 (NOGUEIRA *et al.*, 2013)

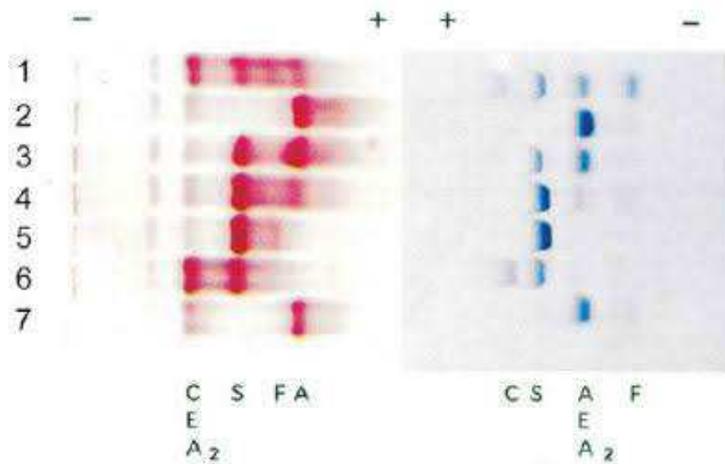
Nas alterações hematológicas devido a perda da elasticidade da hemácia que é diretamente proporcional a diminuição do transporte de O<sub>2</sub>, onde após a desoxigenação ocorre o processo de polimerização onde é alterada a morfologia da hemoglobina. É considerada grave do tipo normocítico – normocrômica podendo se tornar até macrocítica, a um elevado grau de anisocitose e poiquilocitose, RDW elevado, CHCM normal (OLIVEIRA, 2007).

No teste de falcização é usada a hemácia a ser pesquisada é submetida a uma baixa tensão de O<sub>2</sub> para verificar se ela toma o formato de foice por meio da solução de metabissulfito de sódio a 2%. Após a junção do sangue com a solução há uma vedação da lâmina e lamínulas com esmalte onde os eritrócitos que contém a hemoglobina S irão se deformar após algumas horas. Não é um exame muito indicado devido a demora de 24hrs para o resultado. Por ser um teste pouco sensível é necessária a utilização de técnicas de Biologia Molecular, por serem métodos mais precisos e específicos (ZANATTA & MANFREDINI, 2009).

A eletroforese em hemoglobina é realizada para diagnóstico de recém-nascidos. Essa técnica da eletroforese baseia-se na migração de íons de acordo com o campo elétrico, as proteínas são carregadas negativamente e migram por atração eletrostática para o polo positivo. A eletroforese de hemoglobina em acetato é um exame de baixo custo. Sendo ele um procedimento de rápida excursão e análise é muito utilizada em laboratórios para triagem nos primeiros 6 meses de vida (FERREIRA, 2015).

A eletroforese de ágar Citrado ou em pH ácido é a técnica mais utilizada, feita, onde auxilia identificação de vários tipo de hemoglobinopatias. Esse exame também proporciona a identificação semiquantitativa da Hb Fetal (ZANATTA & MANFREDINI, 2009).

**Figura 5.** Eletroforese em pH alcalino (acetato de celulose) e pH ácido (ágar citrato).

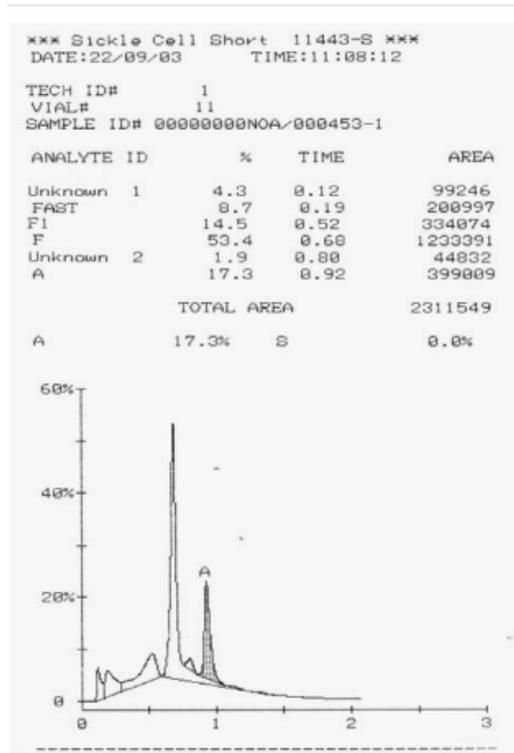


**Fonte:** Ferraz, 2007.

Com o passar dos anos a biologia molecular vem sendo de grande ajuda para o diagnóstico de diversas doenças genéticas possibilitando assim a análise do genótipo de interesse através dos seus marcadores. Um desses exames é a Reação em cadeia da polimerase (PCR) que é considerado um exame qualitativo devido a capacidade de identificar o gene S determinado o sequenciamento dos nucleotídeos em relação aos polimorfismos. Esse método é bastante utilizado na detecção molecular dos doentes falciformes (MANFREDINI & ZANATTA, 2009).

A cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) é uma técnica da biologia molecular que permite a exclusão de anomalias da Hemoglobina de forma rápida, sendo um método adequado para separação de espécies iônicas e macromoléculas. A HPLC tem a quantificação de varias hemoglobinas (FERREIRA *et al.*, 2015) A técnica de HPLC utilizam colunas e bombas para atuar na alta pressão. A análise de hemoglobina pela HPLC tem a vantagem de conseguir analisar hemoglobinas variantes, sendo um teste de excelente qualidade para a análise das hemoglobinopatias. (ZANATTA & MANFREDINI, 2009).

**Figura 6.** Cromatograma de amostra normal de recém-nascido (HPLC).



**Fonte:** Ferraz, 2007.

## 2.8. Tratamento

O diagnóstico precoce tornou-se um diferencial no tratamento da Doença Falciforme, no entanto, é importante, compreender as reais implicações dessa doença e seu impacto diante do contexto familiar, podendo minimizar o sofrimento advindo com a sintomatologia desse processo, além de contribuir para uma postura mais ativa na aceitação da doença, garantindo um tratamento de qualidade e eficiente aos pacientes (ATAIDE & RICAS, 2017).

Não há um tratamento específico para a doença falciforme. Existem apenas algumas medidas preventivas, a fim de buscar a minimização das consequências causadas pela anemia crônica e das crises de falcização. Os pacientes acometidos pela anemia falciforme são muito susceptíveis a infecções, sendo importante a vacinação contra as principais patologias que possam afetar sua imunidade (MANFREDINI *et al.*, 2007).

Pacientes com a doença falciforme devem, sempre que possível, ser acompanhados regularmente em serviços especializados como Centros de Atenção a Doenças Falciformes,

onde há presença de equipes multidisciplinares (médicos, psicólogos, enfermeiros, assistentes sociais e fisioterapeutas). Os objetivos básicos da terapêutica consistem no tratamento das complicações específicas e em cuidados gerais da saúde. Além dos cuidados gerais para acompanhamento do crescimento, desenvolvimento somático e tratamento específico de lesões orgânicas (como colecistopatia, úlceras de pernas, osteomielite etc.) (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

O tratamento a longo prazo baseia-se em: suplementação com ácido fólico (5 mg/dia), que deve ser sempre realizada devido à hiperplasia eritropoética; uso de medicamentos que promovem o aumento da hemoglobina fetal (como a hidroxiureia) em pacientes selecionados; profilaxia de infecções; tratamento das crises dolorosas vaso-oclusivas; tratamento das demais crises agudas (aplásticas, sequestro esplênico, neurológicas, síndrome torácica aguda); tratamento das infecções (ZAGO, FALCÃO & PASQUINI, 2014).

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Coleta de dados**

O presente estudo tem como base pesquisas bibliográficas no quais as informações coletadas a partir dos bancos de dados de periódicos científicos de domínio público como: Scientific Eletronic Library Online (Scielo), Banco Virtual de Saúde (BVS), Google acadêmico e Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD). Usou-se como palavras-chave: hemoglobinopatias, anemia falciforme, Crianças. As pesquisas bibliográficas constam materiais publicados entre os anos de 1999 a 2019.

#### **3.2. Critérios de Inclusão**

Os artigos utilizados possuíam, como desfecho principal, a anemia falciforme e/ou hemoglobinopatias no Brasil e em crianças, além de descrever, em sua metodologia, o método de diagnóstico.

#### **3.3. Critérios de exclusão**

Estudos que não abordavam esses quesitos foram excluídos.

#### **3.4. Análise de dados**

Após a escolha dos artigos científicos, procedeu á análise e síntese dos mesmos a partir de leitura seletiva para o reconhecimento dos artigos que fundamentariam a pesquisa, e por último uma leitura interpretativa dos resultados obtidos para uma melhor elaboração textual.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A interpretação dos resultados foi baseada nos dados literários com a finalidade de comparar os dados contidos a partir das análises das publicações. Dos 32 artigos selecionados foram excluídos artigos por não possuírem relação com a pesquisa, sendo assim foram usados 22 artigos para a elaboração textual.

##### 4.1. Prevalência da anemia falciforme

Mesmo com miscigenação de povos nas diversas partes do Brasil, as regiões norte e nordeste são apontadas com a mais alta porcentagem de casos da doença falciforme podendo variar de 6% a 10% de prevalência da doença tendo a Bahia com a cidade com mais casos registrados (CANÇADO & JESUS, 2007). Com o passar dos anos diversos estudos se propuseram a definir a prevalência tanto da anemia falciforme como do traço falciforme no Brasil, com a melhoria das condições de vida muitas dessas crianças estão podendo chegar a até a fase adulta. (SOUSA & SILVA, 2017).

**Quadro 1-** Estudos sobre a prevalência da anemia falciforme em crianças.

LOCAL DO ESTUDO	ANO DE ESTUDO	Nº DE CRIANÇAS ESTUDADAS	PREVALÊNCIA
NATAL (ARAÚJO <i>et al.</i> , 2004)	2004	1.940 amostras de sangue de cordão umbilical	1,5% para Hb AS e 0,05% para Hb SS
BAHIA (ADORNO <i>et al.</i> , 2005)	Fev. a Jun. de 2000	590 RN por parto vaginal na Maternidade Tsylla Balbino	9,8% para Hb AS e 0,2% para Hb SS.
BAHIA (RAMOS <i>et al.</i> , 2017)	2008 a 2013	Faixa etária (0 a 6 dias e 28 a 364 dias de vida)	90,1% dos óbitos ocorreram no período pós-neonatal e, 9,9% no período pré-neonatal.
MARANHÃO (LIMA <i>et al.</i> , 2015)	1999 a 2012	total de 128 e 840	Pré-teste : 6 e 26 anos Pós -teste : 10 e 16 anos

CEARÁ (PINHEIRO <i>et al.</i> , 2006)	Ago. de 2001 a set. de 2002	389 amostras de sangue de cordão umbilical.	4,1%, correspondendo a 3,8% HbAS, e HbSS (0,2%).
MINAS GERAIS (FERNANDES <i>et al.</i> , 2010)	1º de mar. de 1998 a 28 de fev. de 2005.	1.833.030 recém-nascidos	1.396 crianças possuíam perfil hemoglobínico,

No estudo realizado em Natal, Rio Grande do Norte por ARAÚJO *et al.*, 2004, aonde a prevalência relatada foi de 1,5% para Hb AS e 0,05% para Hb SS. A relevância foi baixa, pois embora o estudo tenha sido realizado em três hospitais públicos, o tamanho da amostra é pequeno e o cálculo da cobertura foi de 14,03% de todos os recém-nascidos em Natal e de 3,61% no Rio Grande do Norte.

De fevereiro a junho de 2000, um estudo epidemiológico transversal realizado por ADORNO *et al.*, 2005 analisou 590 recém-nascidos por parto vaginal na Maternidade Tsylla Balbino, em Salvador, Bahia, Brasil. os valores encontrados foram de 9,8% e 0,2% para Hb AS e Hb SS, respectivamente, com baixa relevância devido a triagem ter sido realizada em apenas um hospital e, portanto, o tamanho da amostra era pequeno e o período de estudo de cinco meses foi muito curto para calcular a cobertura.

De acordo com um estudo realizado por RAMOS *et al.*, 2017 onde foram estudados 11 óbitos infantis ocorridos na Bahia por DF entre os anos de 2008 a 2013, onde foram avaliadas as seguintes variáveis: sexo; faixa etária (0 a 6 dias e 28 a 364 dias de vida); cor/raça (branca, parda ou ignorada) e ano de óbito. 54,5% dos óbitos foram para a raça/cor parda, seguidos da raça/cor branca 27,3% e ignorados 18,2%. Entre os óbitos registrados para a raça/cor houve uma maior mortalidade de neonatos e crianças do sexo masculino. Quanto à faixa etária, 90,1% dos óbitos ocorreram no período pós-neonatal e, 9,9% no período pré-neonatal. Quanto ao ano do óbito, constatou-se que a maior porcentagem dos óbitos ocorreu em 2011 com 36,4% onde foi avaliado 100% dos casos registrados no período pós-neonatal, seguido do ano de 2008 com 27,3% também com 100% dos casos no período pós neonatal. Em 2009 ocorreram 18,2% dos óbitos, em que 50% ocorreram na fase pré-neonatal e os outros 50% na fase pós-neonatal. Os anos 2010 e 2012 apresentaram o mesmo percentual de 9,1% dos óbitos registrados, e 100% ocorreram no período pós-neonatal em cada ano, respectivamente. De acordo os dados registrados, o ano de 2013 não apresentou óbitos infantis por DF.

No estudo de LIMA *et al.*, 2015, foram coletados dados relacionados às mortes e hospitalizações de pacientes com DF no Maranhão de 1999 a 2012. As taxas de hospitalização e mortalidade por DF foram calculadas de acordo com o teste exato de Fisher que foi utilizado para comparar a distribuição percentual de indivíduos por gênero e idade entre os dois períodos. O teste não paramétrico de Kruskal-Wallis foi utilizado para comparar a idade média entre os períodos. O total de 128 e 840 pacientes com DF foi hospitalizado nos períodos pré-teste (antes de 2005) e pós-teste, respectivamente. A idade média por ano na admissão variou de oito a 35 anos. Quando comparados os resultados dos dois períodos, a mediana caiu de 11,4 anos no período pré-teste para 8,7 anos no período pós-teste. A porcentagem masculina foi ligeiramente superior a feminina sendo 53,9% no período pré-teste e 51,9% no período pós-teste. 47 pacientes morreram no período pré-teste e 107 morreram no período pós-teste. A idade média na morte por ano variou de 6 a 26 anos. Quando comparados os resultados entre os dois períodos, observou-se que as medianas eram maiores no período pós-teste, com a mediana aumentando de 10 anos no período pré-teste para 16 anos no período pós-teste.

No Ceará foi realizado um estudo prospectivo por PINHEIRO *et al.*, 2006 que ocorreu no período de agosto de 2001 a setembro de 2002 em recém-nascidos sequencialmente assistidos na Maternidade-Escola Assis Chateaubriand. Foram analisadas 389 amostras de sangue de cordão umbilical. Os resultados obtidos detectaram que dentre os RN 16 mostraram presença de HbS correspondendo a 4,1%, 15 foram sugestivos de traço falcêmico HbAS, correspondendo a 3,8% do total, e um com a hipótese diagnóstica de anemia falciforme HbSS (0,2%).

Com relação à mortalidade ocasionada por esta doença, um estudo feito por FERNANDES *et al.*, 2010 na cidade de Minas Gerais com crianças que recebiam acompanhamento e que evoluíram para óbito no período de 1º de março de 1998 a 28 de fevereiro de 2005. Esse estudo continha uma população de 1.833.030 recém-nascidos, que foram submetidos a Triagem Neonatal, observou-se que 1.396 crianças possuíam perfil hemoglobínico compatível com a doença falciforme, nesse grupo 78 óbitos foram ocorridos dos quais 80,8% destes foram entre pacientes que possuíam a patologia.

Pode-se concluir com esses estudos que mesmo com diversos trabalhos que tratam sobre a prevalência da anemia falciforme em crianças, ela ainda se encontra em grande escala no Brasil, meu objetivo foi buscar estudo sobre a prevalência da AF no nordeste por ser a

região de ser a com mais casos da doença ,seguido pelo estudo em Minas gerais que retrata tanto o acompanhamento dessas crianças como a taxa de mortalidade das mesmas.

#### 4.2. Importância do diagnóstico precoce da anemia falciforme

A detecção precoce de portadores que possuem o traço falciforme permite o aconselhamento e/ou orientação genética aos portadores e, conseqüentemente, pode funcionar como meio para evitar custos para o sistema de saúde. Na medida em que casais de risco têm chance de optarem ou não por uma gestação podendo os mesmos decidirem se estão preparados para enfrentar futuramente as consequência que a doença falciforme causara no futuro filho do casal. Custos com pacientes falciformes, tais como tratamento de infecções e crises álgicas, profilaxia anti-infecciosa, sobrecarga de ferro, custo transfusional, entre outros, podem ser evitados a partir da detecção da HbAS em casais que planejam ter filhos em um futuro próximo ou não (BANDEIRA *et al.*, 2007).

O diagnostico precoce da doença falciforme possibilita que criança tenha o devido acompanhamento antes que ocorra o surgimento da sintomatologia e suas complicações permitindo assim iniciar a profilaxia antibiótica desde os 3 meses de vida, conjuntamente à vacinação contra germes encapsulados. Isso reduz de maneira significativa as mortes associadas a esta enfermidade, principalmente por problemas infecciosos. (BANDEIRA *et al.*, 2007).

No decorrer dos últimos anos, as expectativas com relação a morbidade e mortalidade pela doença falciforme modificou-se significativamente, em parte devido a maior precisão e precocidade no diagnóstico, e também pelo crescente volume de novos conhecimentos sobre a doença. A outra parte se deve a gradual sensibilidade dos órgãos de saúde pública presentes em nosso país, motivado especialmente por movimentos sociais relacionados com a população negra e associações de portadores do gene Hb S. (HOLSBACH *et al.*, 2010).

O cuidado com a saúde do recém-nascido (RN) é de extrema importância sendo fundamental para a redução da mortalidade infantil, que permanece elevada no Brasil, assim como a promoção de melhor qualidade de vida e a diminuição das desigualdades em saúde. As ações de promoção, prevenção e assistência à saúde dirigida ao recém-nascido têm grande importância, pois influenciam a condição de saúde dos indivíduos, desde o período neonatal até a vida adulta (RODRIGUES *et al.*, 2019)

Devido a alto índice de morbimortalidade decorrente de anemia falciforme, o programa de triagem neonatal em conjunto com o aconselhamento genético atua de forma preventiva, a fim de minimizar o surgimento dos sintomas e de forma educativa informando a respeito da propagação dessa carga genética nas gerações futuras (NASCIMENTO & COSTA JUNIOR, 2017).

A triagem é muito importante por ser o primeiro passo para a melhora assistencial, por este motivo a identificação da maior concentração de casos e sua distribuição espacial é de extrema importância na complementaridade deste programa, pois possibilita o planejamento de toda a assistência tanto para os portadores de doença falciforme como para seus familiares (LEITE *et al.*, 2016).

Esses programas de triagem universal ou direcionados para recém-nascidos com a implementação de tratamentos simples como vacinação e profilaxia com antibióticos, acompanhamento regular em clínicas especializadas e melhor educação dos pais pode auxiliar diretamente em uma grande redução na mortalidade precoce por AF em países de alta e média renda. Por exemplo, simplesmente ensinar os pais a palpar o baço de seus filhos levou a uma redução de 90% na mortalidade por crises sequestro esplênico na Jamaica no ano de 1985 (CHAKRAVORTY & WILLIAMS, 2015).

Segundo COURA *et al.*, 2015 maioria dos estudos utilizaram como técnica para o diagnóstico precoce a cromatografia líquida de alta performance (HPLC), e a eletroforese por focalização isoeletrica (IEF), essas duas técnicas são as mais escolhidas pelo fato de qualquer uma delas poderem ser utilizadas de forma isolada para a triagem inicial, pois definem métodos de elevada precisão, sendo que todo resultado positivo deve ser repetido em mesma amostra para confirmação. Seria ideal que todos os laboratórios que realizam a triagem aderissem ambas as técnicas.

O diagnóstico precoce através da triagem neonatal vem proporcionando uma excelente melhora na qualidade de vida de crianças portadoras da doença, pois quanto maior a cobertura para o Programa de Triagem Neonatal, maiores são as chances de se obter o diagnóstico precoce para a doença.

#### 4.3. Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme

Segundo o Ministério da Saúde a primeira consulta de ser através de uma avaliação global da paciente. Deve ser objeto de especial atenção, nos antecedentes obstétricos, as complicações com insuficiência renal e hipertensão arterial, a dependência química, o abuso de álcool ou de narcóticos e o tabagismo. Pois esses fatores permitem que o acompanhamento seja muito mais eficaz, e com isso reduzir a morbidade, partos prematuros e abortos nessas parturientes (BRASIL, 2013).

**Quadro 2** - Exames para diagnóstico da Anemia Falciforme na triagem neonatal

<b>Exames</b>
Hemograma completo com contagem de eritrócitos
Eletroforese de hemoglobina
Exames para detectar lesões renais e acompanhamento hepático
Determinação do estoque de ferro
Glicemia
Acido úrico
Sorologia para hepatite A, B e C; HVI I e II
Rubéola e sífilis
Toxoplasmose
Citomegalovírus
Listriose
Exame com urocultura
MIF e teste para detecção de anticorpos contra eritrócitos.

Fonte: Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada (BRASIL, 2013).

De modo geral, quanto maior a quantidade de HbS, mais grave é a doença. A presença de outras hemoglobinas dentro da célula influencia a falcização, pois assim há um efeito de diluição, diminuindo a oportunidade de contato entre os eritrócitos que possam constituir um futuro polímero. Assim também se pode constatar que a desidratação celular aumenta a concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), facilitando a falcização, por aumentar a possibilidade de contato entre as moléculas de HbS. (ANVISA, 2002)

O diagnóstico laboratorial tem por finalidade abordar os aspectos fisiopatológicos da doença através de diferentes técnicas laboratoriais, pois a doença falciforme requer metodologias específicas para detecção da hemoglobina S, sendo essa responsável pelo

surgimento da hemácia provocando assim a falcização, essa falcização promove uma hemólise desenvolvendo o quadro de anemia hemolítica (MONTEIRO *et al.*,2015)

O diagnóstico deve seguir as normas estabelecidas no PNTN (Portaria do Ministério da Saúde nº 822/01) mais conhecida como teste do pezinho (RAMALHO,2003). Sendo assim todo recém-nascido com resultado positivo para a doença falciforme deve se encaminhado ao médico, e uma nova amostra confirmatória deve ser analisada após o sexto mês de vida. Um protocolo de acompanhamento incluindo medidas profiláticas e educativas deve ser então instituído (FERRAZ & MURAO,2007).

O RN portador da AF ou TF geralmente não apresenta sintomatologia devido ao efeito protetor da hemoglobina fetal, que, neste período da vida, representa cerca de 80% do total da hemoglobina. Como já foi falado os recém-nascidos diagnosticados já na triagem neonatal como prováveis doentes falciformes devem ter seus exames reavaliados laboratorialmente após o 6º mês de vida, e o estudo familiar deve ser realizado para complementar esta avaliação devido a esse a grande quantidade de HbF os testes de falcização (pesquisa de drepanócitos) e de solubilidade são inadequados para o recém-nascido por levarem a resultados falsos-negativos devido aos altos níveis de hemoglobina fetal e aos baixos níveis da hemoglobina S presentes nesta ocasião (FERRAZ & MURAO,2007).

Mesmo sendo um teste simples a pesquisa de drepanócitos, embora incapaz de diferenciar os vários genótipos, pode confirmar a presença da Hb S a partir dos 6 meses onde a HbF não se encontrar em alto nível. A repetição da eletroforese confirma o perfil hemoglobínico num melhor momento, ocasião em que se aproxima do perfil do adulto (FIGUEIREDO *et al.*, 2014)

O esfregaço sanguíneo é bastante útil, pois pode apresentar variação de tamanho, forma e cor da hemácia. São observadas alterações morfológicas dos eritrócitos, com células em forma de foice e eritroblastos em várias etapas maturativa. O teste de falcização ou de solubilidade indicam a presença de hemoglobina S, mas não fazem distinguem a anemia com o traço falciforme (HOFFBRAND *et al.*, 2008).

Uma grande variedade de testes qualitativos e quantitativos permite a detecção da HbS, entre eles são amplamente conhecidos o teste de solubilidade e a eletroforese de hemoglobinas. Outras técnicas quantitativas também têm sido utilizadas, como eletroforese por focalização isoeletrica (IEF), cromatografia líquida de baixa pressão (LPLC) e

cromatografia líquida de alto desempenho (HPLC) onde apresentam alta sensibilidade e especificidade, sendo a HPLC considerada como um teste de padrão ouro para detecção de HbS (GIOVELLI *et al.*, 2011).

No caso da HPLC ela utiliza uma fase móvel líquida para separar os componentes da amostra do paciente, esses componentes são dissolvidos em um solvente e, em seguida, forçados a passar por uma coluna de alta pressão. Os componentes, então, interagem com a fase estacionária e saem em diferentes momentos dessa forma é possível identificar a HbS (COLLINS, BRAGA & BONATO, 2007). Já a IEF representa uma técnica na qual compostos eletroforéticos são fracionados de acordo com os seus pIs através de um gradiente de pH contínuo, na IEF ela permanece alterada e vai diminuindo de acordo com sua curva de titulação, em que ela migra através do gradiente de pH, alcançando sua posição de equilíbrio, ou seja, a região onde o pH iguala-se ao seu pI, estabelecendo a parada da fração analisada (BERTHOLO & MOREIRA, 2006).

As técnicas de eletroforese de hemoglobina e HPLC representam um passo importante no reconhecimento da relevância das hemoglobinopatias como problema de saúde pública no Brasil e também o início da mudança da história natural da anemia falciforme no país. Desta forma, o diagnóstico confirmatório para esta doença é a biologia molecular por meio das técnicas de PCR (Reação em Cadeia de Polimerase), que consiste na amplificação seletiva de fragmento do DNA, onde é possível obter uma sequência de DNA no qual se encontra a mutação (CANÇADO & JESUS, 2007).

Exames por imagem como radiografia simples e ressonância magnética também podem auxiliar no diagnóstico podendo mostrar aspectos característicos da doença, como o crânio com estriações perpendiculares e a vértebra “em H”, e contribui para a detecção de infartos ósseos em fases mais avançadas (YANAGUIZAWA *et al.*, 2008).

Após o diagnóstico da doença falciforme é relevante ressaltar medidas preventivas com o objetivo de minimizar as complicações secundárias desencadeada pela doença falciforme, tais como infecções e crise vaso oclusiva. Como falado anteriormente portadores da anemia falciforme se tornam mais vulneráveis a infecções, sejam elas causadas por vírus ou bactérias. Dentre os casos virais há o *Parvovírus B19*, que ataca as hemácias imaturas gerando hiperplasia dos demais eritrócitos, morte dos glóbulos vermelhos imaturos e aumento da anemia já existente. Durante esse processo é comum o indivíduo apresentar: febre, mal

estar e sintomas leves tanto gastrointestinais quanto respiratórios. Esse quadro apresenta-se com maior frequência durante o inverno e primavera, sendo diagnosticado através de testes sorológicos (pesquisa de IgG e IgM) (DI NUZZO *et al.*,2004). De acordo com SILVA (2014), a equipe multidisciplinar busca realizar uma integralidade das ações da saúde possibilitando a troca de informações para oferecer ao portador falcêmico uma sobrevida de qualidade.

Devido à dinâmica das doenças hereditárias, os desafios de saúde pública atual e futuras são dois. Primeiro, os países com altas frequências de HbS precisam estar preparado para fornecer cuidados de saúde para os pacientes com anemia falciforme. Com reduções substanciais nas taxas de mortalidade de crianças menores de cinco anos de idade em muitos países em desenvolvimento, diversos recém-nascidos homozigotos para HbS que teriam anteriormente morrido sem diagnóstico, tem agora mais probabilidade de sobreviver até a idade adulta (WILLIAN, 2009).

Foi possível concluir a partir desses dados bibliográficos que a introdução de técnicas alternativas de diagnóstico como a HPLC e IEF tem trazido uma melhor forma de análise. No caso dos testes de falcização mesmo não sendo um método de diagnostico bem utilizado atualmente para muitos laboratórios ele ainda é realidade e se torna muito eficiente mesmo que em alguns caso ocorra resultados falso-negativos.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir deste trabalho foi possível mostrar estudos que relatam a prevalência da anemia falciforme assim como as principais técnicas laboratoriais usadas para a detecção da HbS em crianças. Devido ao fato de ser uma doença hereditária de origem africana a anemia falciforme se encontra em grande escala no Brasil devido ao processo migratório dos afrodescendentes na época da escravidão. Sendo assim a Triagem Neonatal é fundamental, pois através do diagnóstico laboratorial pode-se fazer a detecção precoce da doença, evitando assim as complicações decorrentes dela, buscando a melhor forma de tratamento e evitando que o recém-nascido ou criança venha a óbito.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADORNO. E.V, COUTO. F.D, MOURA NETO. J.P, MENEZES. J. F, RÊGO M, REIS. M.G, et al. Hemoglobinopathies in newborns from Salvador, Bahia, Northeast Brazil. **Caderno de Saúde Pública**. Vol. 21,n. 1, p. 292-8, 2005.
- ALMEIDA, A. M. et al. Avaliação do Programa de Triagem Neonatal na Bahia no ano de 2003. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Bahia, v.6, n.1, p.85-91, 2006.
- ÂNGULO, I. L. Crises Falciformes. *Medicina*. Ribeirão Preto, v. 36, p. 427-430, 2003.
- ANVISA. Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. Brasília, 2002
- ARAÚJO. M. C. P.E. et al. Prevalence of abnormal hemoglobins in newborns in Natal, Rio Grande do Norte, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, vol.20, n.1, p.123-128, jan-fev, 2004.
- ATAIDE. C. A, RICAS. J. O enfrentamento do diagnóstico da doença falciforme: Desafios e perspectivas vivenciadas pela família. **Scientia Plena**, vol. 13, n. 05, p.1-10,2017.
- BANDEIRA, F. M. G. C. et al. Hidroxiureia em pacientes com síndromes falciformes acompanhados no Hospital Hemope, **Revista Brasileira de Hematologia Hemoterapia**, Recife - PE. v. 26, n. 3, p. 189-94, 2004.
- BANDEIRA.F.M.G.C et al. Importância dos programas de triagem para o gene da hemoglobina S. **Rev. bras. Hematologia e hemoterapia**.vol.29, n.2, p.179-184, 2007.
- BARROS. A. B. S. Dúvidas dos familiares de crianças com necessidades especiais de saúde quanto os cuidados domiciliares. 71 f. Monografia (Graduação em Enfermagem) - Universidade Federal Fluminense (UFF), Rio de Janeiro, 2016.
- BERTHOLO, L. C. & MOREIRA, H. W. A focalização isoelétrica na identificação das hemoglobinas. **J Bras Patol Med Lab** .v. 42 ,n. 3 , p. 163-168 ,junho, 2006.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Doença falciforme: diretrizes básicas da linha de cuidado. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. 82 p. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada, 2013.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Doença falciforme: Condutas básicas para tratamento. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Especializada e Temática. 63p. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Manual de vigilância do óbito infantil e fetal e do comitê de prevenção do óbito infantil e fetal. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
- BOTHER, J. et al. Triagem neonatal- o desafio de uma cobertura universal e efetiva. **Ciências & Saúde Coletivas**, v.15, n.2, p.493-508, 2010.

CANÇADO. R. D. JESUS. J.A. Sickle cell disease in Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.29, n.3, p.203-206,2007.

CHAKRAVORTY, S. WILLIAMS. T. N. Doença das células falciformes: uma doença crônica negligenciada e com crescente importância para a saúde global. *Arquivos de doenças na infância*, v. 100, n. 1, p. 48-53, 2015.

COLLINS, C.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Fundamentos de Cromatografia. 1ª reimpressão.. Editora da UNICAMP - Campinas: Editora da UNICAMP, 2007.

COURA, M. R. G. et al. **Manifestações clínicas e diagnóstico laboratorial da doença falciforme: uma revisão sistemática.** 2015.

CUSTÓDIO. L. GOMES. I. LEITÃO. ILSE. Limitações impostas à escolarização das crianças e adolescentes com doença falciforme. *Série-Estudos, Campo Grande, MS*, v. 23, n. 49, p. 249-266, set./dez. 2018.

DI NUZZO, D.V.P. FONSECA, S. F. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v.80, n.5, 2004.

FRANÇA. A. A. P et al. Defeitos congênitos por fatores genéticos. **Revista Científica Fagoc Saúde** - Volume I, p. 41-54, 2016.

FERNANDES. A. P et al. Mortality of children with sickle cell disease: a population study. **Jornal de Pediatria** - Vol. 86, Nº 4, 2010.

FERREIRA, A.M. et al. Aplicações da biologia molecular no diagnóstico da anemia falciforme. **Revista ciência e cultura**, v.1, 2015.

FERRAZ.S. T. Acompanhamento clínico de crianças portadoras de anemia falciforme em serviço de atenção primária em saúde. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.22, n.3, p. 315-320, 2012.

FERRAZ, M.H.C. MURAO, M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. **Rev Bras Hematol Hemoter**, v. 29, n. 3, p. 218-22, 2007.

FIGUEIREDO, A. K. B. SANTOS, F. A.V.SÁ, L. H. S.SOUZA, N.D. L. Anemia falciforme: abordagem diagnóstica laboratorial. **Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança**. vol. 12, n.1,p.96-103, Jun. 2014.

GALIZA NETO.G.C, PITOMBEIRA.M.S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, v. 39, n. 1, p. 51-56, 2003.

GIOVELLI, L. L. et al. Estudo comparativo entre metodologias de triagem para detecção de hemoglobina S em bancos de sangue. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 47, n. 2, p. 137-140, abr. 2011

HOLSBACH, D. R.; SALAZAR, E.A.V.M.; IVO, M.L.; ARAUJO, O.M.R.; SAKAMOTO, T.M. Investigação bibliográfica sobre a hemoglobina S de 1976 a 2007. **Acta Paulista Enfermagem**, v. 23, n. 1, pag. 119-124, 2010.

HOFFBRAND, Victor.; MOSS, Hylex.; PETTIT, Jande. Fundamentos em hematologia. Ed. Artmed. Porto Alegre, 2008. 400p

- JESUS.J. A. Doença falciforme no brasil. **Gaz. Méd. Bahia**.80:3,Ago-Out, p. 8-9, 2010.
- LEITE, D. C. F. et al. Estudo dos indivíduos heterozigotos para doença falciforme identificados na triagem neonatal em Sergipe. 2016.
- LEITE, V. M.; PONTES, D. B. S. A Evolução da Triagem Neonatal no Brasil. Departamento de Enfermagem – Faculdades Integradas de Ourinhos- FIO-FEMM. Ourinhos- SP, 2009.
- LOBO .C, MARRA .V.N, SILVA .R.M.G. Crises dolorosas na doença falciforme. **Rev Bras Hematol Hemoter**.v.29, n 3, p. 274-58, 2007.
- LORENCINI, G. R. F. PAULA, K. M. P. Perfil comportamental de crianças com anemia falciforme. **Temas em Psicologia**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 2, p. 269-280, jun, 2015.
- MANFREDINI.V, CASTRO. S, WAGNER.S, BENFATO. M. S.A fisiopatologia da anemia falciforme. **Revista infarma**, v.19, nº 1/2, 2007.
- MANFREDINI, V.; ZANATTA, T: Comparação entre métodos laboratoriais de diagnóstico de Doenças Falciformes. **Revista Newslab**, v.94, p. 180-194, 2009.
- MARQUES V. et al. Revendo a anemia falciforme: sintomas, tratamentos e perspectivas. **Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente**, p.39-61, 2012.
- MENDONÇA, A. C. *et al.* Muito além do “Teste do Pezinho”. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v.31, n.2, p.88- 93, 2009.
- MONTEIRO.A. C. B. et al. Anemia falciforme, uma doença caracterizada pela alteração no formato das hemácias. **Saúde em Foco**, ed.07, 2015.
- NASCIMENTO. D. F, COSTA JUNIOR. E. O. Identificação dos portadores de traço falciforme na triagem neonatal. 2018.
- NOGUEIRA. K.D.A, SILVA. W.D.L, PAIVA. S.G. Diagnóstico laboratorial da anemia falciforme. **Revista Científica do ITPAC**, Araguaína, v.6, n.4, Pub.2, out. 2013.
- OLIVEIRA C. C. Avaliação Neuromotora e Funcional de Pacientes em Doenças Falciforme e Acidente Vascular Cerebral. Campinas, SP. Dissertação (mestrado), Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. 2007.
- OLIVEIRA. A. C. F. et al. Assistência de enfermagem ao paciente portador de anemia falciforme. **Brazilian Journal of health Review**, Curitiba, v. 2, n.3, p. 1815-1823, mar /apr, 2019.
- PINHEIRO. L. S. et al. Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** Vol. 28, n. 2, p. 122-5, 2006.
- RAMALHO, A. S.; MAGNA, L. A.; PAIVA-E-SILVA, R. B. A portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro – RJ, v.19, n.4, p.1195-1199, 2003.
- RAMALHO, A.S. et al. A Portaria nº 822/01 do Ministério da Saúde e as peculiaridades das hemoglobinopatias em saúde pública no Brasil. 2003.

- RAMOS. J. T. et al. Mortality in children with sickle cell disease in Bahia: an epidemiological study. **Revista de Saúde Coletiva da UEFS**, Feira de Santana, vol.7, n. 3, p. 36-39, Dezembro, 2017.
- RODRIGUES. H. A. et al., Prevalência de hemoglobinopatias em neonatos no estado do PI. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**. Vol.11,p.5-9,2019.
- RUIZ. M. A. Anemia falciforme. Objetivos e resultados no tratamento de uma doença de saúde pública no Brasil. **Rev. bras. hematol. Hemoter.** Vol.29, n.3, p.203-206, 2007.
- SABARENSE. A.P, LIMA. G.O, SILVA. L.M. L, VIANA. M.B. Characterization of mortality in children with sickle cell disease diagnosed through the Newborn Screening Program. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 91, n.3, p.242-247, 2015.
- SANTOS, E. C. et al. O Conhecimento de Puérperas sobre a Triagem Neonatal. **Revista Cogitare de Enfermagem**, Cuiabá-MT, v.16, n.2, p.282-288, 2011.
- SILVA, A. K. L. S. et al. Renda e cor de pessoas com anemia falciforme atendidas na fundação hemopa, Pará, Amazônia, Brasil: realidade e perspectivas. **Revista da Associação Brasileira de Pesquisadores/as Negros/as (ABPN)**, v. 10, n. 24, p. 366-391, fev. 2018.
- SILVA, P. **Atenção integral ao portador da doença falciforme: Plano de ação na estratégia saúde da família.** Universidade Federal de Minas Gerais. Lagoa Santa, Minas Gerais, 2014.
- SILLA. L.M. R, Doença falciforme: um grave e desconhecido problema de saúde pública no Brasil. **Jornal de Pediatria** - Vol. 75, Nº3, p.145-146,1999.
- SOUZA. J.M, ROSA P.E.L, SOUZA.R.L, CASTRO G.F.P. Fisiopatologia da anemia falciforme. **Revista Transformar**. 8ed, p.162-179,2016.
- SOUSA, A. M; SILVA, F. R. A. Traço falciforme no Brasil: revisão da literatura e proposta de tecnologia de informação para orientação de profissionais da atenção primária. **Revista de Medicina da UFC**, v. 57, n. 2, p. 37-43, 2017.
- WATANABE. A. M. et al. Prevalência da hemoglobina S no Estado do Paraná, Brasil, obtida pela triagem neonatal. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 24, n. 5, p. 993-1000, 2008.
- WILLIAMS, T. N. UYOGA, S. MACHARIA, A. **Bacteraemia in Kenyan children with sickle-cell anaemia: a retrospective cohort and case-control study.** Lancet. 2009.
- YANAGUIZAWA. M, TABERNER. G.S, CARDOSO. F.N.C, NATOUR. J, FERNANDES.A.R.C. Diagnóstico por imagem na avaliação da anemia falciforme. **Rev. Bras. Reumatol.** Vol.48, n.2, p. 102-5, Abril, 2008.
- ZAGO. M.A; FALCÃO. R.P; PASQUINI. R. Tratado da Hematologia. São Paulo: Atheneu, p.205-224, 2014.