

Efeitos da Talassemia Alfa nas manifestações clínicas e hematológicas da Anemia Falciforme: uma revisão sistemática

Alpha thalassemia effects on clinical and hematological manifestations of sickle cell disease: A systematic review

André Rolim Belisário¹, Marcos Borato Viana²

RESUMO

A anemia falciforme, doença hereditária causada por uma mutação no gene da globina beta, produz uma diversidade de expressões fenotípicas nos indivíduos acometidos. O quadro clínico é bastante heterogêneo e varia muito entre indivíduos. O nível de Hb F, o genótipo de talassemia alfa, o haplótipo do agrupamento de genes da globina beta, a idade, o gênero e fatores ambientais são modificadores importantes do quadro clínico da doença. Esta revisão concentra-se nos efeitos da talassemia alfa nas manifestações clínicas e laboratoriais da anemia falciforme. A coexistência da talassemia alfa modifica características laboratoriais da anemia falciforme, bem como a frequência de manifestações clínicas e, até mesmo, a sobrevida dos indivíduos. Entretanto, sua simples presença ou ausência não permite prever, isoladamente, o quadro clínico dos pacientes. Daí surge a necessidade de estudar outros fatores moduladores que possam ser utilizados em conjunto para definir subfenótipos da doença e, assim, serem utilizados como ferramenta clínica no acompanhamento dos pacientes.

Palavras-chave: Anemia Falciforme; Talassemia Alfa; Prognóstico.

ABSTRACT

Several different phenotypic traits are found in patients with sickle cell disease, an inherited disorder caused by beta globin gene mutation. The clinical picture is very heterogeneous and varies across individuals. Hb F levels, alpha thalassemia genotype, beta globin gene haplotype, age, gender and environmental factors are important elements with implications for the clinical picture. This review focuses on the alpha thalassemia effects on clinical and hematological manifestations of sickle cell disease. Alpha thalassemia has significant impact on hematological features of sickle cell disease, the frequency of clinical manifestations, and also individuals' life expectancy. Nevertheless, the mere presence or absence of alpha thalassemia is not enough to predict patient's clinical picture. Therefore, other factors should be studied to provide a set of factors capable of defining sub-phenotypes and to provide a suitable clinical tool for following patients up.

Key words: Sickle Cell Disease; Alpha Thalassemia; Prognosis.

INTRODUÇÃO

A anemia falciforme é uma doença autossômica recessiva caracterizada pelo estado homocigoto da hemoglobina S (Hb S; 6(A1) Glu>Val), variante resultante de uma mutação de ponto no gene beta da globina (HBB:c.20A>T).¹ A fisiopatologia da anemia falciforme produz uma diversidade de expressões fenotípicas nos indivíduos

¹Biólogo da Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG – Brasil
²Professor Titular do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG – Brasil.

Recebido em: 09/06/2010
 Aprovado em: 01/12/2010

Instituição
 Faculdade de Medicina da UFMG

Endereço para correspondência:
 Marcos Borato Viana
 Faculdade de Medicina – Departamento de Pediatria
 Universidade Federal de Minas Gerais
 Av. Alfredo Balena, 190/267
 CEP: 30130-100
 Belo Horizonte, MG – Brasil
 Email: vianamb@gmail.com

os acometidos, que engloba, de modo geral, hemólise crônica e fenômenos vaso-oclusivos.²

Além do amplo espectro de manifestações clínicas, diferenças marcantes no nível de gravidade entre os indivíduos afetados caracterizam a anemia falciforme. Dessa forma, fatores ambientais e genéticos têm sido usados para explicar essa diversidade fenotípica.³ O nível de hemoglobina F (Hb F), o genótipo de talassemia alfa (α -Tal), o haplótipo do agrupamento de genes da globina beta, a idade, o gênero e fatores ambientais são modificadores importantes do quadro clínico da doença.⁴

Desde a primeira demonstração de que a coexistência de α -Tal pode modificar as características clínicas e laboratoriais da anemia falciforme,^{5,6} esse campo virou alvo de várias pesquisas envolvendo indivíduos de várias origens e nacionalidades. Entretanto, devido à variabilidade amostral e à inadequação metodológica em alguns estudos, há controvérsias sobre o real efeito da α -Tal na fisiopatologia da anemia falciforme.

Esta revisão de literatura tem o objetivo de atualizar os conhecimentos existentes sobre o efeito da α -Tal em características clínicas e laboratoriais da anemia falciforme.

METODOLOGIA

Foi feita busca de artigos científicos indexados no PubMed com os descritores “Sickle Cell Anemia” AND “Alpha Thalassemia” e na Bireme com os descritores “Anemia Falciforme” e “Talassemia Alfa”, ambas sem restrição de data de publicação e idiomas. A partir dessa busca, os artigos foram selecionados de acordo com a relevância para o tema proposto. Também foram incluídos artigos listados nas referências bibliográficas dos artigos encontrados pela estratégia descrita.

TALASSEMIA ALFA

O agrupamento de genes da globina alfa está localizado no braço curto do cromossomo 16. Nos seres humanos, os genes alfa são duplicados e, dessa forma, um indivíduo normal possui quatro genes alfa ativos, dois em cada cromossomo 16 ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$).⁷ Os éxons dos genes $\alpha 1$ e $\alpha 2$ são homólogos e codificam proteínas idênticas. Apesar dessa homologia, o gene

$\alpha 2$ apresenta expressão duas a três vezes maior que o gene $\alpha 1$ na produção total de globina alfa.⁸ Os genes da globina alfa são compostos de três éxons (I, II e III) e dois íntrons (IVS-1 e IVS-2).⁷

A α -Tal constitui um grupo de doenças hereditárias de distribuição mundial, causadas pela deficiência da síntese de cadeias alfa da hemoglobina.⁹

As formas de α -Tal são resultantes da deficiência de um, dois, três ou dos quatro genes alfa. Os indivíduos com α -Tal são classificados segundo o número de genes afetados: portador silencioso, no qual um gene alfa é afetado; traço alfa-talassêmico, no qual dois genes alfa são afetados; doença da hemoglobina H, na qual três genes alfa são afetados; e síndrome da hidropisia fetal por hemoglobina Bart, em que todos os quatro genes alfa são afetados.¹⁰ A deleção de um gene alfa por cromossomo é classificada como α^+ -talassemia ou α -Tal-2 e a deleção de ambos os genes por cromossomo é classificada como α^0 -talassemia ou α -Tal-1.

O portador silencioso ($-\alpha/\alpha$) é o tipo mais comum entre as α -Tal, com forma de talassemia praticamente assintomática e com alterações laboratoriais mínimas ou ausentes, o que dificulta o seu diagnóstico por técnicas laboratoriais convencionais. O portador desse tipo de talassemia apresenta o volume corpuscular médio discretamente diminuído (VCM<80); a morfologia eritrocitária é quase sempre normal, ocorrendo microcitose em algumas células.^{9,10}

O traço talassêmico α^+ homocigoto e o traço talassêmico α^0 heterocigoto, que correspondem à perda de dois genes alfa ($-\alpha/-\alpha$ e $-\alpha/\alpha$, respectivamente), caracterizam-se por apresentar anemia geralmente leve (11,0 a 13,0 g/dL, nos adultos), hemácias hipocrômicas e microcíticas (VCM entre 75 e 80 fl), anisopoiquilocitose discreta e presença de hemoglobina de Bart (tetrâmero de cadeias gama) ao nascimento entre 5 e 10%. A hemoglobina H (Hb H - tetrâmero de cadeias beta), formada em quantidades crescentes a partir do momento em que ocorre a troca (*switch*) da produção de cadeias gama por cadeias beta, é rapidamente proteolisada pela própria hemácia, o que dificulta a sua detecção.⁹ Os pacientes, apesar de serem aparentemente normais sob o ponto de vista clínico, reclamam de fraqueza, cansaço, dores nas pernas e palidez.¹⁰

A doença da Hb H é causada pela deleção de três genes alfa ($-\alpha/\alpha$). Os portadores dessa forma apresentam 25 a 50% de hemoglobina de Bart ao nascimento e 5 a 30% de hemoglobina H na vida adulta. Os quadros

clínico e laboratorial expressam-se de forma mais grave, caracterizado por anemia (Hb entre 8,0 e 11,0 g/dL), microcitose (VCM entre 55 e 65 fL), hipocromia e poiquilocitose, presença de hemácias policromatófilas e de hemácias em alvo, icterícia, esplenomegalia e Hb H, atingindo concentrações de até 20%.⁹⁻¹¹

A hidropisia fetal é a forma mais grave de talassemia, pois se trata de uma forma letal. As crianças recém-nascidas afetadas pela deleção dos quatro genes alfa (---) apresentam anemia grave, com hemoglobina inferior a 7 g/dL, hipocromia, microcitose e anisopoiquilocitose, além da concentração de hemoglobina de Bart entre 80 e 100% e de Hb H entre 10 e 20%.^{9,10}

A α -Tal é uma das hemoglobinopatias de diagnóstico mais difícil, por falhas na interpretação dos resultados. Por isso, é importante a utilização de técnicas seletivas e de confirmação, aplicadas juntamente com a análise clínica e de dados hematológicos.

Para o diagnóstico dessa anemia hereditária, são essenciais a análise dos índices eritrocitários, a hematoscopia, incluindo a análise da morfologia eritrocitária, a pesquisa de corpos de inclusão de Hb H e a eletroforese de Hb em pH alcalino. Em segundo plano, a dosagem de Hb A2, a contagem de reticulócitos e a avaliação do suprimento de ferro auxiliam no diagnóstico de anemias de etiologia incerta.¹²

No período neonatal, a hemoglobina de Bart pode ser detectada na eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose em pH alcalino e confirmada em tampão fosfato, pH 6,5 a 7,0. No entanto, concentrações reduzidas dessa hemoglobina, como ocorre no portador silencioso (inferior a 1%), dificultam sua detecção. No adulto, a Hb H deve ser investigada no sangue periférico, por meio da pesquisa de corpúsculos de inclusão, após a coloração do sangue com o azul brilhante de cresil para visualização dos corpos intraeritrocitários formados pela precipitação dos tetrameros de cadeia beta. Também pela pesquisa de corpos de Heinz, a partir da coloração do sangue com violeta de metila para visualização de corpos birrefringentes, constituídos de hemoglobinas instáveis no interior do eritrócito. A visualização de bandas de Hb H, sugerindo α -Tal, pode ser feita a partir do traçado eletroforético em pH alcalino. Entretanto, o hemolisado deve ser preparado em tampão fisiológico sem a presença de solventes orgânicos. Também é importante que o profissional do laboratório seja informado pelo solicitante sobre a intenção de investigação de α -Tal. A confirmação deve ser feita utilizando-se outras metodologias.^{13,14}

O diagnóstico molecular é a única forma de confirmar o genótipo e diferenciar os tipos de deleção que a causam. Esse método é indicado para o período pré-natal, estudos populacionais e para o diagnóstico diferencial entre heterozigotos e homozigotos. Nos heterozigotos as outras técnicas, que não as moleculares, são inadequadas porque as manifestações laboratoriais são muito discretas para serem detectadas.¹⁴

A causa mais comum de α -Tal são deleções no cromossomo 16p13.3, envolvendo o agrupamento de genes da alfa globina; porcentagem mínima é causada por mutações de ponto.

As sete deleções mais comuns que causam a α -Tal são: $-\alpha^{3,7}$ e $-\alpha^{4,2}$, que atingem apenas um gene da globina alfa, e as deleções, que atingem os dois genes da globina alfa em cis, como os alelos $--_{SEA}$, $--_{FIL}$ e $--_{THAI}$, comuns no sudeste da Ásia, e os alelos $--_{MED}$ e $-(\alpha)^{20,5}$, que ocorrem com mais frequência no Mediterrâneo.¹⁵

Essas mutações provavelmente tiveram origem por *crossing over* desigual entre os genes $\alpha 1$ e $\alpha 2$.⁷ A deleção $-\alpha^{3,7}$ é originada por um *crossing-over* desigual entre regiões homólogas do cromossomo 16, deletando 3.7 kilobases de DNA. Do processo resulta um simples gene $\alpha 2$ ou, mais comumente, um gene $\alpha 2/\alpha 1$ híbrido em uma das fitas do cromossomo meiótico, que sofre o *crossing-over*, e três genes α na fita complementar. O alelo com genes triplicados tende a se perder nas divisões celulares subsequentes.¹⁶ A deleção $-\alpha^{3,7}$ é heterogênea e possui três subtipos diferentes (I, II ou III), dependendo da localização exata do ponto de quebra (*breakpoint*) da mutação no gene. O tipo I é mais prevalente nos africanos e americanos, enquanto o tipo III praticamente só ocorre em asiáticos.¹⁷

No Brasil, a prevalência de α -Tal relaciona-se diretamente com as diferentes etnias que formaram e compõem a população de determinada região. O tipo de deleção 3.7 predomina de forma quase exclusiva em todas as regiões brasileiras já estudadas.⁹

Estima-se que na população brasileira a prevalência do portador silencioso seja de 10 a 20%; a de traço alfa-talassêmico situa-se entre 1 e 3%. Entretanto, se se considerarem os indivíduos afro-descendentes, essa frequência pode alcançar 20 a 25%.⁹ Em estudo realizado com 47 doadores negros do estado de São Paulo, estimou-se a prevalência de 21,3% de portadores silenciosos ($\alpha\alpha/-\alpha^{3,7}$) e 2,1% de portadores do traço α -talassêmico.¹⁸

Entre todos os defeitos genéticos das hemoglobinas, a α -Tal é a mais prevalente em quase todos

os continentes. A frequência de α^+ -talassemia é elevada em populações da Ásia e da Oceania (China, Tailândia, Indonésia, entre outros países) e da região do mediterrâneo (principalmente Itália e Grécia), podendo chegar a 80%. Em países do Oriente Médio (Arábia Súdita, Irã e Turquia) essa frequência pode atingir 60%. No continente africano e em alguns países da América (Canadá, Estados Unidos, México, Caribe, Jamaica, Venezuela, Argentina), a frequência de α^+ -talassemia pode chegar a 40%. Quanto à α^0 -talassemia, sua ocorrência significativa limita-se às regiões do Mediterrâneo e do sudeste asiático.¹⁴

ANEMIA FALCIFORME

A distribuição mundial do alelo β^S , causador da anemia falciforme, é bastante ampla. Ele pode ser encontrado em toda a África Subsaariana, em algumas populações do Mediterrâneo, populações de oásis no Oriente Médio e em determinadas regiões do subcontinente indiano.¹⁹ O alelo β^S nunca foi encontrado em populações ameríndias, embora mais de 3.000 indivíduos tenham sido testados. A presença desse alelo no continente americano é o resultado do fluxo gênico originário da África durante 400 anos de tráfico de escravos.²⁰ Com isso, a frequência do alelo β^S é proporcional à intensidade relativa do fluxo migratório africano e ao grau de miscigenação das populações africanas com outras populações. Essa distribuição é desigual nas Américas do Norte, Sul e Central e nas ilhas caribenhas. O tráfico de escravos para o Brasil durou cerca de três séculos e teve como principal motivação a necessidade de mão-de-obra gratuita para a lavoura, mineração e afazeres domésticos. A contribuição do alelo β^S trazido diretamente por imigrantes europeus (portugueses e italianos do sul) é insignificante.²¹

O Ministério da Saúde estima a prevalência de 25.000 a 30.000 indivíduos com anemia falciforme no Brasil e a incidência de 3.500 novos casos a cada ano (o nascimento de uma criança com anemia falciforme para cada 1.000 nascidos vivos).²² No estado de Minas Gerais, de 1,8 milhão de crianças nascidas entre os anos de 1998 e 2005, o Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PETN-MG) detectou a proporção de uma criança com anemia falciforme a cada 2.528 nascidos vivos.²³

Em determinadas situações, como hipóxia, desidratação e acidose, as moléculas de Hb S formam

polímeros alongados que modificam o citoesqueleto das hemácias, dando origem à forma característica de foice (falcização).^{24,25} A polimerização da Hb S causa diversas modificações físico-químicas nas hemácias e é o evento primário indispensável para a patogênese molecular da anemia falciforme.²⁴ Esse processo leva à hemólise crônica das hemácias, causando um quadro de anemia persistente. Além disso, as hemácias falcizadas se tornam mais aderentes e ligam-se umas às outras: a hemácias não falcizadas, a células nucleadas e ao endotélio vascular, causando vaso-oclusão.²⁶ Os fenômenos vaso-oclusivos e a hemólise acentuada são os principais determinantes das manifestações clínicas da anemia falciforme. Apesar da alteração principal estar restrita às hemácias, trata-se de doença sistêmica cujos efeitos podem incidir sobre qualquer órgão.² As manifestações clínicas variam desde morte precoce na infância a ausência de sintomas com expectativa de vida quase normal.²⁶ Por ser uma anomalia da globina beta, os sintomas comumente só surgem após o sexto mês de vida, quando a produção da cadeia β^S já é claramente predominante em relação à da cadeia gama da Hb F.^{27,28} Alguns exemplos de manifestações clínicas da anemia falciforme são: litíase biliar, crise aplástica, crises de dor, síndrome torácica aguda, acidente vascular cerebral, priapismo, sequestro esplênico, úlceras nas pernas e necrose óssea avascular.

O diagnóstico laboratorial da anemia falciforme é baseado na mobilidade eletroforética mais lenta da Hb S em relação à Hb A normal. As principais técnicas utilizadas são a eletroforese de hemoglobina, focalização isoelétrica ou cromatografia líquida de alta performance (HPLC).^{29,30} Técnicas de diagnóstico molecular para detecção da substituição do nucleotídeo que dá origem à Hb S também estão disponíveis.^{31,32}

Fatores ambientais, como o local onde vive o paciente, prevalência de doenças infecto-contagiosas, condições socioeconômicas e acesso e qualidade da assistência médica, podem influenciar no fenótipo da doença.³³ No Brasil, a maioria dos indivíduos acometidos possui baixa renda e necessita dos cuidados médicos fornecidos pelo Sistema Único de Saúde.³⁴

Apesar de ser causada pela substituição de um único nucleotídeo, o fenótipo da anemia falciforme é o produto de vários genes.³⁵ A redução do nível da Hb S e/ou o aumento do nível da Hb F podem influenciar no processo de falcização e modificar o fenótipo da doença. Além disso, vários processos na vasculatura e órgãos

influenciam no fenômeno de vaso-oclusão e também levam à diversidade de gravidade da doença.³⁶

Sabe-se que as manifestações clínicas dos pacientes acometidos pela anemia falciforme são influenciadas por três tipos de genes: a) o gene que abriga a mutação primária, ou seja, o alelo β^S da globina; b) genes pleiotrópicos, que estão envolvidos na fisiopatologia secundária, sendo indispensável a presença da primeira mutação, cada um com o potencial de modificar a extensão e a característica das manifestações clínicas do paciente (ex: hemólise, hiperplasia eritroide na medula óssea, necrose óssea e outros); e c) genes epistáticos (polimorfismos dos genes pleiotrópicos), que modulam significativamente a fisiopatologia da doença em um paciente em particular. Esses eventos secundários contribuem de forma significativa para o fenótipo e explicam as diferenças interindividuais marcantes na gravidade da doença.³⁷

A CO-HERANÇA DE TALASSEMIA ALFA NA ANEMIA FALCIFORME

A possibilidade da coexistência de α -Tal interferir no curso clínico da anemia falciforme vem sendo investigada exaustivamente, pois há evidências de atenuação do quadro clínico do portador da interação em comparação com a anemia falciforme isoladamente.^{38,39}

A α -Tal exerce três principais impactos na anemia falciforme: a) modifica os parâmetros laboratoriais; b) afeta a sobrevida geral dos pacientes; e c) afeta de forma diferenciada a frequência individual de complicações clínicas.⁴⁰

De acordo com a literatura disponível, as características laboratoriais de indivíduos com anemia falciforme são modificadas pela coexistência de α -Tal. Apesar de algumas divergências, a maioria dos estudos mostra aumento do número de hemácias, dos níveis de Hb total e hematócrito e a diminuição dos níveis de VCM, hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), reticulócitos, contagem de leucócitos e do nível de hemólise. A coexistência de α -Tal parece não interferir nos níveis de Hb F e plaquetas e o real efeito sobre os níveis de bilirrubina e de Hb A₂ permanece controverso. A Tabela 1 resume os efeitos de α -Tal em características laboratoriais da anemia falciforme.

A deformabilidade das hemácias falciformes de indivíduos que possuem a coexistência de α -Tal é maior

do que a dos pacientes sem a α -Tal.^{41,42} Além disso, indivíduos com a coexistência têm reduzido número de células densas e de células falcêmicas irreversíveis. Esses achados sugerem que as hemácias em indivíduos com α -Tal são menos desidratadas, uma vez que tanto as células densas como as células falcêmicas irreversíveis são populações de células conhecidas por serem altamente desidratadas.⁴³⁻⁴⁵ As hemácias falcêmicas densas são mais suscetíveis a danos mecânicos, provavelmente devido à diminuição da estabilidade da membrana.⁴⁶ Como os indivíduos com a coexistência de α -Tal possuem baixo número de células densas, é provável que suas hemácias possuam menos fragilidade mecânica. Isso, provavelmente, deve ser um fator que contribui para a diminuição da hemólise observada nesses indivíduos.⁴⁷⁻⁴⁹

Os efeitos benéficos da α -Tal em propriedades físico-químicas das hemácias de indivíduos com anemia falciforme são contrapostos pelo aumento da viscosidade sanguínea devido aos níveis mais elevados de hematócrito conferido pela presença da α -Tal.^{5,42,50-57} Entretanto, a presença de α -Tal poderia reduzir a adesão das hemácias falciformes ao endotélio *in vivo*.^{58,59} O hematócrito mais elevado e o aumento da viscosidade sanguínea, por outro lado, poderiam aumentar a adesão célula-célula na vasculatura. Contudo, os efeitos da α -Tal na fisiopatologia da anemia falciforme ainda não são bem entendidos e poderiam ser danosos em algumas situações.¹⁷

Devido à variabilidade amostral e inadequação metodológica em vários estudos, há controvérsias sobre os efeitos da α -Tal nas complicações clínicas da anemia falciforme. Alguns estudos não foram capazes de identificar diferenças nas manifestações clínicas entre grupos de indivíduos com anemia falciforme, com e sem a co-herança da α -Tal. De forma oposta, outras análises mostraram diferenças estatisticamente significativas entre esses grupos. A maioria dos estudos ressalta diminuição de eventos como acidente vascular cerebral (AVC) e ulcerações nas pernas, função esplênica mais preservada e, provavelmente, aumento na sobrevida. Por outro lado, haveria mais susceptibilidade a manifestações clínicas como crises de dor, osteonecrose e esplenomegalia. A Tabela 2 resume os efeitos da α -Tal nos eventos clínicos agudos da anemia falciforme, de acordo com estudos disponíveis na literatura. A Tabela 3 resume os efeitos de α -Tal em outros eventos da anemia falciforme.

Tabela 1 - Efeito da α -Tal em características laboratoriais da anemia falciforme*

| Índices Hematológicos | Efeito de α -Tal | Referências |
|----------------------------------|---------------------------|--|
| Número de Hemácias | Aumenta | 6, 48, 54-56, 69-72 |
| Hb total | Aumenta | 5, 6, 45, 48-51, 53-56, 61, 66, 70, 73-76 |
| VCM | Reduz | 6, 48, 50, 51, 54-57, 60, 61, 66, 69-72, 75-80 |
| HCM | Reduz | 6, 54, 56, 57, 66, 70-72, 77, 80, 81 |
| Hematócrito | Aumenta | 5, 42, 50, 51, 53-57, 66 |
| CHCM | Reduz | 6, 78, 82 |
| Hb F | Provavelmente sem relação | Reduz: 6, 83, 84 Sem relação: 48, 51, 53, 54, 56, 66, 69, 70, 72, 73, 79, 81, 85-90 |
| Hb A2 | Controverso | Aumenta: 6, 51, 54-56, 69 Sem relação: 71, 81, 86, 91 |
| Plaqueteometria | Sem influência | 55, 69, 78 |
| Reticulócitos | Reduz | 5, 6, 50, 69, 73, 76 |
| Células falcêmicas irreversíveis | Reduz | 6, 43 |
| Níveis séricos de bilirrubina | Controverso | Aumenta: 6, 49, 92 Sem relação: 93, 94 |
| Leucócitos | Reduz | 50, 55, 56 |
| Células densas | Reduz | 44, 95 |
| Taxas de hemólise | Reduz | 47-50 |

* Os efeitos foram os descritos pelos artigos; possíveis erros metodológicos dos trabalhos não foram levados em consideração.

Tabela 2 - Efeito da α -Tal em eventos clínicos agudos da anemia falciforme

| Manifestações Clínicas | Efeito da α -Tal (Referências) | | |
|--|---|-----------------------------------|-----------------|
| Episódios de dor | Mais susceptibilidade*: 39, 44, 54, 62, 79, 96-98 | Sem relação: 52, 66, 76, 99 | Protetor †: 100 |
| AVC | Protetor: 79, 98, 101-105 | Sem relação: 61, 66, 76, 106, 107 | |
| Doppler alterado | Protetor: 50, 75 | | |
| Síndrome Torácica Aguda | Protetor: 6, 98 | Sem relação: 39, 54, 76, 79, 108 | |
| Sequestro Esplênico Agudo | mais susceptibilidade: 57, 109 | Sem relação: 39, 66, 76, 98 | |
| Anemia aplástica ou episódios hiperhemolíticos | Protetor: 98 | Sem relação: 79 | |
| Priapismo | Protetor: 110 | | |
| Dactalite | Mais susceptibilidade: 39 | | |
| Bacteremia | Protetor: 77 | Sem relação: 98 | |
| Infecções | Sem relação: 54, 76, 79 | | |

Os efeitos foram os descritos pelos artigos; possíveis erros metodológicos dos trabalhos não foram levados em consideração. A heterogeneidade entre as populações de pacientes com anemia falciforme, a idade dos pacientes estudados e o número de pacientes em cada estudo pode tornar controversa a interpretação dos resultados.

* Maior susceptibilidade significa aumento na incidência ou prevalência do evento no fenótipo quando α -Tal está presente.

† Protetor significa diminuição na incidência ou prevalência do evento no fenótipo quando α -Tal está presente.

A TALASSEMIA ALFA ASSOCIADA À ANEMIA FALCIFORME NO BRASIL

No Brasil, poucos estudos estimaram a prevalência de α -Tal em indivíduos com anemia falciforme e menos estudos ainda avaliaram os efeitos advindos da interação da mesma sobre dados clínicos e hematológicos. A seguir, são relatadas as publicações disponíveis na literatura que tratam deste assunto.

Os efeitos de α -Tal na anemia falciforme relatados em estudos internacionais podem ser observados nas Tabelas 1, 2 e 3.

Costa *et al.*⁶⁰ avaliaram 41 pacientes com anemia falciforme para estimar a prevalência da co-herança da α -Tal e avaliar o efeito dessa interação em alguns dados hematológicos. O genótipo $-\alpha/\alpha$ foi encontrado em nove dos 41 pacientes (22%), indicando frequência gênica de 0,126.

Tabela 3 - Efeito da α -Tal em outros eventos clínicos da anemia falciforme

| Manifestações Clínicas | Efeito da α -Tal (Referências) | |
|--|--|------------------------------|
| Sobrevida | Protetor *: 6, 38, 39, 44, 111-114 | Sem relação: 55, 56, 115-118 |
| Osteonecrose | Mais susceptibilidade **: 39, 99, 112, 119 | Sem relação: 61, 124 |
| Retinopatia proliferativa | Protetor ***: 125 | Sem relação: 126, 127 |
| Alterações nos vasos da retina e da conjuntiva | Sem relação: 64, 128 | |
| Colelitíase | Protetor: 77, 92, 129 | Sem relação: 49, 61, 94 |
| Ulcerações nas pernas | Protetor: 6, 101, 130, 131 | Sem relação: 39, 61, 66, 99 |
| Função esplênica | Protetor: 80, 132 | |
| Esplenomegalia | Mais susceptibilidade: 6, 54, 55, 70, 74 | Sem relação: 77, 87 |
| Coração | Protetor: 53 | |
| Menarca | Sem relação: 133 | |
| Crescimento e desenvolvimento | Sem relação: 62, 134 | |
| Hepatomegalia | Sem relação: 132 | |
| Hipertensão pulmonar | Sem relação: 135 | |
| Albuminúria (glomerulopatia) | Protetor: 78 | |
| Glomerulosclerose | Protetor: 101 | |
| Transfusões | Protetor: 54, 98 | Sem relação: 66 |
| Hospitalizações | Protetor: 54 | Sem relação: 66 |

Os efeitos foram os descritos pelos artigos; possíveis erros metodológicos dos trabalhos não foram levados em consideração. A heterogeneidade entre as populações de pacientes com anemia falciforme, a idade dos pacientes estudados e o número de pacientes em cada estudo pode tornar controversa a interpretação dos resultados.

* Efeito protetor com relação à sobrevida significa maior prevalência de α -Tal em indivíduos adultos quando comparados com crianças, ou evolução menos grave dos pacientes com co-herança da α -Tal em relação aos que não a possuem.

** Maior susceptibilidade significa aumento na incidência ou prevalência do evento no fenótipo quando α -Tal está presente.

*** Protetor significa diminuição na incidência ou prevalência do evento no fenótipo quando α -Tal está presente.

O VCM dos pacientes com a interação foi significativamente menor do que nos pacientes sem α -Tal. Não houve diferença nos valores de Hb total, Hb F e Hb A₂.

Figueiredo *et al.*⁶¹ avaliaram os efeitos da α -Tal nas características clínicas e hematológicas de 85 pacientes com anemia falciforme provenientes do Hospital Universitário da UNICAMP e do Hospital Universitário da Escola Paulista de Medicina. O genótipo $-\alpha/\alpha$ estava presente em 17,6% e o genótipo $-\alpha/-\alpha$ em 1,2%, totalizando 18,8% de pacientes com a co-herança de α -Tal. Os indivíduos com a interação apresentaram níveis mais baixos de VCM e mais altos de Hb total ($p < 0,05$). Não houve diferença significativa relacionando os genótipos de α -Tal com os eventos clínicos estudados: AVC, cálculos biliares, necrose asséptica e úlcera nas pernas.

Luporini *et al.*⁶² analisaram 41 crianças com anemia falciforme, pareadas por sexo e idade com crianças saudáveis, para estudar o grau de comprometimento do crescimento e desenvolvimento. Dos pacientes estudados, 10 (24,4%) possuíam apenas três genes alfa ativos ($-\alpha/\alpha$). A maioria dos pacientes com crises álgicas que necessitaram de hospitali-

zação tinha a coexistência de α -Tal (com α -Tal 40%; sem α -Tal 9,7%; $p < 0,05$). Não houve diferença nos níveis de Hb total nos grupos com e sem α -Tal. Houve redução plasmática significativa das concentrações de IGF-I (*insulin-like growth factor I*) e IGFBP-3 (*insulin-like growth binding protein 3*) em pacientes com α -Tal, quando comparados com os sem α -Tal. Esses achados não foram correlacionados com qualquer variável de crescimento (peso, idade óssea e velocidade de crescimento), a não ser a redução do escore z peso em relação à altura, sugerindo que esse grupo teria desnutrição.

Adorno *et al.*⁵⁷ investigaram 80 pacientes com anemia falciforme no estado da Bahia (HEMOBA) e encontraram relação significativa entre presença de α -Tal e baixos níveis de VCM e HCM, alto nível de hematócrito e a maior ocorrência de sequestro esplênico agudo (SEA).

Lyra *et al.*⁶³ acompanharam 31 pacientes de São Paulo e 40 de Salvador, com o objetivo de estudar aspectos hematológicos, clínicos e moleculares de crianças com anemia falciforme dessas duas cidades brasileiras. A prevalência de α -Tal ($-\alpha/\alpha$) foi de

22,5% em São Paulo e de 28,2% em Salvador. Não houve diferença significativa nos grupos com ou sem a coexistência de α -Tal em relação à hospitalização devido a crises vaso-oclusivas ou infecções e à prevalência de AVC ou litíase biliar.

Lima *et al.*⁶⁴ pesquisaram 102 pacientes com doença falciforme acompanhados no Centro de Hematologia e Hemoterapia da Universidade Estadual de Campinas, com o intuito de esclarecer se características clínicas, hematológicas e genéticas da doença falciforme influenciam na ocorrência de alterações nos vasos sanguíneos da retina e conjuntiva. Dos 102 pacientes estudados, quatro não foram genotipados, 23 (23,7%) apresentavam a coexistência de α -Tal e 74 (76,3%) não possuíam deleções nos genes alfa. Não houve diferença na frequência de alterações nos vasos da conjuntiva e da retina nos pacientes com ou sem α -Tal.

Em estudo realizado com 74 crianças com doença falciforme triadas pelo programa de triagem neonatal do estado de Pernambuco e acompanhados no hospital do HEMOPE, o genótipo $-\alpha/\alpha\alpha$ estava presente em 14 (18,9%) delas e o genótipo $-\alpha/-\alpha$ em cinco (6,7%).⁶⁵

Em trabalho realizado na Bahia para identificar os principais fatores moleculares e clínicos associados à anemia falciforme no estado, Adorno *et al.*⁶⁶ avaliaram 125 indivíduos. Dois deles (1,8%) possuíam o genótipo $-\alpha/-\alpha$ e 30 (27,3%) possuíam o genótipo $-\alpha/\alpha\alpha$. Os indivíduos com a coexistência de α -Tal apresentaram reduzidos níveis de VCM e HCM e altos níveis de Hb total e hematócrito quando comparados com os sem α -Tal. Não houve diferença nos níveis de Hb F entre esses grupos.

A deleção causadora de α -Tal em todos os estudos realizados no Brasil foi a do tipo $-\alpha^{3.7}$. A deleção gênica do tipo 3.7 kb tem prevalência elevada na população africana, sendo importante lembrar que este é praticamente o único tipo de α -Tal nessa população.⁶⁷

Em nossa experiência, em estudo realizado no Hemocentro de Belo Horizonte da Fundação HEMOMINAS, foi analisada coorte de 221 crianças triadas pelo PETN-MG, com perfil hemoglobínico FS, nascidas entre janeiro de 1999 e dezembro de 2006. A prevalência de α -Tal do tipo $-\alpha^{3.7}$, em heterozigose ou homozigose, atingiu quase 30% das crianças estudadas. Nas crianças SS, a presença de α -Tal associou-se significativamente à diminuição dos níveis de VCM, HCM, leucócitos e reticulócitos e não influenciou os de Hb total, Hb F e plaquetas. A α -Tal foi fortemente associada à diminuição do risco de doença cérebro-vascular (doppler transcraniano alterado ou AVC clínico).⁶⁸

CONCLUSÃO

A prevalência de α -Tal em indivíduos com anemia falciforme no nosso meio é comum. Algumas manifestações graves, como a doença cérebro-vascular, ocorrem de forma significativamente menos frequente nos pacientes com a coexistência de ambas as alterações gênicas, o que torna desejável a genotipagem para a α -Tal em todos os pacientes com anemia falciforme. Entretanto, apesar da importância da α -Tal na modulação da anemia falciforme, sua simples presença ou ausência não permite prever, isoladamente, as características clínicas da doença. Daí surge a necessidade de estudar outros fatores moduladores que possam ser utilizados em conjunto para definir subfenótipos da doença e, assim, poderem ser utilizados como ferramenta clínica no acompanhamento dos pacientes.

A identificação de determinantes da gravidade do quadro clínico da anemia falciforme pode contribuir para o manejo adequado e diferenciado para cada paciente e, conseqüentemente, para melhorar a qualidade de vida e aumentar a sobrevida dos pacientes acometidos por essa doença.

REFERÊNCIAS

1. Steinberg MH. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. *ScientificWorldJournal*. 2008; 8:1295-324.
2. Reed W, Vichinsky EP. New considerations in the treatment of sickle cell disease. *Annu Rev Med*. 1998; 49:461-74.
3. Steinberg MH. Genetic etiologies for phenotypic diversity in sickle cell anemia. *ScientificWorldJournal*. 2009; 9:46-67.
4. Steinberg MH. Predicting clinical severity in sickle cell anaemia. *Br J Haematol*. 2005 May; 129(4):465-81.
5. Embury SH, Dozy AM, Miller J, *et al.* Concurrent sickle-cell anemia and alpha-thalassemia: effect on severity of anemia. *N Engl J Med*. 1982 Feb; 306(5):270-4.
6. Higgs DR, Aldridge BE, Lamb J, *et al.* The interaction of alpha-thalassemia and homozygous sickle-cell disease. *N Engl J Med*. 1982 Jun; 306(24):1441-6.
7. Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ. A review of the molecular genetics of the human alpha-globin gene cluster. *Blood*. 1989 Apr; 73(5):1081-104.
8. Liebhaber SA, Cash FE, Ballas SK. Human alpha-globin gene expression. The dominant role of the alpha 2-locus in mRNA and protein synthesis. *J Biol Chem*. 1986 Nov; 261(32):15327-33.
9. Cançado RD. Talassemias alfa. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2006; 28(2):86-7.

10. Naoum PC. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier; 1997.
11. Borges E, Wenning MR, Kimura EM, Gervasio SA, Costa FF, Sonati MF. High prevalence of alpha-thalassemia among individuals with microcytosis and hypochromia without anemia. *Braz J Med Biol Res.* 2001 Jun; 34(6):759-62.
12. Bonini-Domingos CR, Mendiburu CF. Talassemia alfa no Brasil. Por que diagnosticar? *Triagem.* 2002; 2:22-34.
13. Sonati MF, Costa FF. Talassemias alfa. In: Lopes AC. Tratado de clínica médica. São Paulo: Roca; 2006. p. 1932-8.
14. Weatherall DJ. Thalassaemia: the long road from bedside to genome. *Nat Rev Genet.* 2004 Aug; 5(8):625-31.
15. Tan AS, Quah TC, Low PS, Chong SS. A rapid and reliable 7-deletion multiplex polymerase chain reaction assay for alpha-thalassemia. *Blood.* 2001 Jul; 98(1):250-1.
16. Higgs DR, Hill AV, Bowden DK, Weatherall DJ, Clegg JB. Independent recombination events between the duplicated human alpha globin genes; implications for their concerted evolution. *Nucleic Acids Res.* 1984 Sep; 12(18):6965-77.
17. Ballas SK. Effect of alpha-globin genotype on the pathophysiology of sickle cell disease. *Pediatr Pathol Mol Med.* 2001 Mar-Apr; 20(2):107-21.
18. Sonati MF, Farah SB, Ramalho AS, Costa FF. High prevalence of alpha-thalassemia in a black population of Brazil. *Hemoglobin.* 1991; 15(4):309-11.
19. Weatherall DJ. Hemoglobinopathies worldwide: present and future. *Curr Mol Med.* 2008 Nov; 8(7):592-9.
20. Rogers ZR, Powars DR, Kinney TR, Williams WD, Schroeder WA. Nonblack patients with sickle cell disease have African beta S gene cluster haplotypes. *JAMA.* 1989 May; 261(20):2991-4.
21. Zago MA, Figueiredo MS, Ogo SH. Bantu beta S cluster haplotype predominates among Brazilian blacks. *Am J Phys Anthropol.* 1992 Jul; 88(3):295-8.
22. Caçado RD, Jesus JA. A doença falciforme no Brasil. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007; 29(3):203-6.
23. Fernandes AP, Januario JN, Cangussu CB, de Macedo DL, Viana MB. Mortality of children with sickle cell disease: a population study. *J Pediatr (Rio J).* 2010 May; 86(4):279-84.
24. Stuart MJ, Nagel RL. Sickle-cell disease. *Lancet.* 2004 Oct; 364(9442):1343-60.
25. Frenette PS, Atweh GF. Sickle cell disease: old discoveries, new concepts, and future promise. *J Clin Invest.* 2007 Apr; 117(4):850-8.
26. Serjeant GR. Sickle cell disease. 2nd ed. New York: Oxford University Press; 1992.
27. Naoum PC. Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2000; 22(1): 05-22.
28. Thein SL, Menzel S. Discovering the genetics underlying foetal haemoglobin production in adults. *Br J Haematol.* 2009 May; 145(4):455-67.
29. Paixao MC, Cunha Ferraz MH, Januario JN, Viana MB, Lima JM. Reliability of isoelectrofocusing for the detection of Hb S, Hb C, and Hb D in a pioneering population-based program of newborn screening in Brazil. *Hemoglobin.* 2001 Aug; 25(3):297-303.
30. Ou CN. Diagnosis of Hemoglobinopathies by High-Performance Liquid Chromatography. *J Biomed Sci.* 1997 Nov-Dec; 4(6):315-8.
31. Chang JC, Kan YW. Antenatal diagnosis of sickle cell anaemia by direct analysis of the sickle mutation. *Lancet.* 1981 Nov; 2(8256): 1127-9.
32. Oehme R, Jonatha WD, Horst J. DNA-diagnosis of sickle cell anemia from chorionic villi: possible influence of maternal cell contamination. *Hum Genet.* 1986 Jun; 73(2):186-7.
33. Zago MA, Pinto ACS. Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2007; 29(3):207-14.
34. de Paiva e Silva RB, Ramalho AS, Cassorla RM. [Sickle cell disease as a public health problem in Brazil]. *Rev Saude Publica.* 1993 Feb; 27(1):54-8.
35. Nagel RL, Steinberg MH. Role of epistatic (modifier) genes in the modulation of the phenotypic diversity of sickle cell anemia. *Pediatr Pathol Mol Med.* 2001 Mar-Apr; 20(2):123-36.
36. Rund D, Fucharoen S. Genetic modifiers in hemoglobinopathies. *Curr Mol Med.* 2008 Nov; 8(7):600-8.
37. Nagel RL. Epistasis and the genetics of human diseases. *C R Biol.* 2005 Jul; 328(7):606-15.
38. el-Hazmi MA. Heterogeneity and variation of clinical and hematological expression of haemoglobin S in Saudi Arabs. *Acta Haematol.* 1992; 88(2-3):67-71.
39. Thomas PW, Higgs DR, Serjeant GR. Benign clinical course in homozygous sickle cell disease: a search for predictors. *J Clin Epidemiol.* 1997 Feb; 50(2):121-6.
40. Nagel RL. Severity, pathobiology, epistatic effects, and genetic markers in sickle cell anemia. *Semin Hematol.* 1991 Jul; 28(3):180-201.
41. Ballas SK, Larner J, Smith ED, Surrey S, Schwartz E, Rappaport EFR. Rheologic predictors of the severity of the painful sickle cell crisis. *Blood.* 1988 Oct; 72(4):1216-23.
42. Serjeant BE, Mason KP, Kenny MW, *et al.* Effect of alpha thalassaemia on the rheology of homozygous sickle cell disease. *Br J Haematol.* 1983 Nov; 55(3):479-86.
43. Embury SH, Clark MR, Monroy G, Mohandas N. Concurrent sickle cell anemia and alpha-thalassemia. Effect on pathological properties of sickle erythrocytes. *J Clin Invest.* 1984 Jan; 73(1):116-23.
44. Fabry ME, Mears JG, Patel P, *et al.* Dense cells in sickle cell anemia: the effects of gene interaction. *Blood.* 1984 Nov; 64(5):1042-6.
45. Noguchi CT, Dover GJ, Rodgers GP, *et al.* Alpha thalassemia changes erythrocyte heterogeneity in sickle cell disease. *J Clin Invest.* 1985 May; 75(5):1632-7.
46. Messmann R, Gannon S, Sarnaik S, Johnson RM. Mechanical properties of sickle cell membranes. *Blood.* 1990 Apr; 75(8):1711-7.
47. de Ceulaer K, Higgs DR, Weatherall DJ, Hayes RJ, Serjeant BE, Serjeant GR. Alpha-thalassemia reduces the hemolytic rate in homozygous sickle-cell disease. *N Engl J Med.* 1983 Jul; 309(3):189-90.
48. Felice AE, McKie KM, Cleek MP, Marino EM, Kutlar A, McKie VC. Effects of alpha-thalassemia-2 on the developmental changes of hematological values in children with sickle cell disease from Georgia. *Am J Hematol.* 1987 Aug; 25(4):389-400.

49. Chaar V, Keclard L, Etienne-Julan M, Diara JP, Elion J, Krishnamoorthy R, *et al.* UGT1A1 polymorphism outweighs the modest effect of deletional (-3.7 kb) alpha-thalassemia on cholelithogenesis in sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 2006 May; 81(5):377-9.
50. Bernaudin F, Verlhac S, Chevret S, *et al.* G6PD deficiency, absence of alpha-thalassemia, and hemolytic rate at baseline are significant independent risk factors for abnormally high cerebral velocities in patients with sickle cell anemia. *Blood.* 2008 Nov; 112(10):4314-7.
51. Schroeder WA, Powars DR, Kay LM, *et al.* Beta-cluster haplotypes, alpha-gene status, and hematological data from SS, SC, and S-beta-thalassemia patients in southern California. *Hemoglobin.* 1989; 13(4):325-53.
52. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, *et al.* Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *N Engl J Med.* 1991 Jul; 325(1):11-6.
53. Braden DS, Covitz W, Milner PF. Cardiovascular function during rest and exercise in patients with sickle-cell anemia and coexisting alpha thalassemia-2. *Am J Hematol.* 1996 Jun; 52(2):96-102.
54. Mukherjee MB, Surve R, Tamankar A, *et al.* The influence of alpha-thalassaemia on the haematological & clinical expression of sickle cell disease in western India. *Indian J Med Res.* 1998 Apr; 107:178-81.
55. Mouele R, Boukila V, Fourcade V, Feingold J, Galacteros F. Sickle-cell disease in Brazzaville, Congo: genetical, hematological, biochemical and clinical aspects. *Acta Haematol.* 1999; 101(4):178-84.
56. Mouele R, Pambou O, Feingold J, Galacteros F. Alpha-thalassemia in Bantu population from Congo-Brazzaville: its interaction with sickle cell anemia. *Hum Hered.* 2000 Mar-Apr; 50(2):118-25.
57. Adorno EV, Zanette A, Lyra I, *et al.* The beta-globin gene cluster haplotypes in sickle cell anemia patients from Northeast Brazil: a clinical and molecular view. *Hemoglobin.* 2004 Aug; 28(3):267-71.
58. Joneckis CC, Ackley RL, Orringer EP, Wayner EA, Parise LV. Integrin alpha 4 beta 1 and glycoprotein IV (CD36) are expressed on circulating reticulocytes in sickle cell anemia. *Blood.* 1993 Dec; 82(12):3548-55.
59. Swerlick RA, Eckman JR, Kumar A, Jeitler M, Wick TM. Alpha 4 beta 1-integrin expression on sickle reticulocytes: vascular cell adhesion molecule-1-dependent binding to endothelium. *Blood.* 1993 Sep; 82(6):1891-9.
60. Costa FF, Tavella MH, Zago MA. Deletion type alpha-thalassemia among Brazilian patients with sickle cell anemia. *Brazil J Genetics.* 1989; 12(3):605-11.
61. Figueiredo MS, Kerbaux J, Goncalves MS, *et al.* Effect of alpha-thalassemia and beta-globin gene cluster haplotypes on the hematological and clinical features of sickle-cell anemia in Brazil. *Am J Hematol.* 1996 Oct; 53(2):72-6.
62. Luporini SM, Bendit I, Manhani R, Bracco OL, Manzella L, Giannella Neto D. Growth hormone and insulin-like growth factor I axis and growth of children with different sickle cell anemia haplotypes. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2001 Aug-Sep; 23(6):357-63.
63. Lyra IM, Goncalves MS, Braga JA, *et al.* Clinical, hematological, and molecular characterization of sickle cell anemia pediatric patients from two different cities in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2005 Jul-Aug; 21(4):1287-90.
64. Lima CS, Rocha EM, Silva NM, Sonatti MF, Costa FF, Saad ST. Risk factors for conjunctival and retinal vessel alterations in sickle cell disease. *Acta Ophthalmol Scand.* 2006 Apr; 84(2):234-41.
65. Bezerra MA, Santos MN, Araujo AS, Gomes YM, Abath FG, Bandeira FM. Molecular variations linked to the grouping of beta- and alpha-globin genes in neonatal patients with sickle cell disease in the State of Pernambuco, Brazil. *Hemoglobin.* 2007; 31(1):83-8.
66. Adorno EV, Zanette A, Lyra I, Seixas MO, Reis MG, Gonçalves MS. Clinical and molecular characteristics of sickle cell anemia in the northeast of Brazil. *Genet Mol Biol.* 2008; 31(3):621-5.
67. Steinberg MH, Embury SH. Alpha-thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. *Blood.* 1986 Nov; 68(5):985-90.
68. Belisario AR, Rodrigues CV, Martins ML, Silva CM, Viana MB. Coinheritance of alpha thalassemia decreases the risk of cerebrovascular disease in a cohort of children with sickle cell anemia. *Hemoglobin [in press].*
69. Stevens MC, Maude GH, Beckford M, *et al.* Alpha thalassemia and the hematology of homozygous sickle cell disease in childhood. *Blood.* 1986 Feb; 67(2):411-4.
70. Mukherjee MB, Lu CY, Ducrocq R, *et al.* Effect of alpha-thalassemia on sickle-cell anemia linked to the Arab-Indian haplotype in India. *Am J Hematol.* 1997 Jun; 55(2):104-9.
71. el-Hazmi MA, Warsy AS. Alpha thalassaemia in Yemeni children with sickle cell disease. *J Trop Pediatr.* 1999 Dec; 45(6):370-4.
72. Quadri MI, Islam SI, Nasserullah Z. The effect of alpha-thalassemia on cord blood red cell indices and interaction with sickle cell gene. *Ann Saudi Med.* 2000 Sep/Nov; 20(5-6):367-70.
73. Steinberg MH, Hsu H, Nagel RL, *et al.* Gender and haplotype effects upon hematological manifestations of adult sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 1995 Mar; 48(3):175-81.
74. Serjeant G, Serjeant B, Stephens A, *et al.* Determinants of haemoglobin level in steady-state homozygous sickle cell disease. *Br J Haematol.* 1996 Jan; 92(1):143-9.
75. Hsu LL, Miller ST, Wright E, Kutlar A, *et al.* Alpha Thalassemia is associated with decreased risk of abnormal transcranial Doppler ultrasonography in children with sickle cell anemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2003 Aug; 25(8):622-8.
76. Tarer V, Etienne-Julan M, Diara JP, *et al.* Sickle cell anemia in Guadeloupean children: pattern and prevalence of acute clinical events. *Eur J Haematol.* 2006 Mar; 76(3):193-9.
77. Adekile AD, Haider MZ. Morbidity, beta S haplotype and alpha-globin gene patterns among sickle cell anemia patients in Kuwait. *Acta Haematol.* 1996; 96(3):150-4.
78. Guasch A, Zayas CF, Eckman JR, Muralidharan K, Zhang W, Elsas LJ. Evidence that microdeletions in the alpha globin gene protect against the development of sickle cell glomerulopathy in humans. *J Am Soc Nephrol.* 1999 May; 10(5):1014-9.
79. Neonato MG, Guilloud-Bataille M, Beauvais P, *et al.* Acute clinical events in 299 homozygous sickle cell patients living in France. French Study Group on Sickle Cell Disease. *Eur J Haematol.* 2000 Sep; 65(3):155-64.

80. Wali YA, Al-Lamki Z, Hussein SS, *et al.* Splenic function in Omani children with sickle cell disease: correlation with severity index, hemoglobin phenotype, iron status, and alpha-thalassemia trait. *Pediatr Hematol Oncol.* 2002 Oct/Nov; 19(7):491-500.
81. Rahimi Z, Merat A, Gerard N, Krishnamoorthy R, Nagel RL. Implications of the genetic epidemiology of globin haplotypes linked to the sickle cell gene in southern Iran. *Hum Biol.* 2006 Dec; 78(6):719-31.
82. Milner PF, Garbutt GJ, Nolan-Davis LV, Jonah F, Wilson LB, Wilson JT. The effect of Hb F and alpha-thalassemia on the red cell indices in sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 1986 Apr; 21(4):383-95.
83. Gupta RB, Tiwary RS, Pande PL, *et al.* Hemoglobinopathies among the Gond tribal groups of central India; interaction of alpha- and beta-thalassemia with beta chain variants. *Hemoglobin.* 1991; 15(5):441-58.
84. Chang YC, Smith KD, Moore RD, Serjeant GR, Dover GJ. An analysis of fetal hemoglobin variation in sickle cell disease: the relative contributions of the X-linked factor, beta-globin haplotypes, alpha-globin gene number, gender, and age. *Blood.* 1995 Feb 15; 85(4):1111-7.
85. Aluoch JR, Kilinc Y, Aksoy M, *et al.* Sickle cell anaemia among Eti-Turks: haematological, clinical and genetic observations. *Br J Haematol.* 1986 Sep; 64(1):45-55.
86. Ojwang PJ, Ogada T, Beris P, *et al.* Haplotypes and alpha globin gene analyses in sickle cell anaemia patients from Kenya. *Br J Haematol.* 1987 Feb; 65(2):211-5.
87. Adekile AD, Huisman TH. Level of fetal hemoglobin in children with sickle cell anemia: influence of gender, haplotype and alpha-thalassemia-2 trait. *Acta Haematol.* 1993; 90(1):34-8.
88. Green NS, Fabry ME, Kaptue-Noche L, Nagel RL. Senegal haplotype is associated with higher Hb F than Benin and Cameroon haplotypes in African children with sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 1993 Oct; 44(2):145-6.
89. Chang YP, Maier-Redelsperger M, Smith KD, *et al.* The relative importance of the X-linked FCP locus and beta-globin haplotypes in determining haemoglobin F levels: a study of SS patients homozygous for beta S haplotypes. *Br J Haematol.* 1997 Mar; 96(4):806-14.
90. el-Hazmi MA, Warsy AS. Pattern for alpha-thalassaemia in Yemeni sickle-cell-disease patients. *East Mediterr Health J.* 1999 Nov; 5(6):1159-64.
91. Falusi AG, Esan GJ, Ayyub H, Higgs DR. Alpha-thalassaemia in Nigeria: its interaction with sickle-cell disease. *Eur J Haematol.* 1987 Apr; 38(4):370-5.
92. Vasavda N, Menzel S, Kondaveeti S, *et al.* The linear effects of alpha-thalassaemia, the UGT1A1 and HMOX1 polymorphisms on cholelithiasis in sickle cell disease. *Br J Haematol.* 2007 Jul; 138(2):263-70.
93. Adekile A, Kutlar F, McKie K, *et al.* The influence of uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A promoter polymorphisms, beta-globin gene haplotype, co-inherited alpha-thalassemia trait and Hb F on steady-state serum bilirubin levels in sickle cell anemia. *Eur J Haematol.* 2005 Aug; 75(2):150-5.
94. Martins R, Morais A, Dias A, *et al.* Early modification of sickle cell disease clinical course by UDP-glucuronosyltransferase 1A1 gene promoter polymorphism. *J Hum Genet.* 2008; 53(6):524-8.
95. Billett HH, Kim K, Fabry ME, Nagel RL. The percentage of dense red cells does not predict incidence of sickle cell painful crisis. *Blood.* 1986 Jul; 68(1):301-3.
96. Bailey S, Higgs DR, Morris J, Serjeant GR. Is the painful crisis of sickle-cell disease due to sickling? *Lancet.* 1991 Mar 23; 337(8743):735.
97. Billett HH, Nagel RL, Fabry ME. Paradoxical increase of painful crises in sickle cell patients with alpha-thalassemia. *Blood.* 1995 Dec 1; 86(11):4382.
98. Gill FM, Sleeper LA, Weiner SJ, *et al.* Clinical events in the first decade in a cohort of infants with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood.* 1995 Jul 15; 86(2):776-83.
99. Steinberg MH, Rosenstock W, Coleman MB, *et al.* Effects of thalassemia and microcytosis on the hematologic and vasoocclusive severity of sickle cell anemia. *Blood.* 1984 Jun; 63(6):1353-60.
100. Mukherjee MB, Colah RB, Ghosh K, Mohanty D, Krishnamoorthy R. Milder clinical course of sickle cell disease in patients with alpha thalassemia in the Indian subcontinent. *Blood.* 1997 Jan 15; 89(2):732.
101. Powars DR. Sickle cell anemia: beta S-gene-cluster haplotypes as prognostic indicators of vital organ failure. *Semin Hematol.* 1991 Jul; 28(3):202-8.
102. Adams RJ, Kutlar A, McKie V, *et al.* Alpha thalassemia and stroke risk in sickle cell anemia. *Am J Hematol.* 1994 Apr; 45(4):279-82.
103. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, *et al.* Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood.* 1998 Jan 1; 91(1):288-94.
104. Sarnaik SA, Ballas SK. Molecular characteristics of pediatric patients with sickle cell anemia and stroke. *Am J Hematol.* 2001 Jul; 67(3):179-82.
105. Sebastiani P, Ramoni MF, Nolan V, Baldwin CT, Steinberg MH. Genetic dissection and prognostic modeling of overt stroke in sickle cell anemia. *Nat Genet.* 2005 Apr; 37(4):435-40.
106. Miller ST, Rieder RF, Rao SP, Brown AK. Cerebrovascular accidents in children with sickle-cell disease and alpha-thalassemia. *J Pediatr.* 1988 Nov; 113(5):847-9.
107. Balkaran B, Char G, Morris JS, Thomas PW, Serjeant BE, Serjeant GR. Stroke in a cohort of patients with homozygous sickle cell disease. *J Pediatr.* 1992 Mar; 120(3):360-6.
108. Castro O, Brambilla DJ, Thorington B, *et al.* The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood.* 1994 Jul 15; 84(2):643-9.
109. De Ceulaer K, Serjeant GR. Acute splenic sequestration in Jamaican adults with homozygous sickle cell disease: a role of alpha thalassaemia. *Br J Haematol.* 1991 Apr; 77(4):563-4.
110. Nolan VG, Baldwin C, Ma Q, *et al.* Association of single nucleotide polymorphisms in klotho with priapism in sickle cell anaemia. *Br J Haematol.* 2005 Jan; 128(2):266-72.

111. Mears JG, Lachman HM, Labie D, Nagel RL. Alpha-thalassemia is related to prolonged survival in sickle cell anemia. *Blood*. 1983 Aug; 62(2):286-90.
112. Powars D, Chan LS, Schroeder WA. The variable expression of sickle cell disease is genetically determined. *Semin Hematol*. 1990 Oct; 27(4):360-76.
113. Martinez G, Muniz A, Svarch E, Espinosa E, Nagel RL. Age dependence of the gene frequency of alpha-thalassemia in sickle cell anemia in Cuba. *Blood*. 1996 Sep 1; 88(5):1898-9.
114. Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, *et al*. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease. *N Engl J Med*. 2000 Jan 13; 342(2):83-9.
115. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, *et al*. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med*. 1994 Jun 9; 330(23):1639-44.
116. Keclard L, Ollendorf V, Berchel C, Loret H, Merault G. Beta S haplotypes, alpha-globin gene status, and hematological data of sickle cell disease patients in Guadeloupe (FWI.). *Hemoglobin*. 1996 Feb; 20(1):63-74.
117. Keclard L, Romana M, Lavocat E, Saint-Martin C, Berchel C, Merault G. Sickle cell disorder, beta-globin gene cluster haplotypes and alpha-thalassemia in neonates and adults from Guadeloupe. *Am J Hematol*. 1997 May; 55(1):24-7.
118. Arends A, Alvarez M, Velazquez D, *et al*. Determination of beta-globin gene cluster haplotypes and prevalence of alpha-thalassemia in sickle cell anemia patients in Venezuela. *Am J Hematol*. 2000 Jun; 64(2):87-90.
119. Ballas SK, Talacki CA, Rao VM, Steiner RM. The prevalence of avascular necrosis in sickle cell anemia: correlation with alpha-thalassemia. *Hemoglobin*. 1989; 13(7-8):649-55.
120. Milner PF, Kraus AP, Sebes JI, *et al*. Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head. *N Engl J Med*. 1991 Nov 21; 325(21):1476-81.
121. Powars DR. Beta S-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1991 Jun; 5(3):475-93.
122. Milner PF, Kraus AP, Sebes JI, *et al*. Osteonecrosis of the humeral head in sickle cell disease. *Clin Orthop Relat Res*. 1993 Apr; 289:136-43.
123. Kutlar A, Kutlar F, Turker I, Tural C. The methylene tetrahydrofolate reductase (C677T) mutation as a potential risk factor for avascular necrosis in sickle cell disease. *Hemoglobin*. 2001 May; 25(2):213-7.
124. Adekile AD, Gupta R, Yacoub F, Sinan T, Al-Bloushi M, Haider MZ. Avascular necrosis of the hip in children with sickle cell disease and high Hb F: magnetic resonance imaging findings and influence of alpha-thalassemia trait. *Acta Haematol*. 2001; 105(1):27-31.
125. Condon PI, Marsh RJ, Maude GH, Higgs DR, Weatherall DJ, Serjeant GR. Alpha thalassaemia and the macular vasculature in homozygous sickle cell disease. *Br J Ophthalmol*. 1983 Nov; 67(11):779-81.
126. Fox PD, Dunn DT, Morris JS, Serjeant GR. Risk factors for proliferative sickle retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 1990 Mar; 74(3):172-6.
127. Fox PD, Higgs DR, Serjeant GR. Influence of alpha thalassaemia on the retinopathy of homozygous sickle cell disease. *Br J Ophthalmol*. 1993 Feb; 77(2):89-90.
128. Roy MS, Rodgers GP, Podgor MJ, Noguchi CT, Nienhuis AW, Schechter AN. Conjunctival sign in sickle cell anaemia: an in-vivo correlate of the extent of red cell heterogeneity. *Br J Ophthalmol*. 1985 Aug; 69(8):629-32.
129. Haider MZ, Ashebu S, Aduh P, Adekile AD. Influence of alpha-thalassemia on cholelithiasis in SS patients with elevated Hb F. *Acta Haematol*. 1998 Dec; 100(3):147-50.
130. Embury SH. The interaction of alpha-thalassemia with sickle cell anemia. *Hemoglobin*. 1988; 12(5-6):509-17.
131. Koshy M, Entsuaeh R, Koranda A, *et al*. Leg ulcers in patients with sickle cell disease. *Blood*. 1989 Sep; 74(4):1403-8.
132. Adekile AD, Tuli M, Haider MZ, Al-Zaabi K, Mohannadi S, Owunwanne A. Influence of alpha-thalassemia trait on spleen function in sickle cell anemia patients with high Hb F. *Am J Hematol*. 1996 Sep; 53(1):1-5.
133. Serjeant GR, Singhal A, Hambleton IR. Sickle cell disease and age at menarche in Jamaican girls: observations from a cohort study. *Arch Dis Child*. 2001 Nov; 85(5):375-8.
134. Singhal A, Morris J, Thomas P, Dover G, Higgs D, Serjeant G. Factors affecting prepubertal growth in homozygous sickle cell disease. *Arch Dis Child*. 1996 Jun; 74(6):502-6.
135. Taylor JG, Ackah D, Cobb C, *et al*. Mutations and polymorphisms in hemoglobin genes and the risk of pulmonary hypertension and death in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2008 Jan; 83(1):6-14.