

UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
CAMPINAS

BC/7668
IB/80774

MESTRADO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

1986

U

Exemplar da tese defendida em 17/12/86

CM000 - 4589

17/12/86

CARMEN SÍLVIA BERTUZZO MARTINS

17/12

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pela candidata Carmen Sílvia Bertuzzo Martins e aprovada pela Comissão Julgadora.

Antônio Sérgio Ramalho

17/12/86

190

TRAÇO FALCIFORME E TUBERCULOSE PULMONAR

Orientador: Prof.Dr. Antônio Sérgio Ramalho

Departamento de Genética Médica da

Universidade Estadual de Campinas

CAMPINAS-1986

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Classif.	X
Autor	M 3/6 J
V.	Ex.
Tombo BC/	7668-J0
	307

1B/80774

Bc/7668

Aos meus pais, esposo e irmãos

AGRADECIMENTOS

- Prof.Dr. Antonio Sérgio Ramalho, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.
- Prof.Dr. Bernardo Beiguelman, Pró-Reitor da pós-graduação da Universidade Estadual de Campinas.
- Profa.Dra. Christine Hackel, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.
- Prof.Dr. Cláudio Luís Messias, Departamento de Genética e Evolução da Unicamp.
- Prof.Dr. Rolf Dieter Illg, Departamento de Genética e Evolução da Unicamp.
- Prof.Dr. Luís Alberto Magna, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.
- Profa.Dra. Solange Bento Farah, Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.
- Prof.Dr. Walter Pinto Jr., Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp.
- Dr. José Antonio Padovan, Diretor Clínico dos Sanatórios São Paulo, Santa Cruz e N.ª das Mercês - Campos de Jordão.
- Dr. Sílvio da Costa Rios, Diretor Clínico dos Sanatórios 3 de Outubro, Paulista contra Tuberculose, Populares S2 e S3 - Campos de Jordão.
- Dr. Pedro Além, médico do Sanatório Popular S2 - Campos de Jordão.
- Dr. Fernando Fiuza, Diretor Clínico do Parque Hospitalar do Mandaqui, São Paulo.

-Dr. Gastão J.Chiosi, Diretor Clínico do Hospital "Nestor Goulart Reis"- Araraquara.

-ao pessoal do laboratório de análises do Hospital "Nestor Goulart Reis", na pessoa da bióloga responsável Dra Valquir Ascensão Ramos Barbieri.

-aos funcionários do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, com especial atenção a Inara Ignachitti de Sena e Sônia Aparecida Alípio dos Santos.

-aos meus colegas pós-graduandos.

que muito cooperaram para a realização desse trabalho.

INDICE

A- INTRODUÇÃO	pag.
A ₁ - A hemoglobina S	06
A ₂ - Traço Falciforme e Tuberculose Pulmonar.....	12
B- OBJETIVO.....	17
C- CASUÍSTICA e MÉTODOS.....	18
D- RESULTADOS.....	24
E- DISCUSSÃO.....	31
F- RESUMO e CONCLUSÕES.....	35
G- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
H- APÊNDICE.....	41

I-INTRODUÇÃO

I.1-A hemoglobina S

A hemoglobina S difere da hemoglobina normal A ($HbA = \alpha_2\beta_2$) apenas pelo resíduo aminoácido da posição número seis das cadeias β , que apresenta a valina em lugar do ácido glutâmico (INGRAM, 1957). Essa simples substituição de um aminoácido altera drasticamente as propriedades da hemoglobina S, conferindo-lhe uma migração eletroforética mais lenta em pH alcalino, menor solubilidade e, sobretudo, a capacidade de as suas moléculas, quando desoxigenadas, agregarem-se, formando cristalóides (fibras de hemoglobina S) que fazem com que a hemácia assuma a forma que lembra uma foice. Esse fenômeno da falcização ou falciformação das hemácias é a base de toda a fisiopatogenia da hemoglobinopatia S (SERJEANT, 1974).

Do exposto, é fácil deduzir que a mutação que deu origem à hemoglobina S alterou o códon GAG, que codifica o ácido glutâmico da posição β^6 , para GTG, que codifica a valina, originando uma hemoglobinopatia hereditária do tipo estrutural. Essa pequena alteração da sequência nucleotídica do gene da globina β , localizado no braço menor do cromossomo 11, também suprimiu os sítios de clivagem do DNA por algumas enzimas de restrição, permitindo o reconhecimento do gene β^S pela técnica do DNA recombinante (SOUTHERN, 1975). Isso tem sido atualmente de grande utilidade no diagnóstico pré-natal da hemoglobina S, tratando-se o DNA genômico obtido a partir de células nucleadas do embrião pelas enzimas de restrição DdeI ou MstII (GEEVER et al, 1981; CHANG e KAN, 1982).

A falcização das hemácias é desencadeada, *in vivo*, por hipóxia, ou por processos que resultem em hipóxia, como estase sangüínea, acidose,

desidratação e infecções. Trata-se de um fenômeno reversível, mas, após sucessivas deformações, a célula permanece irreversivelmente falcizada (SERJEANT, 1974).

As hemácias dos homozigotos do gene β^S apresentam, em decorrência do seu grande conteúdo de hemoglobina S, um alto potencial de falcização, manifestando esses homozigotos uma doença conhecida por anemia falciforme. Trata-se de uma anemia hemolítica crônica, fica em sinais e sintomas decorrentes de hemólise, de obstrução de vasos sanguíneos e de acúmulo de hemácias falcizadas em órgãos.

A hemólise constante, de moderada intensidade, é devida à destruição das hemácias falciformes no sistema retículo-endotelial do baço e de outros órgãos. A acentuada rigidez dessas células também favorece a sua destruição no sistema microcapilar. Nessas períodos de hemólise crônica, os pacientes são oligo-sintomáticos, apresentando níveis de hemoglobina em torno de 8 g/dl (período estável). No entanto, devido a um súbito aumento de produção e de destruição de hemácias falciformes, ocorrem períodos de agravamento da doença, traduzidos por crises hemolíticas agudas, nas quais os níveis de hemácias caem para cerca de um a dois milhões por mm^3 de sangue, aparecendo icterícia do tipo hemolítico, febre e vômitos biliares.

Como consequência da hemólise contínua, existe uma hipertrofia e hiperplasia compensatória do sistema hematopoiético, fazendo com que a medula óssea se torne hipercelular, permanecendo ativa nos ossos longos, nas costelas e, por vezes, nos pequenos ossos das mãos e dos pés. Essa hiper-atividade da medula pode levá-la à exaustão temporária, resultando numa crise aplástica.

No crânio ocorre um alongamento da díploe, com afastamento da tá-

bua externa e osteoporose granular, mais evidente na região parietal, mostrando mais raramente o aspecto radiológico característico de "pelos eriçados" (COCKSHOT, 1963; DIGGS, 1967; JOHNSON et al, 1967). As vértebras podem mostrar-se achatadas ou com perfil acentuadamente biconcavo, lembrando vértebras de peixe, apresentando, ainda, osteoporose e trabeculado vertical. Já nos ossos longos, a expansão da medula óssea determina alargamento da cavidade medular, com afinamento da camada cortical (DIGGS et al, 1937; REYNOLDS, 1966; JOHNSON et al, 1967).

Outras conseqüências importantes da alteração da forma e da rigidez das hemácias falcizadas são as oclusões microvasculares, responsáveis por vários sinais e sintomas da anemia falciforme. Esses fenômenos vaso-oclusivos parecem estar relacionados com a grande tendência das células falciformes a aderir ao endotélio vascular, o que, talvez, seja determinado por alterações de membrana ligadas ao cálcio (HEBBEL et al, 1980).

A obstrução de vasos sanguíneos desencadeia um processo trombótico, com isquemia de tecidos, episódios dolorosos e, ocasionalmente, necrose.

Assim, além das alterações ósseas decorrentes da hipertrofia e hiperplasia medular, também existem aquelas que são determinadas por oclusões vasculares. Dentre essas manifestações são particularmente freqüentes os infartos recorrentes da medula óssea e das regiões justo-articulares, provocando crises extremamente dolorosas (CHARACHE e PAGE, 1967; DIGGS, 1967), a necrose asséptica uni ou bilateral da cabeça do fêmur ou do úmero (BAUMGARD e LEACH, 1970), as áreas de rarefação óssea e, posteriormente, de osteosclerose nos ossos longos, a dactilite infantil ou "síndrome das mãos e/ou pés" e a osteoporose.

As crises dolorosas também ocorrem freqüentemente no abdome, podendo atingir intensidade suficiente para exigir medicação com opiáceos.

Como em toda anemia, o sistema cárdio-vascular do homozigoto SS também sofre adaptação secundária à deficiência de hemoglobina. Assim, surgem os mecanismos compensatórios, como o aumento da freqüência cardíaca nos casos agudos, ou a dilatação e a hipertrofia miocárdica nos casos crônicos.

Acredita-se que as alterações pulmonares da anemia falciforme também sejam devidas à falcização das hemácias na circulação pulmonar, em decorrência do baixo teor de oxigênio presente nas arteríolas desse órgão. Sendo assim, haveria uma diminuição, tanto na capacidade pulmonar total, quanto na capacidade vital simples e forçada, bem como do volume residual em relação à capacidade total dos pulmões (MILLER e SERJEANT, 1971). As oclusões vasculares, dependendo da intensidade, poderão provocar hipertensão pulmonar (LEIGHT et al, 1954), apesar de esse fenômeno poder ser retardado, seja pela recanalização dos vasos trombosados, seja pela produção de anastomoses (SPROULE et al, 1958). O pulmão do indivíduo com anemia falciforme é propício, portanto, à embolia pulmonar, bem como à pneumonia (BARRET-CONNOR, 1971).

As úlceras dos membros inferiores ocorrem na doença siclêmica em cerca de 75% dos adultos (DIGGS e CHING, 1934) e em cerca de 60% dos pacientes com idades entre 10 e 25 anos (GUÉRI e SERJEANT, 1970). Elas se localizam, geralmente, nos dois terços inferiores das pernas, de modo isolado ou como lesões múltiplas, uni ou bilateralmente, e são de difícil tratamento (GUÉRI e SERJEANT, 1970).

Outro fenômeno dramático que pode ocorrer na anemia falciforme é

o súbito acúmulo de hemácias falciformes em certos órgãos, sobretudo no baço e fígado, contribuindo para o seu aumento de volume. Essa crise de sequestramento pode em poucas horas levar o paciente à morte, em consequência de anemia aguda e choque. As hemácias falciformes acham-se sequestradas nos sinusóides esplênicos, em contraste com a isquemia generalizada. Fatores neurológicos reflexos também contribuem para a distribuição desfavorável do sangue no organismo.

Os heterozigotos do gene β^s (heterozigotos AS) são normalmente assintomáticos. Tais indivíduos, que manifestam o traço falciforme, apresentam uma proporção de hemoglobina S que varia de 22% a 45% da hemoglobina total (NEEL et al, 1951; WELLS e ITANO, 1951), variação essa que depende de fatores modificadores, com base genética ou não (NEEL et al, 1951).

Excepcionalmente, os heterozigotos AS manifestam alterações clínicas na presença de alguns fatores predisponentes da falcização, como a anestesia geral (MOTULSKY e STAMATOYANNOPOULOS, 1968; SCURR e FELDMAN, 1972), mudança brusca de altitude, vôo em avião não pressurizado, esforço físico excessivo, insuficiência respiratória, infecção grave, acidose, desidratação, etc (SERJEANT, 1974; RAMALHO, 1986). Podem ocorrer também manifestações mais insidiosas, de evolução crônica, que geralmente não se mostram associadas a fatores precipitantes detectáveis, como alterações renais, ósteo-articulares, cardíacas, dermatológicas e neurológicas. É bastante plausível supor que essas alterações sejam favorecidas por certos fatores do ambiente, como desnutrição, desidratação e infecções, sobretudo aquelas acompanhadas de insuficiência respiratória e acidose. Essas alterações clínicas podem afetar a saúde do paciente sem comprometer seriamente a sua sobrevivida

(RAMALHO, 1979).

A hemoglobina S é mais frequente em populações negróides. Assim, índices falcêmicos de até 40% foram observados em tribos da Uganda, na Tanzânia e em Moçambique (SERJEANT, 1974). Entre negróides brasileiros, foram registrados valores entre cerca de 6% até mais de 10%, valores esses que não diferem dos encontrados na população negróide norte-americana, da Colômbia, da Venezuela, do México, de Cuba e de outros países americanos (SALZANO et al., 1968; CÉZAR et al., 1974; SERJEANT, 1974; RAMALHO, 1979).

A frequência do traço falciforme pode ser estimada em 6,6% nas populações negróides do Sul e Sudeste Brasileiros, o que permite, por sua vez, estimar a frequência de nascimento de homozigotos SS em, aproximadamente, 0,1% nessas populações (RAMALHO, 1986). Essa incidência e a gravidade da doença, para a qual ainda se dispõe de terapêutica meramente paliativa, tornam a anemia falciforme um importante problema de Saúde Pública nas populações brasileiras. É interessante comentar, aliás, que a anemia falciforme é a doença genética de maior prevalência no Brasil (RAMALHO, 1986).

1.2- TRACO FALCIFORME E TUBERCULOSE PULMONAR

As condições em que o sangue venoso da artéria pulmonar penetra nos pulmões para realizar a hematose são favoráveis à falciformação dos eritrócitos de indivíduos SS, em virtude da baixa pressão de oxigênio, inferior a 45 mm de Hg (ALLISON, 1956; MOSE e SHEA, 1957). No

caso dos indivíduos AS, a pressão de oxigênio teria que ser inferior a 15 mm de Hg em pH fisiológico para a ocorrência desse fenômeno (ALLISON, 1956). No entanto, como antes da oxigenação o pH venoso também é mais baixo, isso facilita a falciformação das hemácias nas arteríolas pulmonares, principalmente quando existe um fator bacteriano coadjuvante. Em decorrência desses fatos, RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) consideraram três possibilidades que poderiam decorrer da interação do traço falciforme com a tuberculose pulmonar :

A primeira possibilidade seria a de que a prevalência de portadores do traço falciforme poderia ser menor entre os pacientes negróides com tuberculose pulmonar do que na população geral. Isso porque a trombose que pode ocorrer nos capilares pulmonares de pacientes com genótipo AS teria um efeito protetor contra a tuberculose pulmonar, pois evitaria a disseminação hematogênica dos bacilos e a erosão dos grandes vasos, a qual provoca hemoptise (ROBBINS, 1969). Além disso, a multiplicação do bacilo nas áreas pulmonares infartadas seria dificultada pois, como é sabido, o *Mycobacterium tuberculosis* é um bacilo tipicamente aeróbico.

A segunda possibilidade, já anteriormente apontada por WEISS e STECHER (1952), seria exatamente oposta à primeira, admitindo que a trombose pulmonar não seria um fenômeno usual entre os indivíduos AS. De acordo com essa hipótese, a falciformação também ocorreria nos indivíduos AS, mas apenas provocaria uma diminuição de fluxo em seus capilares. Isso porque as células falcizadas, dada a sua forma, retardariam a circulação nos capilares antes de readquirirem a morfologia normal, o que provocaria menor consumo de oxigênio alveolar por unidade de tempo. Dessa maneira, haveria maior tensão parcial de oxigênio

no alvéolo, o que favoreceria a multiplicação do bacilo da tuberculose. Nesse caso, o traço falciforme favoreceria a tuberculose pulmonar.

A terceira possibilidade sugerida por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977), embora não negue a existência de eventuais efeitos clínicos significativos resultantes da interação do traço falciforme com a tuberculose pulmonar, considera que tais efeitos não teriam a capacidade de afetar a frequência de indivíduos AS entre esses pacientes.

A associação entre o traço falciforme e a tuberculose pulmonar foi investigada pela primeira vez em 1952 por WEISS e STECHEER, que encontraram a frequência de 12,6% de portadores desse traço hemoglobínico entre 150 pacientes negróides portadores de tuberculose pulmonar, frequência essa bem maior que a observada na amostra controle, na qual a frequência foi de apenas 5,3%. Esses pesquisadores também chamaram a atenção para o fato de a frequência de tuberculose do tipo exsudativo ser bem maior entre pacientes com hemoglobina S que naqueles sem essa hemoglobinopatia, ou seja, 74% contra 38%, respectivamente. Posteriormente, ROSENBLUM et al. (1955) e RYAN et al. (1960), investigando essa mesma associação, não encontraram, entre pacientes com tuberculose pulmonar, uma frequência de portadores do traço falciforme maior que a esperada ao acaso na população negróide da mesma área geográfica.

Tendo em vista esses dados contraditórios, RAMALHO e BEIGUELMAN retomaram em 1977 o problema no Brasil e encontraram, entre 160 pacientes negróides com tuberculose pulmonar (53 pretos e 107 mulatos) internados em quatro Sanatórios de Campos de Jordão, S.P., uma prevalência de portadores do traço falciforme igual a 12,5% (17% dos pretos e 10,3% dos mulatos). Tal proporção de síclêmicos foi a mais alta já

descrita entre negróides do Sul e Sudeste do Brasil, entre os quais se estima que apenas cerca de 6,6% apresentam esse estigma hemoglobínico (RAMALHO e BEIGUELMAN, 1977; PINTO Jr., 1978; RAMALHO, 1986). Esse resultado, da mesma forma que o encontrado por WEISS e STECHER (1952), indicava, evidentemente, que era possível existir uma associação entre o estigma falciforme e a tuberculose pulmonar. Restava investigar, no entanto, porque os dados de WEISS e STECHER (1952) e de RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) discordavam dos de ROSENBLUM et al (1955) e de RYAN et al (1960).

PINTO Jr. (1978), voltando a analisar o problema entre pacientes com tuberculose pulmonar, não encontrou frequências do estigma falciforme que diferissem significativamente daquelas que são usualmente encontradas entre negróides do Sul e Sudeste Brasileiros. Da mesma forma que havia sido observado anteriormente por WEISS e STECHER (1952), esse autor também constatou uma maior tendência à forma exsudativa da tuberculose pulmonar entre os seus pacientes síclêmicos, além de observar que o hilo congesto, a fibrose, os micronódulos e a perda volumétrica também eram sinais radiológicos mais frequentes entre os portadores da hemoglobina S.

Os resultados obtidos por PINTO Jr. (1978) permitiram-lhe aventar a hipótese de que essa diversidade de resultados poderia depender das características das amostras de negróides examinadas nos diversos trabalhos. Isso, porque, na sua opinião, os síclêmicos com tuberculose pulmonar poderiam responder melhor ao tratamento, pelo fato de geralmente manifestarem uma forma exsudativa da infecção, forma essa mais incomôda e que obrigaria o paciente a procurar atendimento médico mais precocemente. Assim sendo, os trabalhos que examinassem negróides

em início de tratamento poderiam encontrar uma frequência muito alta de portadores do traço falciforme, enquanto que os trabalhos que examinassem negróides em tratamento há mais tempo, encontrariam frequências baixas desse traço hemoglobínico.

O estudo dessa relação entre o traço falciforme e o tempo de tratamento da tuberculose pulmonar reveste-se de grande interesse, tanto no seu aspecto médico quanto em termos de Genética de Populações. De fato, torna-se importante investigar se os heterozigotos AS com tuberculose pulmonar realmente procuram tratamento médico mais precocemente e se eles obtém, de fato, a cura clínica mais cedo. Esses fatos, uma vez confirmados, confeririam ao traço falciforme um bom valor prognóstico em relação à tuberculose pulmonar. Por outro lado, sendo a hemoglobina S um polimorfismo genético humano, torna-se interessante investigar a eventual seleção favorável dos heterozigotos AS pela tuberculose pulmonar nas populações nas quais essa infecção é endêmica. Esse novo mecanismo homeostático de manutenção do polimorfismo da hemoglobina S seria, assim, criado, portanto, no momento em que foi instituída a terapêutica efetiva para a tuberculose pulmonar.

II-OBJETIVO

O presente trabalho teve por objetivo investigar a eventual associação entre o traço falciforme e o tempo de tratamento da tuberculose pulmonar, conforme a hipótese aventada por PINTO Jr. (1978). Para tanto, foi averiguado se:

1) a frequência de heterozigotos AS é, de fato, maior entre negrídeos em tratamento inicial da tuberculose pulmonar, ou seja, se esses heterozigotos procuram atendimento médico mais precocemente que os pacientes com hemoglobinas normais;

2) os heterozigotos AS obtêm a cura clínica mais cedo.

Em outras palavras, procurou-se investigar se o traço falciforme realmente possui algum valor prognóstico em relação à tuberculose pulmonar. Com isso, averiguou-se, também, a eventual seleção favorável dos heterozigotos AS pela tuberculose pulmonar.

III- CASUÍSTICA • MÉTODOS

Foram examinados 300 pacientes (220 homens e 80 mulheres) negróides com tuberculose pulmonar (109 pretos e 191 mulatos), hospitalizados em diversos Sanatórios Paulistas, de acordo com os dados da tabela I. Dentre esses pacientes, 172 (109 homens e 63 mulheres) foram examinados pelo Prof. Dr. Walter Pinto Jr. nos anos de 1977 e 1978, e 128 (111 homens e 17 mulheres) foram examinados pela autora no ano de 1985. Foram utilizados pacientes de vários sanatórios a fim de diluir eventuais efeitos de coleta preferencial, já que se sabe que o atendimento cirúrgico não é feito em todos os hospitais para tratamento da tuberculose, além do que o estado geral dos pacientes com tuberculose pulmonar varia muito nos diferentes sanatórios de nosso Estado.

A idade dos pacientes variou de 13 a 69 anos, com uma média de 33,38 anos e desvio-padrão de 11,90 anos.

Todos os pacientes foram entrevistados para a obtenção dos dados necessários ao preenchimento de uma ficha clínica, com especial ênfase, evidentemente, à data do diagnóstico e ao tempo de tratamento da tuberculose pulmonar.

Após a entrevista, foram retirados, por punção venosa, cerca de 5 ml de sangue de cada paciente, utilizando-se seringas e agulhas descartáveis, sendo o sangue preservado em frascos de vidro contendo 5 mg do anticoagulante etileno-diaminotetra-acetato de sódio (EDTA).

O sangue foi então levado ao laboratório de Bioquímica do Departamento de Genética Médica da Universidade Estadual de Campinas, onde se procedeu à pesquisa da hemoglobina S, por eletroforese em fitas de acetato de celulose e por um teste de solubilidade.

A eletroforese em fitas de acetato de celulose foi feita com so-

tabela I-DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES NEGRÓIDES EXAMINADOS NOS DIVERSOS
SANATÓRIOS PAULISTAS..

HOSPITAL	CIDADE	HOMENS	MULHERES	TOTAL	%
Nest. Goul. Reis	Araraquara	90	-	90	30,0
P. Hosp. Mandaguai	São Paulo	26	16	42	14,0
San. Popular S2	C. Jordão	-	28	28	9,3
San. Paul. CTB.	C. Jordão	27	-	27	9,0
San. São Paulo	C. Jordão	-	25	25	8,4
San. Popular S3	C. Jordão	25	-	25	8,4
San. Sírio	C. Jordão	13	-	13	4,3
San. Santa Cruz	C. Jordão	13	-	13	4,3
P. San. M. Tereza	Cotia	08	04	12	4,0
D. Leo. M. Barros	Sorocaba	03	05	08	2,7
San. N. Sra Merc.	C. Jordão	07	-	07	2,4
San. São Crist.	C. Jordão	05	-	05	1,6
Guilh. Alvaro	Santos	02	01	03	1,0
San. 3 de Out.	C. Jordão	01	01	02	0,6
TOTAL		220	80	300	100,0

Obs.:1-Nestor Goulart Reis, 2-Parque Hospitalar do Mandaqui,3-Sanatório Popular S₂,4-Sanatório Paulista contra Tuberculose, 5-Sanatório São Paulo, 6-Sanatório Popular S₃, 7-Sanatório Sírio, 8-Sanatório Santa Cruz, 9-Parque Sanatório Maria Tereza, 10-Dona Leonor Mendes Barros, 11-Sanatório Nossa Senhora das Mercês, 12-Sanatório São Crisóstóvão, 13-Guilherme Álvaro, 14-Sanatório 3 de Outubro.

luções de hemoglobinas a 10%. Para o preparo dessas soluções, o sangue foi centrifugado durante 10 minutos a 3000 rpm, aspirando-se, em seguida, o plasma sobrenadante e o creme leucocitário, que foram desprezados. As hemácias concentradas foram então lavadas quatro vezes em solução salina a 0,9%, ou até que o sobrenadante ficasse límpido, sendo posteriormente hemolisadas. Para tanto empregou-se um volume de água destilada igual ao das hemácias concentradas e metade desse volume de clorofórmio.

O hemolisado foi agitado fortemente durante 5 minutos antes de ser centrifugado durante 30 minutos em alta rotação. A solução de hemoglobinas foi, então, vertida para outro tubo, ficando, assim, pronta para uso.

Para a realização da eletroforese de hemoglobinas em um sistema "BOSKAMP" (BOSKAMP GERATEBAU KG, Alemanha), com o emprego de fitas de acetato de celulose secas e microporosas (Sartorius Membranfilter, GMBH, Alemanha), foram utilizados os seguintes reagentes, recomendados por RAMALHO (1986):

- 1-Tampão tris-glicina pH 9,1 (9,4 g de tris hidroximetil-aminometano, e 15,067 g de glicina em um litro de água destilada).
- 2-Corante (0,5 g de amido negro 10B, 45 ml de metanol, 10 ml de ácido acético glacial e 45 ml de água destilada).
- 3-Solução descorante (45 ml de metanol, 10 ml de ácido acético glacial e 45 ml de água destilada)

Depois de manter as fitas de acetato de celulose durante 10 minutos na solução tampão, elas foram colocadas entre duas folhas de papel de filtro, para a retirada do excesso dessa solução, e postas em uma cuba de eletroforese cheia da mesma solução tampão. Com o auxílio de

um aplicador depositou-se, então, a solução de hemoglobinas sobre a fita, promovendo-se a corrida eletroforética durante uma hora, sob uma diferença de potencial de 250 volts.

As fitas foram retiradas da cuba de eletroforese e mantidas no corante durante 10 minutos, após os quais fez-se a descoloração do fundo por lavagens sucessivas com a solução descorante.

Visto que a eletroforese de hemoglobinas em fitas de acetato de celulose em pH 9,1 impossibilita a distinção entre a hemoglobina S e outras hemoglobinas do grupo +1, que ocupam a mesma posição eletroforética, a confirmação da hemoglobina S foi feita por meio do teste de solubilidade de LOUDERBACK et al (1974), realizado independentemente dos exames eletroforéticos.

A exemplo de outros testes de solubilidade, essa técnica vale-se da baixa solubilidade da hemoglobina S em tampões fosfato de alta molaridade. O teste de LOUDERBACK et al (1974) apresenta, porém, maior precisão que os outros testes de solubilidade, porque a sua eficiência é mantida mesmo em casos com menos de 4 g% de hemoglobina e em sangues estocados em geladeira por mais de 30 dias, além de ser capaz de diferenciar os heterozigotos AS dos homozigotos SS e estes dos heterozigotos SD.

Para a sua realização foi utilizada a seguinte solução de preparo recente:

- ditionito de sódio (agente redutor).....1 g
- saponina (detergente).....1 g
- tampão de sulfato de amônia.....100 ml

O tampão de sulfato de amônia foi preparado pela dissolução de 280 g de $(NH_4)_2SO_4$ em um litro de água destilada, ajustando-se o pH

para $7,1 \pm 0,1$ com K_2HPO_4 em solução molar.

O teste foi feito em duas fases, na primeira das quais foram pipetados 2 ml da solução trabalho em tubos de ensaio numerados. A cada tubo foi acrescentado 0,1 ml de sangue total dos indivíduos examinados. Os tubos foram invertidos várias vezes para homogeneizar o seu conteúdo e mantidos em repouso, à temperatura ambiente, durante 5 minutos. Em seguida, os tubos foram examinados contra uma fonte de luz, mantendo-os na frente de um cartão no qual estava inscrita uma letra de cor preta. Se a letra pudesse ser lida, o sangue era classificado como não contendo hemoglobina S. Caso contrário, o sangue era considerado contendo hemoglobina S, podendo pertencer a um homozigoto ou a um heterozigoto do gene dessa hemoglobina. Para determinar o genótipo hemoglobínico, os tubos foram centrifugados durante 3 minutos a 5.000 rpm, juntamente com um tubo controle de sangue de um indivíduo normal. Após a centrifugação, os tubos foram examinados contra uma fonte de luz para verificar os seguintes resultados:

a) tubo controle: sobrenadante límpido de cor vermelha e pequeno precipitado branco (estroma das hemácias).

b) tubo com hemoglobina S:

b.1-heterozigoto: sobrenadante límpido de cor rósea e pequeno precipitado vermelho.

b.2-homozigoto: sobrenadante límpido de cor amarelada e grande precipitado vermelho.

Para a análise estatística dos dados obtidos, utilizou-se o teste do qui-quadrado para comparação de proporções, aplicado a tabelas de contingência.

IV-RESULTADOS

Dentre os 300 pacientes averiguados, 26 eram heterozigotos AS, resultando numa frequência de 8,6% de portadores do traço falciforme. As frequências de heterozigotos AS observadas nas várias cidades-sede dos sanatórios são especificadas na tabela II.

TABELA II-FREQÜÊNCIAS DE HETEROZIGOTOS AS OBSERVADAS NAS DIVERSAS CIDADES-SEDE DOS SANATÓRIOS.

CIDADE	nº DE PACIENTES	FREQÜENCIA DE <u>AS</u> (%)
Araraquara	90	5,5
C. Jordão	144	9,0
São Paulo	42	11,9
outras	24	8,3
TOTAL	300	8,6

Nas tabelas III e IV são apresentadas as distribuições dos pacientes AS e não AS, respectivamente, por tempo de tratamento.

Como é possível observar nessas tabelas, existe um acúmulo de pacientes tanto AS quanto não AS nos seis primeiros meses de tratamento. Isso se deve, evidentemente, ao fato de o tratamento inicial da tuberculose pulmonar ter a duração mínima de seis meses. Os pacientes que ultrapassaram seis meses de tratamento, não responderam satisfatoriamente à fase terapêutica inicial.

TABELA 111- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES AS QUANTO AO MÊS DE TRATAMENTO

<u>MÊS DE TRATAMENTO</u>	<u>Nº DE PACIENTES</u>	<u>....DISTRIBUIÇÃO.....</u>
1	5	=====
2	5	=====
3	3	=====
4	4	=====
5	0	
6	2	=====
7	1	=====
8	0	
9	1	=====
10	0	
11	0	
12	1	=====
+12	4	=====
TOTAL	26	

Obs.- ":" são meses em que o número de pacientes = 0

TABELA IV- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES NÃO AS QUANTO AO TEMPO DE TRATAMENTO.

<u>MÊS DE TRATAMENTO</u>	<u>Nº DE PACIENTES</u>	<u>DISTRIBUIÇÃO</u>
1	53	=====
2	32	=====
3	44	=====
4	26	=====
5	16	=====
6	21	=====
7	8	=====
8	2	==
9	3	==
10	2	==
11	1	=
12	9	=====
+12	58	=====
TOTAL	274	

Obs.-": " significa que nesse intervalo de meses o nº de pacientes =0

Classificando-se a amostra de pacientes de acordo com o tempo de tratamento, não se observou um acúmulo de portadores do traço falciforme em nenhum dos sub-grupos (Tabelas V e VI).

TABELA V-DISTRIBUIÇÃO DOS INDIVÍDUOS AS NAS SUB-AMOSTRAS COM TEMPO DE TRATAMENTO VARIÁVEL.

MESES DE TRATAMENTO	AS	NÃO AS	TOTAL
< 6	19	192	211
7 - 12	03	24	27
> 12	04	58	62
TOTAL	26	274	300

$$\chi^2 = 0,6372 ; 0,70 < P < 0,80$$

TABELA VI-DISTRIBUIÇÃO DOS HETEROZIGOTOS AS POR BIMESTRE NA SUB-AMOSTRA EM TRATAMENTO INICIAL DA TUBERCULOSE PULMONAR (<6 meses).

MESES DE TRATAMENTO	AS	NÃO AS	TOTAL
1 - 2	10	83	93
3 - 4	7	69	76
5 - 6	2	35	37
TOTAL	19	187	206

$$\chi^2 = 0,9044 ; 0,50 < P < 0,70$$

Mesmo comparando-se a proporção de heterozigotos AS observada

na subamostra de pacientes virgens de tratamento, ou seja, naqueles recém-admitidos nos sanatórios, com a observada entre pacientes com mais de um ano de tratamento também não se constatou nenhuma diferença significativa (tabela VII). É importante notar que todos os pacientes estavam recebendo o mesmo esquema terapêutico (estreptomicina, rifampicina e pirazínamida).

TABELA VII-COMPARAÇÃO DA PROPORÇÃO DE HETEROZIGOTOS AS ENTRE PACIENTES VIRGENS DE TRATAMENTO (VT) E COM MAIS DE 12 MESES DE TRATAMENTO.

MESES DE TRATAMENTO	AS	NÃO AS	TOTAL
VT	5	65	70
>12	4	58	62
TOTAL	9	123	132

$$\chi^2_{(1)} = 0,0247; 0,80 < P < 0,90$$

Conforme é possível constatar nas tabelas VIII e IX, respectivamente, a proporção de heterozigotos AS também não variou significativamente de acordo com a faixa etária e o sexo dos pacientes.

TABELA VIII- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES SEGUNDO A FAIXA ETÁRIA E O TIPO HEMOGLOBÍNICO.

FAIXA ETÁRIA (anos)	AS	NÃO AS	TOTAL
10 a 20	4	27	31
20 a 30	10	72	82
30 a 40	8	94	102
40 a 50	2	49	51
50 a 60	2	22	24
60 a 70	0	10	10
TOTAL	26	274	300

$$\chi^2_{(5)} = 4,5944; 0,30 < P < 0,50$$

Obs.: As faixas etárias foram classificadas com base no desvio-padrão das idades dos pacientes.

TABELA IX- DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES DE ACORDO COM O SEXO E O TIPO HEMOGLOBÍNICO.

SEXO	AS	NÃO AS	TOTAL
masculino	17	203	220
feminino	9	71	80
TOTAL	26	274	300

$$\chi^2_{(1)} = 0,9197; 0,30 < P < 0,50$$

Procurando-se uma eventual correlação entre tempo de tratamento da tuberculose pulmonar e a idade do paciente, realizou-se um teste de regressão com essas duas variáveis. Na amostra de pacientes com traço falciforme, não foi encontrada nenhuma correlação ($r = -0,0522$;

$t=0,25607$, $0,70 < P < 0,80$). No entanto, na amostra de pacientes não AS foi encontrada uma correlação positiva entre essas duas variáveis ($r=0,1976$; $t=3,32437$, $P < 0,001$).

Retirando-se da amostra os pacientes com tempo de tratamento ≤ 6 meses, obteve-se uma correlação positiva mais acentuada nos pacientes não AS ($r=0,2794$; $t=9,82420$, $P < 0,001$) e uma correlação negativa entre os pacientes portadores do traço falciforme ($r=-0,7757$; $t=6,02130$, $P < 0,001$).

V-DISCUSSÃO

Ao analisar os dados obtidos no presente trabalho, chama a atenção, em primeiro lugar, a frequência do traço falciforme observada na amostra de pacientes tuberculosos negróides (8,6%) que não diferiu significativamente da frequência esperada ao acaso nas populações negróides do Sul e Sudeste do Brasil, ou seja, 6,6% ($\chi^2_{(1)} = 0,006$; $0,90 < P < 0,95$). Considerando-se as cidades-sede dos diversos sanatórios, também não foram observadas frequências do traço falciforme que diferissem significativamente da esperada casualmente na população (tabela VII).

TABELA X-COMPARAÇÃO ENTRE AS FREQUÊNCIAS DO TRAÇO FALCIFORME OBSERVADAS NAS SUB-AMOSTRAS DE PACIENTES TUBERCULOSOS NEGRÓIDES DAS DIFERENTES CIDADES-SEDE DOS SANATÓRIOS E A ESPERADA AO ACASO ENTRE NEGRÓIDES DO SUL E SUDESTE BRASILEIROS (6,6%).

CIDADE	FREQ. de HETEROZ. AS	$\chi^2_{(1)}$	PROBABILIDADE
São Paulo	0,119	0,0425	0,80 < P < 0,90
C. Jordão	0,090	0,0087	0,90 < P < 0,95
Araraquara	0,055	0,0018	0,95 < P < 0,98
Outras	0,083	0,0043	0,90 < P < 0,95
TOTAL	0,086	0,0060	0,90 < P < 0,95

É importante ressaltar que a proporção de pretos na amostra negróide examinada (36,3%) não diferiu significativamente da observada

por SALZANO et al (1968) entre 2.722 negróides Sul-brasileiros da população geral, ou seja, 32,5% ($\chi^2_{(1)} = 1,8336$; $0,10 < P < 0,20$). Pode-se dizer, portanto, que a proporção de pretos e de mulatos na amostra examinada não interferiu nos resultados obtidos, sobretudo no cálculo da prevalência de portadores do traço falciforme, ilustrando satisfatoriamente o que se passa na população negróide em geral. Quanto a esse aspecto, é interessante comentar que na amostra examinada por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) a proporção de pretos (33,1%) também não diferiu da observada por SALZANO et al (1968) ($\chi^2_{(1)} = 0,0284$; $0,80 < P < 0,90$), enquanto que na amostra negróide examinada por PINTO Jr (1978) a proporção de pretos (17,8%) foi significativamente menor ($\chi^2_{(1)} = 34,0857$; $p < < < 0,001$).

A prevalência do traço siclêmico observada no presente trabalho apóia, portanto, a terceira hipótese aventada por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977), segundo a qual os efeitos clínicos da interação entre o traço falciforme e a tuberculose pulmonar seriam incapazes de alterar a frequência de heterozigotos AS entre os pacientes dessa doença. Nesse aspecto, os resultados obtidos concordam com os de ROSENBLUM et al (1955), RYAN et al (1955) e PINTO Jr (1978), reforçando a idéia de que a associação entre o traço falciforme e a tuberculose pulmonar observada por WEISS e STECHER (1952) e por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977) possa realmente ter sido espúria, como, aliás, esses últimos autores tiveram o cuidado de ressaltar.

Levando-se em conta o tempo de tratamento, não se observou um excesso de heterozigotos AS entre os pacientes com menos de 6 meses de terapia (tabelas V e VI). Curiosamente, tal excesso também não foi observado mesmo entre os pacientes virgens de tratamento, ou seja, na-

queles recém-admitidos nos sanatórios (tabela VII). Esses resultados, evidentemente, não favorecem a hipótese aventada por PINTO JR (1977), segundo a qual os pacientes tuberculosos portadores do traço falciforme procurariam atendimento médico mais precocemente que os pacientes com hemoglobinas normais, por manifestarem, geralmente, a forma exsudativa da doença, mais incômoda.

Além disso, também não se observou menor prevalência de heterozigotos AS na amostra de pacientes com mais de um ano de tratamento (tabela V), o que poderia indicar uma cura mais rápida por parte desses portadores do traço falciforme.

Esses dados, em conjunto, não favorecem a hipótese, portanto, de que o traço falciforme confira algum valor prognóstico à tuberculose pulmonar, antecipando o início do tratamento ou modificando a duração da doença.

Da mesma forma, o sexo e a faixa etária também não influenciaram na prevalência do traço falciforme observada na amostra examinada (tabelas VIII e IX).

A correlação positiva encontrada entre o tempo de tratamento e a idade nos pacientes não AS seria esperada, uma vez que parece razoável admitir que, à medida que aumenta a idade do paciente, o tempo de tratamento também tenderia a aumentar, em decorrência da menor resposta terapêutica observada em pacientes de maior idade. Já a correlação negativa entre essas duas variáveis observada nos pacientes portadores do traço falciforme não será interpretada, uma vez que tal amostra é reduzida. Seria interessante, no entanto, que essa eventual correlação fosse melhor investigada em outros estudos.

Os resultados obtidos no presente trabalho também falam contra a

possibilidade, evidentemente, de os heterozigotos AS sofrerem seleção favorável pela tuberculose pulmonar, descartando a hipótese de que a introdução da terapêutica anti-tuberculose tenha criado um novo mecanismo homeostático de manutenção do polimorfismo da hemoglobina S.

Assim sendo, parece claro que o problema da manutenção do polimorfismo da hemoglobina S longe está do seu perfeito esclarecimento. De fato, da mesma forma que ocorre com a tuberculose pulmonar, a hanseníase também parece não contribuir para a manutenção desse polimorfismo (CÉZAR et al., 1974). Por outro lado, enquanto as próprias relações entre a hemoglobina S e a malária merecem ser revistas (PINTO Jr, 1978), as relações entre essa hemoglobina e outras doenças infecciosas e parasitárias, sobretudo a febre reumática, ainda necessitam ser melhor investigadas (SERJEANT, 1974; RAMALHO, 1986).

VI-RESUMO E CONCLUSÕES

As consequências clínicas da interação entre o traço falciforme e a tuberculose pulmonar ainda constituem um assunto bastante controverso. PINTO JR. (1978) aventou a hipótese de que a diversidade dos resultados obtidos em estudos dessa natureza talvez dependesse do tempo de tratamento das amostras de negróides estudadas. Isso porque os pacientes tuberculosos com hemoglobina S poderiam procurar tratamento médico mais precocemente, em, virtude de sua tendência a manifestar a forma exsudativa da doença, mais incômoda, e, portanto, teriam cura mais rápida. Assim, as amostras de pacientes em início de tratamento apresentariam uma frequência mais elevada de portadores do traço falciforme.

O presente estudo teve por objetivo testar essa hipótese, através da análise de 300 pacientes tuberculosos negróides internados em vários sanatórios paulistas, averiguados quanto ao tempo de tratamento e ao fenótipo hemoglobínico.

A presença do traço falciforme foi investigada por eletroforese de hemoglobinas em fitas de acetato de celulose, pH alcalino e por um teste de solubilidade para a hemoglobina S (teste "Sickle-ID").

A frequência de portadores do traço falciforme encontrada na amostra total foi de 8,6%, não diferindo da esperada ao acaso na população negróide. Por outro lado, a prevalência de portadores do traço falciforme não variou nas subamostras classificadas quanto ao tempo de tratamento, faixa etária e sexo.

Os resultados do presente trabalho permitiram, portanto, as seguintes conclusões:

- 1) A frequência de portadores do traço falciforme entre negróides

tuberculosos não deve realmente diferir da observada na população negra em geral, favorecendo uma das hipóteses aventadas por RAMALHO e BEIGUELMAN (1977), segundo a qual os efeitos clínicos da interação entre o traço falciforme e a tuberculose pulmonar seriam incapazes de alterar a frequência de heterozigotos AS entre os pacientes com essa doença.

2) Os pacientes tuberculosos portadores do traço falciforme provavelmente não procuram atendimento médico mais precocemente que os pacientes com hemoglobinas normais.

3) O traço falciforme parece não conferir nenhum valor prognóstico à tuberculose pulmonar, não antecipando o início do tratamento nem diminuindo a duração da doença.

4) A terapêutica anti-tuberculose provavelmente não criou um novo mecanismo homeostático de manutenção do polimorfismo da hemoglobina S.

VII-REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLISON, A.C.-Observations on the sickling phenomenon and on the distribution of different haemoglobin types in erythrocyte population. Clin. Sci., 15: 497-510, 1956.
- BARRET-CONNOR, E.-Bacterial infection and sickle cell anemia. Medicine, 50: 97-112, 1971.
- BAUMGARD, S.H. & LEACH, R.E.-Avascular necrosis of the femoral head secondary to sickle cell disease. Clin. Orthop., 69: 207-212, 1970.
- CÉZAR, P.C.; MIZUSAKI, K.; PINTO Jr., W.; OPROMOLLA, D.W.A. & BEIGUELMAN, B.-Hemoglobina S e lepra. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., 7: 151-167, 1974.
- CHANG, J.C. & KAN, Y.W.-A sensitive new prenatal test for sickle cell anemia. N. Engl. J. Med., 307: 30-32, 1982.
- CHARACHE, S. & PAGE, D.L.-Infarction of bone marrow in the sickle cell disorders. Ann. Intern. Med., 67: 1195-1200, 1967.
- COCKSHOTT, W.P.-Dactylitis and growth disorders. Brit. J. Radiol., 36: 19-26, 1963.
- DIGGS, L.W.-Bone and joint lesions in sickle cell disease. Clin. Orthopaed., 52: 119-143, 1967.
- DIGGS, L.W. & CHING, R.E.-Pathology of sickle cell anemia. Sth. Med. J. (Bgham., Ala), 27: 839-845, 1934.
- DIGGS, L.W.; PULLIAM, H.N. & KING, J.C.-The bone changes in sickle cell anemia. Sth. Med. J. (Bgham., Ala), 30: 249-259, 1937.
- GEEVER, R.F.; WILSON, L.B.; MALLASETH, F.S.; MILNER, P.F.; BITTNER, M. & WILSON, J.T.-Direct identification of sickle cell anemia by blot hybridization. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 78: 5081-5085, 1981.
- GUÉRI, M. & SERJEANT, G.R.-Leg ulcers in sickle cell anaemia. Trop.

- Geogr. Med., 22: 155-160, 1970.
- HEBBEL, R.P.; BOOGAERTS, M.A.B.; EATON, J.W. & STEINBERG, M.H.-Erythrocyte adherence to endothelium in sickle cell anemia.N. Engl. J. Med., 302: 992-995, 1980.
- INGRAM, V.M.-Gene mutations in human haemoglobin: The chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin.Nature, 180: 326-328, 1957.
- JOHNSON, A.; DAVIS, T.W.; FERGUSON, A.D. & SCOTT, R.B.-Studies in sickle cell anemia. XXXII-Roentgenographic aspects of osseous changes.Med. Ann. D.C., 36: 651-654, 1967.
- LEIGHT, L.; SNIDER, T.H.; CLIFFORD, G.D. & HELLEMS, H.K.-Hemodynamic studies in sickle cell anemia.Circulation, 10: 653-662, 1954.
- LOUDERBACK, A.L.; YOUHNE, Y.; FONTANA, A. & NATLAND, M.-Clinical evaluation of a rapid screening test for sickle cell trait (S-) and sickle cell anemia (SS).Clin. Chem., 20: 761-764, 1974.
- MILLER, G.J. & SERJEANT, G.R.-An assessment of lung volumes and gas transfer in sickle cell anaemia.Thorax, 26: 309-315, 1971.
- MOSER, K.M. & SHEA, J.G.-The relationship between pulmonary infarction, cor pulmonale and the sickle states.Amer. J. Med., 22: 561-570, 1957.
- MOTULSKY, A.G. & STAMATOYANNOPOULOS, G.-Drug, anesthesia and abnormal hemoglobins.Ann. N.Y. Acad. Sci., 151: 807, 1968.
- NELL, J.V.; WELLS, I.C. & ITANO, H.A.-Familial differences in the proportion of abnormal hemoglobin present in the sickle cell trait.J. Clin. Invest., 30: 1120-1124, 1951.
- PINTO Jr., W.-Hemoglobina S e tuberculose pulmonar. Tese de Livre-Docência, Universidade Estadual de Campinas, 1978.

- RAMALHO, A.S.-Estudo Médico de polimorfismos genéticos de importância clínica no Brasil. Tese de Livre-Docência, Universidade Estadual de Campinas, 1979.
- RAMALHO, A.S.-As hemoglobinopatias hereditárias-Um Problema de Saúde Pública no Brasil. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 160 p., 1986.
- RAMALHO, A.S. & BEIGUELMAN, B.-Sickle cell trait and tuberculosis. Ciência e Cultura, 29: 1149-1151, 1977.
- REYNOLDS, J.-A re-evaluation of the fish vertebra sign in sickle cell hemoglobinopathy-Ame.J.Roentegenol., 97: 693, 1966.
- ROBBINS, S.L.-Patologia (tradução em português da 3ª edição inglesa da W.B. Saunders. Co, Philadelphia, 1967), Editora Guanabara-Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1440 p., 1969.
- ROSENBLUM, R.; KABAKOW, B.; LICHTMAN, H. & LYON, H.A.-Sickle cell a trait and disease in pulmonary tuberculosis.Arch.Intern.Med., 95: 540-542, 1955.
- RYAN, T.J; O'CONNOR, T.F.; Mc CURDY, P.R. & KATZ, S.-Sickle cell trait and tuberculosis.Amer.Rev.Resp.Dis., 81: 546-549, 1960.
- SALZANO, F.M.; da ROCHA, F.J. & TONDO, C.V.-Hemoglobin types and gene flow in Pôrto Alegre.Acta Genet.(Basel), 18: 449-457, 1968.
- SCURR, C. & FELDMAN, S.-Fundamentos Científicos de la anestesia. Barcelona, Editorial Científico-Médica, 1972.
- SERJEANT, G.R.-The clinical features of sickle cell disease. Amsterdam, North-Holland, 1974.
- SOUTHERN, E.M.-Detection of sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis.J.Mol.Biol., 98: 503, 1975.
- SPROULE, B.J.; HALDEN, E.R. & MILLER, .F.-A study of cardiopulmonary

alterations in patients with sickle cell disease and its variants.
J.Clin.Invest., 37: 486-495, 1958.

-WEISS, W. & STECHER, W.-Tuberculosis and the sickle cell trait.Arch.
Intern.Med., 89: 914-922, 1952.

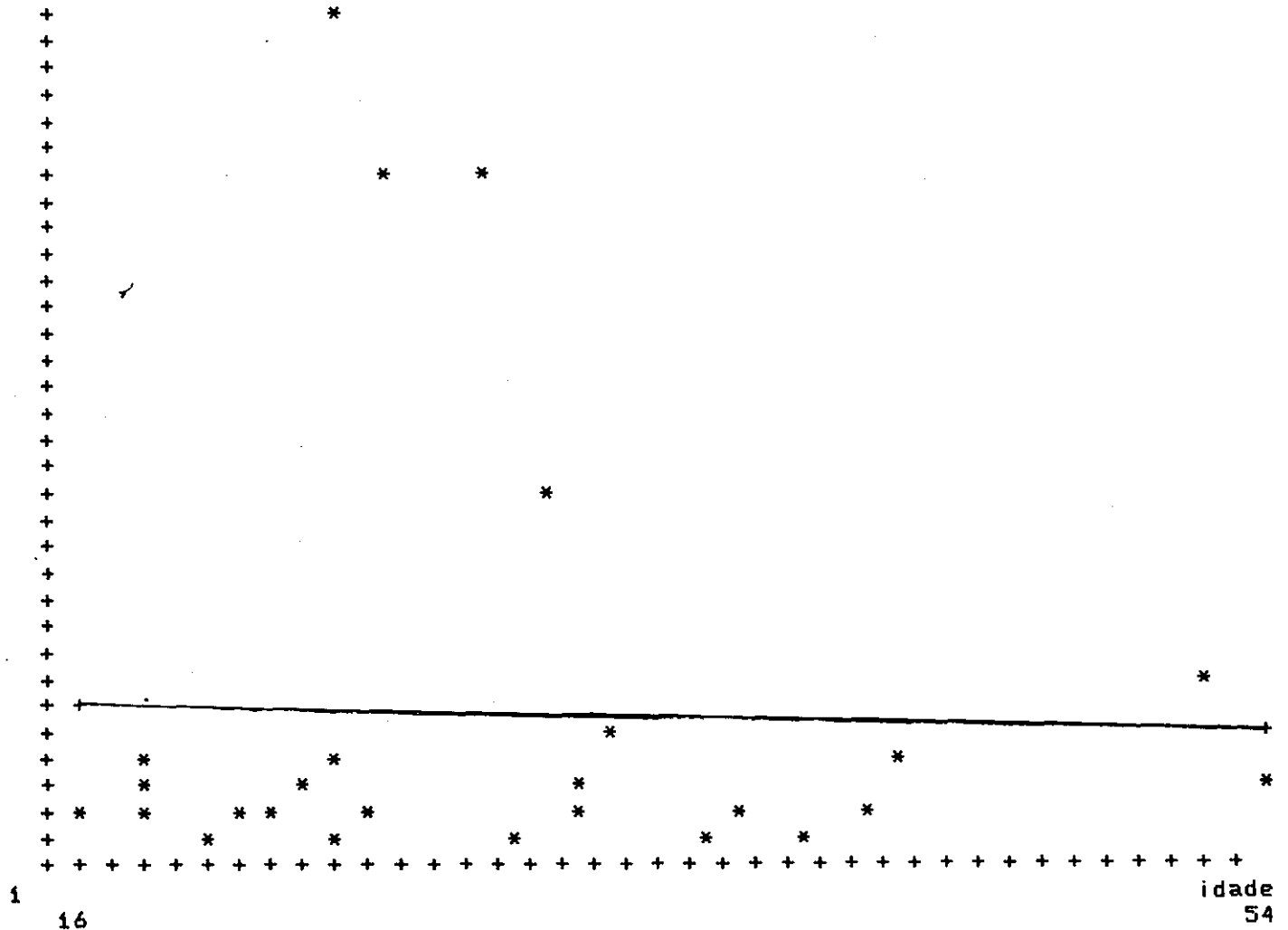
-WELLS, I.C. & ITANO, H.A.-Ratio of sickle-cell anemia hemoglobin to
normal hemoglobin in sicklemics.J.Biol.Chem., 188: 65-74, 1951.

APENDICE

1-Reta de Regressão da Correlação entre tempo de tratamento e

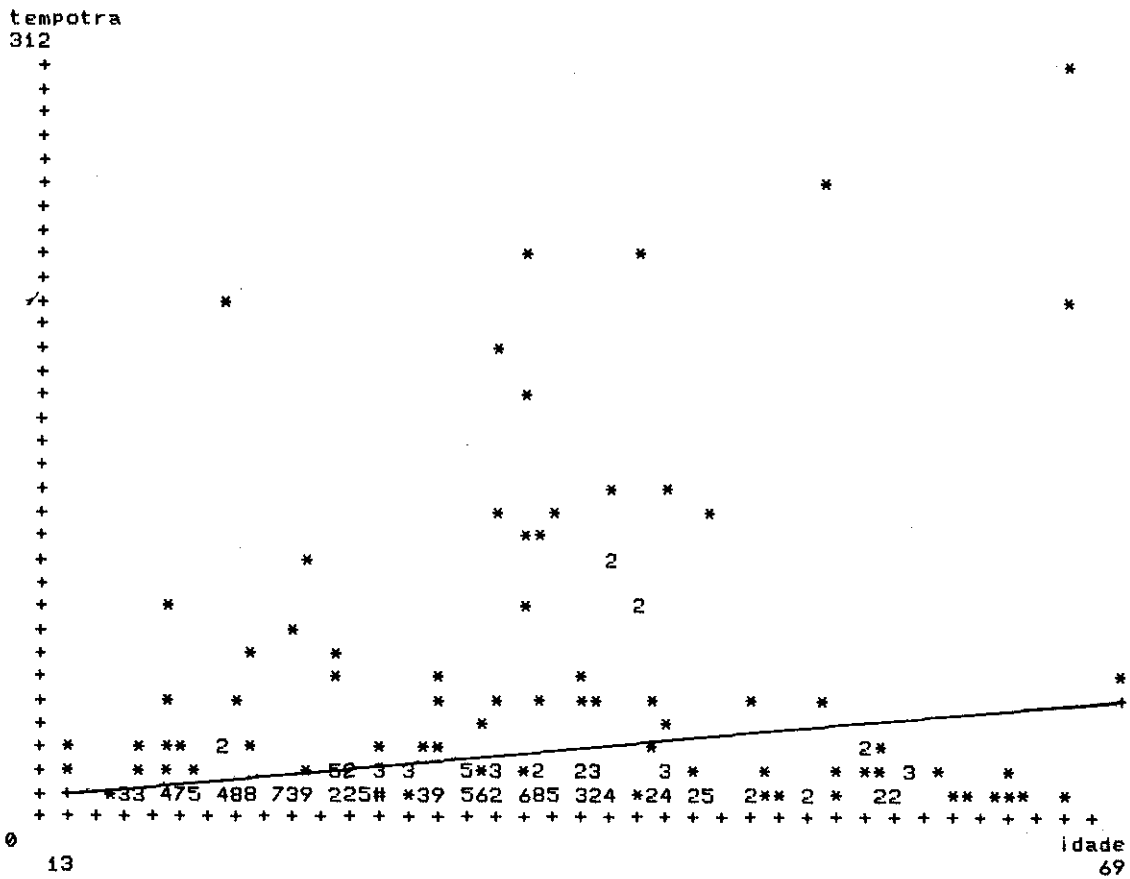
idade dos pacientes com traço falciforme.

tempo tra
60



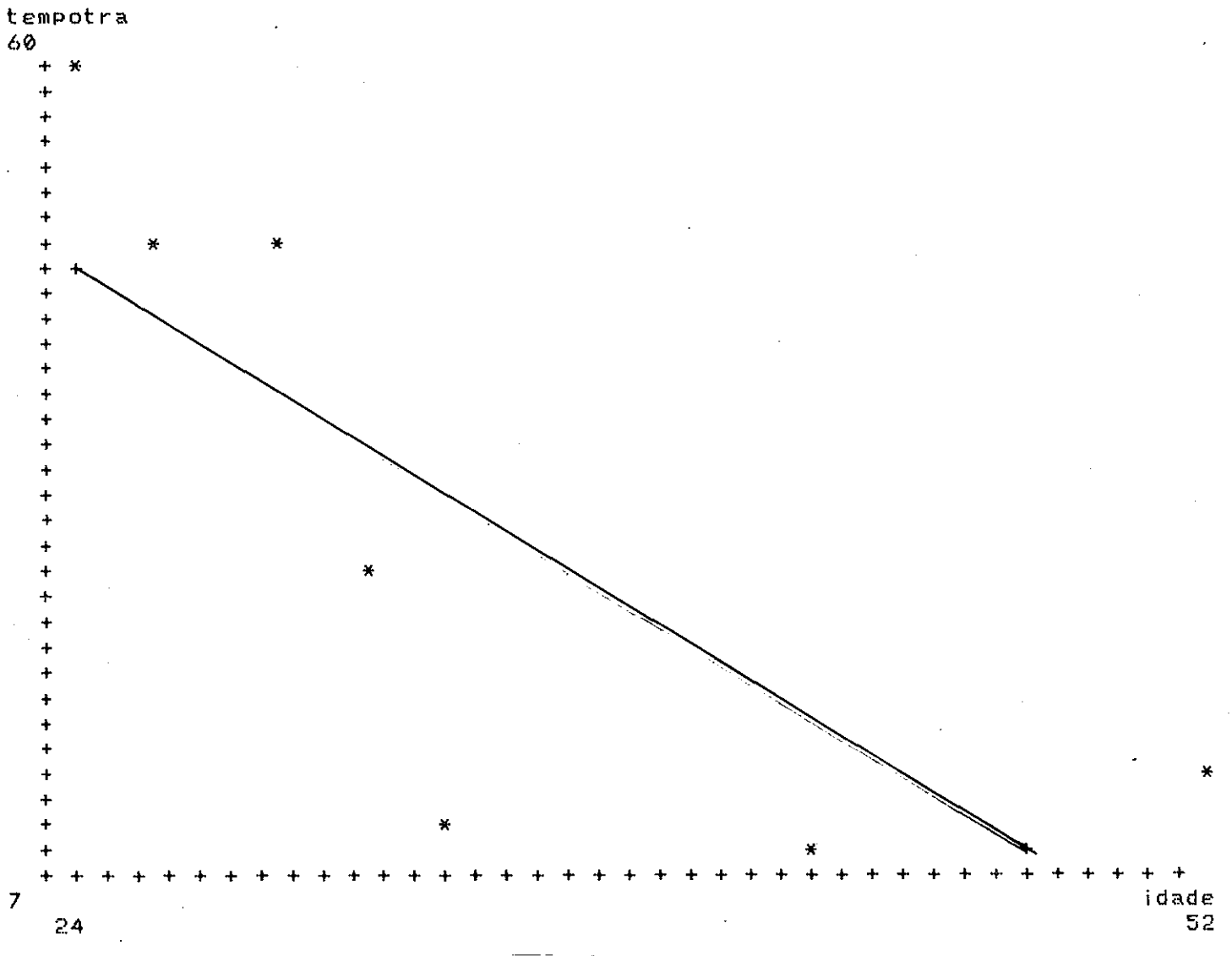
$r = -0,0522$, $t = 0,25607$, $0,70 < P < 0,80$, $b = -0,08409$

2-Reta de Regressão da Correlação entre tempo de tratamento
idade dos pacientes não AS



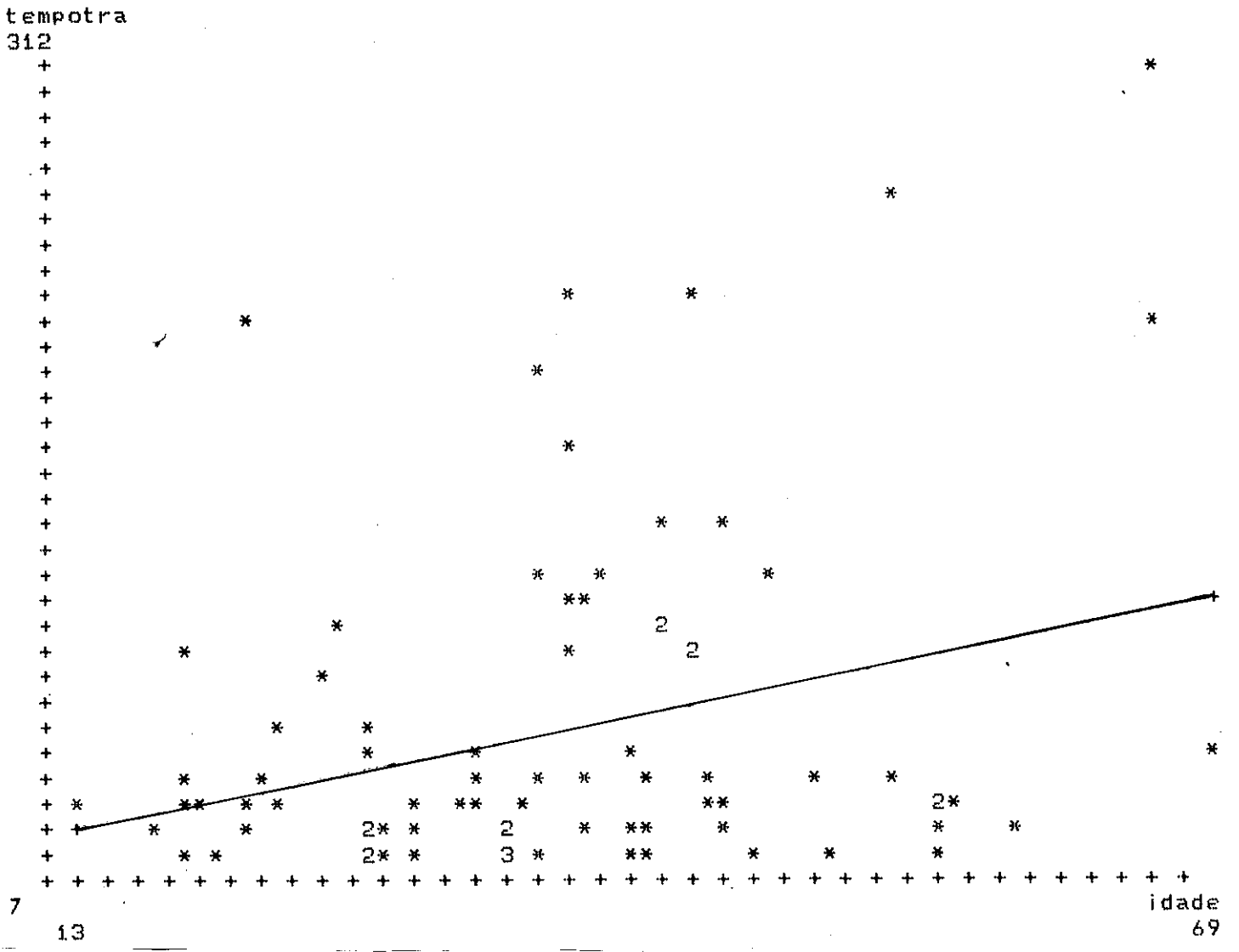
$r=0,1976$, $t=3,32437$, $P<0,001$, $b=0,72979$

3-Reta de Regressão da Correlação entre tempo de tratamento e idade dos pacientes com traço falciforme excluindo-se a sub-amostra < 6 meses de tratamento



$r = -0,7757$, $t = 6,02130$, $P < 0,001$, $b = -1,71445$

4-Reta de Regressão da Correlação entre tempo de tratamento e idade dos pacientes não AS, excluindo-se a sub-amostra com ≤ 6 meses de tratamento



$r=0,2794$, $t=9,82420$, $P<0,001$, $b=1,53309$