

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS

CAMPO GRANDE
2016

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador(a): Profa. Dra Maria Lúcia Ivo

CAMPO GRANDE
2016

FOLHA DE APROVAÇÃO

ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA

DOENÇA FALCIFORME, ZINCO E TBARS

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor.

Orientador(a): Profa. Dra Maria Lúcia Ivo

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Ivo
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof.^a Dr.^a. Loudes Zélia Garcia Zanoni
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Rondon Tosta Ramalho
Professor Convidado
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof.^a Dr.^a. Elenir Rose jardim Cury Pontes
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dr. Wander Fernando de Oliveira Filiú
Professor Convidado
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Prof. Dra. Alexandra Maria Almeida Carvalho
PPG Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

DEDICATÓRIA

A Deus, por tudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus.

À Prof. Dra. Maria Lúcia Ivo pela incrível capacidade de nos ensinar a não desistir, pela tenacidade, pela paciência, pela dedicação, pela bondade, pela humildade.

Aos funcionários do programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste que labutam diariamente com competência para que possamos concretizar nossas expectativas e conquistas profissionais.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste que se dedicam a construir uma sociedade melhor através do compartilhamento de seus valiosos conhecimentos e dedicação a mais valiosa das carreiras.

Aos colegas de pós-graduação pela parceria.

*Quem anda no trilho é trem de ferro.
Sou água que corre entre pedras - liberdade caça jeito.*

Manoel de Barros

*E, aquele
Que não morou nunca em seus próprios abismos
Nem andou em promiscuidade com os seus fantasmas
Não foi marcado. Não será exposto
Às fraquezas, ao desalento, ao amor, ao poema.*

Manoel de Barros

RESUMO

Oliveira, ECL. Doença falciforme, zinco e TBARS. Campo Grande; 2015. [Tese – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

O objetivo principal desse estudo é analisar as concentrações plasmáticas de zinco e TBARS em indivíduos com doença falciforme em uso de hidroxiureia. É um estudo descritivo com corte transversal, de março de 2011 a dezembro de 2015. Vinte e quatro pacientes, homens e mulheres, de Campo Grande, MS, foram estudados quanto aos níveis plasmáticos de TBARS e Zinco. Utilizado o Teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade, Teste t ou Teste Mann Whitney para comparação das médias, e o Teste de Pearson ou Spearman para as correlações ao nível de significância de 5%. Resultados: Os valores de zinco na Doença Falciforme variaram de 36,0 a 74,4mg/L, com média de $50,1 \pm 9,5$ mg/L (DP), os de TBARS variaram de 2,46 a 21,97 μ mol, com média de $9,92 \pm 6,18$ μ mol (DP). Houve forte correlação negativa entre TBARS e HbF ($r=-0,82$). Conclusão: As concentrações plasmáticas de zinco estão reduzidas em relação ao grupo controle na Doença Falciforme, persistência de marcadores de estresse oxidativo (TBARS) mesmo com o uso de hidroxiureia por período prolongado, quanto maior a hemoglobina fetal, menor o estresse oxidativo. Os resultados foram semelhantes aos encontrados na literatura. Apesar do uso regular de Hidroxiureia, o grupo Doença Falciforme teve valores elevados de TBARS e reduzidos de zinco.

Palavras-chave: falciforme, anemia, TBARS, Zinco, estresse oxidativo.

ABSTRACT

Oliveira, ECL. Sickle cell disease, zinc and TBARS. Campo Grande; 2016. [Thesis – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul]

The main objective of this study is to analyze TBARS and zinc plasmatic concentrations in sickle cell disease individuals using hydroxyurea. It is a descriptive cross-sectional study, from March 2011 to December 2015. Twenty-four patients, men and women, from Campo Grande, MS, were studied for plasma levels of TBARS and zinc. Clinical and survival features were reviewed in literature. . To compare the means it was performed the t test or Mann-Whitney test, normality was verified by the Shapiro-Wilk test. For correlations, it was performed Pearson or Spearman test at a significance level of 5%. Results Zinc values ranged from 36.0 to 74,4mg / L, with a mean of $50.1 \pm 9,5$ mg / L (SD), TBARS ranged from 2.46 to 21.97 μ mol with average of 9.92 ± 6.18 μ mol (DP). There was a strong negative correlation between TBARS and HbF ($r = -0.82$). Conclusion: There was a reduction of plasma zinc concentrations in Sickle Cell Disease when compared with control group. Persistence of oxidative stress markers (TBARS) although hydroxyurea uses for a long period of time. The higher fetal hemoglobin, the lower oxidative stress. The results were similar to those observed in the literature. Despite the regular use of Hydroxyurea, the Sickle Cell Disease group had elevated TBARS and reduced zinc.

Keywords: sickle cell, anemia, TBARS, zinc, oxidative stress.

LISTA DE TABELAS

1 –	Tabela 1 - Valor de zinco sérico em indivíduos com doença falciforme e grupo controle, Campo Grande - 2012.....	56
2 –	Tabela 2 – Correlação entre variáveis de estudo (n=24).....	57
3 –	Tabela 3 – Estatística descritiva e comparação entre valores das variáveis de estudo entre os gêneros feminino e masculino (n=24).....	57

LISTA DE FIGURAS

1 -	Tipos de hemoglobinopatias frequentes.....	18
2 -	Representação esquemática da estrutura da hemoglobina A e do grupo heme.....	20
3 -	Representação esquemática das cadeias de polipeptídios que formam a globina.....	21
4 -	Representação esquemática dos clusters das cadeias alfa (abaixo) e beta (acima).....	22
5 -	Representação esquemática do padrão de desenvolvimento da expressão da hemoglobina. (A) “switch” da hemoglobina. (B) Sítios de hematopoiese. (C) Estrutura da hemoglobina. KLF1 e BCL11A são dois fatores de transcrição com papéis-chave na regulação de expressão da hemoglobina.....	23
6 -	Representação esquemática da formação de polímero de HbS e falcização.....	25
7 -	Representação esquemática da mutação genética em DNA e RNAm que resultam na substituição do ácido glutâmico por valina na estrutura primária da beta globina.....	27
8 -	Haplótipos da Hemoglobina S conforme predomínio geográfico e origem genética.....	29
9 -	Esquematização da reação de Fenton intraeritrocitária.....	30
10 -	Causas e fisiopatologia do estresse oxidativo na hemólise, coagulação, inflamação e ativação/dano endotelial resultando em crises vaso-oclusivas dolorosas e lesão isquêmica orgânica na DF.....	35
11 -	Complicações clínicas conforme a faixa etária.....	45
12 -	Representação esquemática da transmissão do gene de hemoglobina S...	62
13 -	Fisiopatologia e manifestações clínicas da anemia falciforme.....	63
14 -	Principais infecções bacterianas em pacientes falciformes segundo a etiologia e idade de maior acometimento.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

OMS -	Organização Mundial de Saúde
TNF -	Necrose Tumor Factor
IL -	Interleucina
INF -	Interferon
DNA -	<i>Desoxirribonucleic acid</i>
Th -	<i>Células T helper</i>
Cu -	Cobre
Zn -	Zinco
SOD -	Superóxido dismutase
Hbs1L	Hbs1-like translational GTPase
MYB	Myeloblastose oncogene
BCL -	B-cell CLL/lymphoma
Xmn HBG2 -	Substituição C-T na posição -158 do gene da Hemoglobina gama 2
HBG2	Hemoglobin subunit gamma-2
GATA -	Fator de transcrição da sequencia de DNA GATA
FOG1 -	Fator de transcrição. Friend of GATA 1.
Mi2 β	Chromodomain Helicase DNA Binding Protein (CHD)
PHHF -	Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal
KLF-1 -	Kruppel-Like Factor 1.
HbF -	Hemoglobina Fetal
HbS -	Hemoglobina Falciforme
HbA2	<i>Hemoglobina Talassemia</i>
HbAS	<i>Hemoglobina Traço falciforme</i>
HbC	<i>Hemoglobina C</i>
HbAC	Hemoglobina <i>Traço C</i>
RNA _m	Acido Ribonucleico Mensageiro
CAR	Republica Centro-Africana
MDA -	Malondialdeído
HuT -	<i>Human T</i>
NF- κ B -	<i>Nuclear factor kappa B.</i>
HDL	<i>High dense lipoprotein</i>

$O_2^{\bullet-}$	Oxigênio
$O_2^{\bullet-}$	Radical superóxido
HO_2^{\bullet}	Radical hidropexila
OH^{\bullet}	Radical hidroxila
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
ROS	Reactive Oxygen Species
SIDA	<i>Síndrome de Imunodeficiência Adquirida</i>
Fe^{2+}	Íon ferroso
ON	Oxido Nítrico
eNOS	Endothelial nitric oxide synthase
RNS	Reactive Nitrogen Species
ETI	Endotelina 1
V CAM	Vascular cell adhesion protein
I CAM	Intercellular Adhesion Molecule
TSP	Trombospondina
OX NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
PS	fosfatidilserina
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
pH	Potencial Hidrogeniônico
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

pH -	Potencial Hidrogeniônico
mg -	Miligramma
dl -	Decilitro
mcg -	Microgramma
Kg -	Kilogramma
μmol -	Micromol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 Hemoglobinopatias	18
2.1.1 Hemoglobina.....	19
2.1.1.1 Hemoglobina Fetal.....	22
2.1.1.2 Hemoglobina A2.....	24
2.1.1.3 Hemoglobina S.....	24
2.1.1.4 Hemoglobina C.....	26
2.1.2 Doença Falciforme.....	26
2.2 Deficiência de zinco	30
2.3 Estresse oxidativo	33
2.4 Tratamento da Doença Falciforme	36
3 OBJETIVOS	38
3.1 Objetivo Geral	38
3.2 Objetivos Específicos	38
4 METODOLOGIA	39
4.1 Tipo de estudo	39
4.2 Sujeitos da pesquisa	39
4.3 Aspectos éticos	39
4.4 Coleta de dados	40
4.5 Avaliação laboratorial	40
4.5.1 Dosagens das concentrações plasmáticas de TBARS.....	40
4.5.2 Dosagens das concentrações plasmáticas de Zinco.....	41
4.6 Análise estatística	42
5 TRABALHOS PRODUZIDOS	43
5.1 Aspectos Clínicos da Doença Falciforme	43
5.2 Doença falciforme: concentração de TBARS e zinco em indivíduos tratados com hidroxiureia	53
5.3 Assistência ao paciente grave com doença falciforme na UTI	61
6.CONCLUSAO	74
REFERÊNCIAS	75

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A., GUINDO, A., CISSOKO, Y., TAYLOR, J. G., COULIBALY, D., KONÉ, A., KAYENTAO, K., DJIMDE, A., PLOWE, C. V., DOUMBO, O., WELLEMS, T. E., DIALLO, D. Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. **Blood**; n. 96, v. 7, p. 2358-2363, 2000.

ALSULTAN, A. I.; SEIF, M. A.; AMIN, T. T.; NABOLI, M.; ALSULIMA; A. M. Relationship between oxidative stress, ferritin and insulin resistance in sickle cell disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, v.14, p. 527-538, 2010.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R./ BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, ago. 2010.

BAO, B.; PRASAD, A. S.; BECK, F. W.; SNELL, D.; SUNEJA, A.; SARKAR, F. H.; DOSHI, N.; FITZGERALD, J. T.; SWERDLOW, P. Zinc supplementation decreases oxidative stress, incidence of infection, and generation of inflammatory cytokines in sickle cell disease patients. **Translational Research**, v. 152, n. 2, p 67-80, 2008.

BONNEFONT, D.; LEGRAND, A.; PEYNET, J.; EMERIT, J.; DELATTRE, J.; GALLI A. Distribution of thiobarbituric acid-reactive substances in lipoproteins and proteins in serum. **Clinical Chemistry**, v.35, p. 2054-2058, 1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Coordenação-Geral de Sangue e Hemoderivados. **Doença falciforme: diretrizes básicas da linha de cuidado / Sickle cell disease: the foundation of basic care. Livrotab., Brasília; Ministério da Saúde; 80 p, 2015.**

BRASIL, Portaria nº 822 de 06 de junho de 2001. **Institui o Programa Nacional de Triagem Neonatal - PNTN**. Diário Oficial da União, 07 jun. 2001, Seção I.

BRASIL, Portaria 2.695 de 23 de dezembro de 2004. **Institui o Projeto Piloto do Programa Nacional de Atenção Integral aos Portadores de Hemoglobinopatias, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 24 dez. 2004, Seção I.

BRASIL, Portaria 2.695 de 23 de dezembro de 2004. **Institui o Projeto Piloto do Programa Nacional de Atenção Integral aos Portadores de Hemoglobinopatias, e dá outras providências**. Diário Oficial da União, 24 dez. 2004, Seção I.

BRASIL, Portaria nº 1018 de 01 de julho de 2005. **Institui no âmbito do Sistema Único de Saúde, o Programa Nacional de Atenção Integral as Pessoas com Doença Falciforme e outras Hemoglobinopatias**. Diário Oficial da União, 02 jul. 2005, Seção I.

BHATNAGAR, S., WADHWA, N., ANEJA, S., LODHA, R., KABRA, S. K., NATCHU, U. C., SOMMERFELT, H., DUTTA, A. K., CHANDRA, J., RATH, B., SHARMA, M., SHARMA, V. K., KUMARI, M., STRAND, T. A. Zinc as adjunct treatment in infants aged between 7 and 120 days with probable serious bacterial infection: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 379, n. 9831, p. 2072-2078, 2012.

BROWN, K. H., RIVERA, J. A. BHUTTA Z, GIBSON RS, KING JC, LÖNNERDAL B, RUEL MT, SANDTRÖM B, WASANTWISUT E, HOTZ C. International Zinc Nutrition Consultative Group (IZiNCG) technical document: Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 25, s. 2, p. S99-S203, 2004.

BUNN H. F, Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 337, n. 11, p. 762-769, 1997.

BUNN, H. F.; FORGET, B. G. **Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects**, Philadelphia: WB Saunders, 1986.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, p 204-206, 2007.

CANTÚ I.; PHILIPSEN, S. Flicking The Switch: Adult Hemoglobin Expression In Erythroid Cells Derived From Cord Blood And Human Induced Pluripotent Stem Cells. **Haematologica**, v. 99, p. 1647-1649, 2014.

CHARACHE, S. Mechanism of action of hydroxyurea in the management of sickle cell anemia in adults. **Seminars in Hematology**, v. 34, p. 15–21.

CHO, C. S. ; KATO, G. J. ; YANG, S. H.; BAE, S. W.; LEE, J. S. ; GLADWIN, M. T.; RHEE, S. G. Hydroxyurea-induced expression of glutathione peroxidase 1 in red blood cells of individuals with sickle cell anemia. **Antioxidant and Redox Signaling**, v. 13, n. 1,p 1-11, jul, 2010.

DALLE-DONNE, I.; ROSSI, R.; COLOMBO, R.; GIUSTARINI, D.; MILZANI, A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. **Clinical chemistry**, v. 52, n. 4, p. 601-623, 2006.

DASGUPTA, T.; FABRY, M. E.; KAUL, D. K. Antisickling property of fetal hemoglobin enhances nitric oxide bioavailability and ameliorates organ oxidative stress in transgenic-knockout sickle mice. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 298, n. 2, p. 394-402, 2010.

EATON, W. A., HOFRICHTER, J. Sickle cell hemoglobin polymerization. **Advances in Protein Chemistry**; Amsterdã, v. 40, p. 63-279, 1990.

EL-SAADANI, M.; ESTERBAUER, H.; EL-SAYED, M.; NASSAR, Y.; JIIRGENS, G. A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent. **Journal of Lipid Research**, v. 30, p. 627-630,1989.

FABRY M. E., KAUL D. K., RAVENTOS-SUAREZ C., CHANG, H., NAGEL, R. L., SC erythrocytes have an abnormally high intracellular hemoglobin concentration. Pathophysiological consequences. **The Journal of Clinical Investigation**, n. 70, v. 6, p. 1315-1319, 1982.

FELIZ, A. A., SOUZA, H. M., RIBEIRO, S. B. F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Ribeirão Preto, v. 32, n. 3, p.203-208, 2010.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 61-68, mar. 1997.

GLADWIN, M. T.; SHELHAMER, J. H.; OGNIBENE, F.P.; PEASE-FYE, M. E.; NICHOLS, J. S.; LINK, B.; PATEL, D. B.; JANKOWSKI, M.A.; PANNELL, L. K.; SCHECHTER, A. N.; RODGERS, G. P. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 116, n. 2, p. 436–444, 2002.

HARDISON, R. C., CHUI, D. H., RIEMER, C., GIARDINE, B., LEHVÄSLAIHO, H., WAJCMAN, H., MILLER, W. Databases of human hemoglobin variants and other resources at the globin gene server. **Hemoglobin**; v. 25, p.183-193, 2001.

HAMBIDGE, M., Human Zinc Deficiency. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1344S-1349S, 2000.

HASANATO, R. M. W. Zinc and antioxidant vitamin deficiency in patients with severe sickle cell anemia. **Annals of Saudi Medicine**, v. 26, n.1, p. 17-21, 2006.

HEBBEL, R. P. Pathobiology of Sickle Cell Disease. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013, p.536-547.

HIRSCH, R. E., RAVENTOS-SUAREZ, C., OLSON J. A., NAGEL R. L. Ligand state of intraerythrocytic circulating hbc crystals in homozygote cc patients. **Blood**. n. 66, v 4, p. 775-777, 1985.

HOVING, E. B.; LAING, C.; RUTGERS, H. M.; TEELER, M.; van DOORMAAL, J. J.; MUSKIET, F. A. J. Optimized determination of malondialdehyde in plasmalipid extracts using 1,3-diethyl-2-thiobarbituric acid: influence of detection method and relations with lipids and fatty acids in plasma from healthy adults. **Clinica Chimica Acta**, v.208, p. 63-76, 1992.

HYACINTH, H. I.; GEE, B. E.; HIBBERT, J. M. The Role of Nutrition in Sickle Cell Disease. **Nutrition and Metabolic Insights**, v.3, p. 57-67, 2010.

ITALIA, K.; COLAH, R.; GHOSH K.; Hydroxyurea Could Be a Good Clinically Relevant Iron Chelator. **PLoS ONE**, v. 8, n. 12, e82928. doi:10.1371/journal.pone.0082928, jul, 2013.

KING J. C., COUSINS R. J. Zinc. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. **Modern Nutrition in Health and Disease**. 10th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; p. 271-285, 2006.

KNIGHT, J. A.; SMITH, S. E.; KINDER, V. E.; ANSTALL, H. B. Reference intervals for plasma lipoperoxides: age-, sex-, and specimen-related variations. **Clinical Chemistry**, v. 33, p. 2289-2291, 1987.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidativo e atividade física. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 4, p. 433-441, dez. 2003.

LEFÈVRE, G.; BELJEAN-LEYMARIE, M.; BEYERLE, F.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; CRISTOL, J. P.; THÉRON, P.; TORREILLES, J. Evaluation of lipid peroxidation by measuring thiobarbituric acid reactive substances. **Annales de Biologie Clinique**, v. 56, n. 3, p. 305-319, 1998.

LEONARD, M. B.; ZEMEL, B. S.; KAWCHAK, D. A.; OHENE-FREMPONG, K.; VIRGINIA, V. Plasma zinc status, growth, and maturation in children with sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, v.132, n. 3, p. 467-471, 1998.

LONDERO D.; GRECO, P.L. Automated high-performance liquid chromatographic separation with spectrofluorometric detection of a malondialdehydethiobarbituric acid adduct in plasma. **Journal of Chromatography A**, v.729, p.207-210, 1996.

MACLEAN, K.H., CLEVELAND J.L., PORTER J.B., Cellular zinc content is a major determinant of iron chelator-induced apoptosis of thymocytes. **Blood: the journal of hematology**, New York, v. 98, n. 13, p. 3831-3839, 2001.

MAIER-REDELSPERGER, M.; DE MONTALEMBERT, M.; FLAHAULT, A.; NEONATO, M. G.; DUCROCQ, R.; MASSON, M. P.; GIROT, R.; ELION, J. Fetal hemoglobin and F-cell responses to long-term hydroxyurea treatment in young sickle cell patients. The French Study Group on Sickle Cell Disease. **Blood**, v. 91, n. 12, p. 4472-4479, 1998.

MAO, J.; ZHANG, H.; LUO, J.; LI, L.; ZHAO, R.; ZHANG, R.; LIU, G. New method for HPLC separation and fluorescence detection of malonaldehyde in normal human plasma. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.832, n.1, p.103-108, 2006.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. Anatomia e Fisiologia. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008

NAGEL, R. L., JOHNSON, J., BOOKCHIN, R. M., GAREL, M. C., ROSA, J., SCHILIRO, G., WAJCMAN, H., LABIE, D., MOO-PENN, W., CASTRO, O. Beta-chain contact sites in the haemoglobin S polymer. **Nature**, Nova York, v. 283, n. 5750, p. 283-287, 1980.

NARKEWICZ MR, KREBS N, KARRER F, ORBAN-ELLER, K., SOKOL, R. Correction of hypozincemia following liver transplantation in children is associated with reduced urinary zinc loss. **Hepatology**; v. 29, n 3, p. 830-833, 1999.

NASSER, A. L. M.; DOURADO, G. K.; MANJATE, D. A.; CARLOS, I. Z.; CESAR, T. B. Avaliação do estresse oxidativo no sangue de consumidores habituais de suco de laranja. **Revista de Ciências Farmacológicas Básicas e Aplicadas**, v. 32, n. 2p. 275-279, 2011.

NUR, E., BIEMOND, B. J., OTTEN, H. M., BRANSJES, D. P., SHONOG, J. J. B. Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. **American Journal of Hematology**, New York, v. 86, n. 6, p. 484-489, 2011.

PERCÁRIO S., VITAL A.C.C., JABLONKA F. **Dosagem do malondialdeído**. Newslab. v. 2, n. 6, p. 46-50, 1994.

PERUTZ, M. F. Molecular anatomy, physiology, and pathology of hemoglobin. In: **The Molecular Basis of Blood Disorders**, Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, et al. (Eds), WB Saunders: Philadelphia 1987. p.127.

PILZ, J.; MEINEKE, I.; GLEITER, C. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by highperformance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.742, p.315-325, 2000.

PLATT, O. S.; ORKIN, S. H.; DOVER, G.; BEARDSLEY, G. P.; MILLER, B; NATHAN, D. G. Hydroxyurea enhances fetal hemoglobin production in sickle cell anemia. **Journal of Clinical Investigation**, v. 74, n. 2, p 652-656, 1984.

PRASAD, A. S. J. Discovery of human zinc deficiency: 50 years later. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. v. 26, n. 2-3, p. 66-69, 2012.

PRASAD, A.S., BECK, F. W., BAO, B., FITZGERALD, J. T., SNELL, D. C., STEINBERG, J. .D, CARDOZO, L. J. Zinc supplementation decreases incidence of infections in the elderly: effect of zinc on generation of cytokines and oxidative stress. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 85, n.83, p. 837-844, 2007.

PRASAD, A. S. Zinc deficiency in patients with sickle cell disease. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 75, n. 2, p 181-182, 2002

PRASAD, A. S. Clinical manifestations of zinc deficiency. **Annual Revision of Nutrition**, v.5, p 341-363, 1985.

PRASAD, A. S., HALSTED, J. A., NADIMI, M. Nutrition Classics – The American Journal of Medicine: Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. **Nutrition Review**, v. 41, n. 7, p. 220-223, jul. 1983

PRASAD, A. S.; SCHOOMAKER, E.B.; ORTEGA, J.; BREWER, G. J.; OBERLEAS, D.; OELSHLEGEL JR, F.J. Zinc Deficiency in Sickle Cell Disease. **Clinical chemistry**, v. 21, n. 4,1975.

POWELL, S. R.; The Antioxidant Properties of Zinc. **Journal of Nutrition**. v. 130, n. 5, p.1447S-1454S, 2000.

POWARS, D. R.; WEISS, J. N.; CHAN, L. S.; SCHROEDER, W. A. Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle cell anemia? **Blood**, v. 63, n. 4, p. 921-926, 1984.

RANNEY, H. M., SHARMA, V. Structure and function of hemoglobin. In: BEUTLER, E., LICHTMAN, M. A., COLLER, B.S., KIPPS, SELINSOHN, U. **Williams Hematology**. 6 ed. New York: MacGraw-Hill; 2001. p. 345-353.

REPKA, T., HEBBEL, R.P.; Hydroxyl Radical Formation by Sickle Erythrocyte Membranes: Role of Pathologic Iron Deposits and Cytoplasmic Reducing Agents. **Blood: the journal of hematology**, v. 15, n. 10, p. 2753-2758,1991.

RICHARD, M. J; GUIRAUD, P.; MEO, J.; FAVIER, A. High-performance liquid chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct in biological materials (plasma and human cells) using a commercially available reagent. **Journal of Chromatography**, v.557, p. 9-18, 1992.

RINK, L., KIRCHNER H.; Zinc-Altered Immune Function and Cytokine Production. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 130, n. 5, p. 1407S-1411S, 2000.

RODGERS, G. P.; DOVER, G. J.; UYESAKA, N.; NOGUCHI, C. T.; SCHECHTER, A. N.; NIENHUIS, A. W. Hematologic responses of patients with sickle cell disease to treatment with hydroxyurea. **New England Journal of Medicine**, v. 322, p.1037-1045, 1990.

ROY, S. K., TOMKINS, A. M., MAHALANABIS, D., AKRAMUZZAMAN, S. M., HAIDER, R., BEHRENS, R. H., FUCHS, G. Impact of zinc supplementation on persistent diarrhoea in malnourished Bangladeshi children. **Acta Paediatrica**; v. 87, n. 12, p.1235-1239, 1998.

RUND, D., RACHMILEWITZ E., B- Talassemia. **New England Journal of Medicine**, Boston, v.353, n. 11, p.1135-1146, 2005.

SAUNTHARARAJAH, Y., VICHINSKY, E. P. Sickle Cell Disease: Clinical Features and Management. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013. p. 548-572.

SENA, K. C. M.; PEDROSA L. F. C.; Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 251-259, 2005.

SILVA, D. G.; BELINI JUNIOR, E.; CARROCINI, G. C.; TORRES, L.; RICCI JÚNIOR, O.; LOBO, C. L; BONINI-DOMINGOS, C. R.; ALMEIDA, E. A. Genetic and biochemical markers of hydroxyurea therapeutic response in sickle cell anemia. **BMC Medical Genetics**, v. 14, n.108, 2013.

SIM, A. S.; SALONIKAS, C.; NAIDOO, D.; WILCKEN, D. E. L. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**, v.785, p.337-344, 2003.

STEINBERG, M.H., BENZ, E. J., ADEWOYE, A. H., EBERT, B. L. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. In: HOFFMAN, R., BENZ, J. E., SILBERSTEIN, L. E., HESLOP, H. E., WEITZ, J. I., ANASTASI, J. **Hematology Basic principles and practice**. 6 ed. Filadelfia: Elsevier; 2013. p.406-417.

STEGHENS, J.P.; KAPPEL, A.L.V.; DENIS, I.;COLLOMBEL, C. Diaminonaphtalene, a new highly specific reagent for HPLC-UV measurement of total and free malondialdehyde in human plasma or serum. **Free Radical Biology and Medicine**, v.31, n.2, p.242-249, 2001.

THAKUR A. S.; KHAN, Y.; LITTARRU, G. P. TBARS level in socioeconomical poor rural sickle cell patients of Bilaspur zone of Chhattisgarh state. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 3, p 141-145, 2011.

TORRES, L. S.; SILVA, D. G. H.; BELINI JUNIOR, E.; ALMEIDA, E. A.; LOBO, C. L. C.; CANÇADO, R. D.; RUIZ, M. A.; BONINI-DOMINGOS, C. R. The influence of hydroxyurea on oxidative stress in sickle cell anemia, **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 34,n. 6, p.421-425, 2012

UNDERWOOD, E. J. **Trace elements in human and animal nutrition**. 4 ed. Elsevier Science & Technology, New York. 1977

WALSH, C.T.; SANDSTEAD, H. H.; PRASAD, A. S.; NEWBERNE, P. M.; FRAKER, P. J. Zinc: Health Effects and Research Priorities for the 1990s. **Environmental Health Perspective**, Triangle Park, v. 120, n. 2, p. 5-46, 1994.

WASOWICZ, W.; NÈVE, J.; PERETZ, A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum: importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. **Clinical Chemistry**, v. 39, n12, p. 2522-2526, dec., 1993.

WEBER, G. F. **Molecular Therapies of Cancer**. Ohio. Springer, 2015, p. 102.

WINTER, W. P. **A Brief History of Sickle Cell Disease** [on line]. [acesso em 21 de abril de 2010]. Disponível em: <http://www.sicklecell.howard.edu/ABriefHistoryofSickleCellDisease.htm>

YAGI, K. A simple fluorometric assay for lipoperoxide in blood plasma. **Biochemichal Medicine**, n.15, p.212-216, 1976.

ZAGO, M.A., COSTA, F.F. Hereditary haemoglobin disorders in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v, 79, n. 3, p. 385-388, 1985.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Hematologia: fundamentos e prática.**
- São Paulo: Editora Atheneu, 2004

ZEMEL, B. S.; KAWCHAK, D. A.; FUNG, E. B.; OHENE-FREMPONG, K.;
STALLINGS, V. A. Effect of zinc supplementation on growth and body composition in
children with sickle cell disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, v. 75, p. 300-
307, 2002.