

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS E TOXICOLÓGICAS - DACT/FFOE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA CLÍNICA - DMC/FM
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ - HEMOCE

***Frequência de Hemoglobina Fetal em Pacientes Com
Insuficiência Renal Crônica em Uso de Eritropoetina
Humana Recombinante.***

Rosângela Macêdo de Araújo

Fortaleza - CE
1999

Rosângela Macêdo de Araújo

**Frequência de Hemoglobina Fetal em Pacientes Com
Insuficiência Renal Crônica em Uso de Eritropoetina
Humana Recombinante.**

**Trabalho realizado como requisito final do
XIII Curso de Especialização em
Hematologia e Hemoterapia.**

Orientadores:

**Dra. Alana J. Montenegro de Castro
Médica Hematologista - HUWC**

**Dra. Sônia Leite da Silva
Médica Nefrologista - HUWC**

**Dr. Henry Campos
Médico Nefrologista - HUWC**

AGRADECIMENTOS

- A Dra. Fc^a Vânia Barreto de Aguiar Ferreira Gomes pela coordenação do curso.
- A Dra. Alana J. Montenegro de Castro pela idealização e orientação deste meu trabalho.
- Às farmacêuticas-bioquímicas Fátima Marques Barros e Rita Marinei de Vasconcelos Coelho ambas do Laboratório de Hemoglobina do HEMOCE, pela ajuda irrecompensável na realização do trabalho.
- À Célia Gomes Nunes pela presteza e companheirismo.
- Ao meu esposo e meus filhos que muito me incentivaram durante esta batalha.
- Ao Dr. Raimundo Apoliano, diretor do HEMOCE-CRATO, pelo seu incentivo maior na realização deste curso.

DEDICATÓRIA

Este trabalho foi dedicado à memória de meu pai querido que partiu para junto do Pai Eterno para que de lá possa nos iluminar com sua luz divina.

SUMÁRIO

	Resumo	
01	Introdução	07
02	Revisão de Literatura	09
03	Material e Métodos	13
04	Resultados	17
05	Discussão	22
06	Conclusão	23
	Summary	24
	Referências Bibliográficas	25

***Frequência de Hemoglobina Fetal em Pacientes com Insuficiência Renal
Crônica em Uso de Eritropoetina Humana Recombinante.***

RESUMO

Em dois Centros de Hemodiálise de Fortaleza, Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) e Santa Casa de Misericórdia, foram estudados cento e vinte pacientes anêmicos, com idade média de quarenta e dois anos, em tratamento com eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu), para avaliar os níveis de hemoglobina fetal.

Dos cento e vinte pacientes estudados, noventa e quatro (78,33% dos casos) apresentaram uma dosagem de hemoglobina fetal entre 1,0 e 2,0% (valores normais até 1,0%).

Então, eritropoetina humana recombinante, hoje usada na terapia de anemia da insuficiência renal crônica, pode elevar os níveis de hemoglobina fetal.

1 INTRODUÇÃO

A associação entre anemia e insuficiência renal crônica é um fato conhecido a muito tempo e, dentre as alterações encontradas no paciente urêmico a anemia é a mais constante e a responsável por grande parte da sintomatologia por ele referida ^(5, 22).

A anemia da insuficiência renal crônica é devida principalmente à produção insuficiente de eritropoetina pelos rins lesados. E com o uso da eritropoetina humana recombinante, os pacientes portadores de insuficiência renal crônica submetidos à hemodiálise, vem tendo uma resposta significativa, eliminando a necessidade de transfusões sanguíneas e tendo uma considerável melhora na qualidade de vida desses pacientes ^(6, 8).

A eritropoetina na sua forma recombinante é capaz de estimular a medula, aumentando a sua eritropoese e, conseqüentemente, o número de células vermelhas circulantes e aumenta o número de células produtoras de hemoglobina fetal, atuando como um agente ciclo-dependente modificando a expressão dos genes da globina ^(6, 8).

O presente trabalho tem como objetivo verificar os valores de hemoglobina fetal nos pacientes portadores de insuficiência renal crônica, mantidos em programa de hemodiálise em tratamento com eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu), em dois centros dialíticos em Fortaleza.

A dosagem de hemoglobina fetal desses pacientes foi realizada pelo método de BETKE, no qual é adicionada uma determinada quantidade de solução alcalina em uma concentração conhecida de hemolisado. Após um tempo específico, a desnaturação é bloqueada por

adição de Sulfato de amônio saturado ou parcialmente saturado. O Sulfato de amônio diminui o pH e precipita a hemoglobina desnaturada. Após a filtração, a quantidade de hemoglobina inalterada é avaliada e expressa como hemoglobina álcali-resistente ou hemoglobina fetal em valores percentuais, sendo para o método utilizado, valores normais em adultos de até 1,0% ⁽¹⁷⁾.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A eritropoetina é um hormônio glicoprotéico de 34 kD, cujo estudo inicialmente era dificultado pela sua escassez. Isto foi possível a partir de 1977, quando MIYAKE e col. purificaram o hormônio em urina de indivíduos com anemia aplástica. À seguir, com o sequenciamento parcial dos aminoácidos da EPO urinária, foi possível a identificação e clonagem do genoma do DNA humano responsável pela sua produção. O gene clonado foi expresso em células de ovários de hamsters chineses, permitindo a síntese de quantidades em massa, possibilitando o seu estudo ^(8, 16, 20).

O sítio primário da produção deste hormônio na vida fetal são os macrófagos hepáticos; a partir do terceiro trimestre, ocorre uma transferência desta síntese para as células peritubulares renais. Este processo parece ser geneticamente determinado ^(8, 16, 20).

Aparentemente, o fígado tem uma sensibilidade à hipóxia diminuída, através da comparação das quantidades de eritropoetina produzidas entre ele e os rins, sendo apenas 10% da produção renal mediante o mesmo estímulo hipóxico. Além disso, o fígado requer maior tempo de exposição ao estímulo. Este fato tem o seu papel em evitar a policitemia e os seus efeitos deletéricos na vida intrauterina, e pode ser explicado através da circulação. No feto, o sangue oxigenado da placenta chega via veia umbilical ao fígado e grande parte dele viaja através do ducto venoso direto para o coração. Ao final do terceiro trimestre, o ducto venoso torna-se estreito e, como consequência, há um aumento da quantidade de oxigênio que chega ao fígado. Esta constricção do ducto venoso correlaciona-se temporariamente com a transferência do sítio de produção

da eritropoetina do fígado aos rins. Após o nascimento, o fluxo placentário cessa e fecha o ducto venoso; desta forma, o sangue hepático é suprido pela artéria hepática e veia porta, com pequena concentração de oxigênio; enquanto isso, há um aumento do volume e concentração sanguínea de oxigênio para os rins ^(8, 16, 20).

Não existem estoques pré-fabricados de eritropoetina. A sua resposta relaciona-se diretamente ao grau de hipóxia que o organismo experimenta, levando à produção de novo de RNA mensageiro específico ^(8, 16, 20).

O mecanismo exato da ação do sensor de oxigênio ainda não é claro. Uma proteína contendo o grupo heme é exposta na superfície das células produtoras de EPO e é sensível às mudanças de tensão de oxigênio ^(8, 16, 20).

Após a sua secreção, a EPO liga-se à superfície de células progenitoras eritróides, estimulando a sua proliferação e diferenciação. Dois tipos de receptores, pelo menos, são citados nas células alvo. A responsividade celular à EPO relaciona-se ao número de receptores expostos. O efeito intracelular após a ligação hormônio-receptor é desconhecido, estando em investigação a existência de segundos mensageiros. Alguns autores postulam a influência da variação do cálcio intracelular como mediador da ação da EPO nos precursores eritróides ^(8, 16, 20).

A EPO regula a velocidade de produção de células vermelhas pela medula óssea, o tempo de sua resposta frente ao estímulo hipóxico é de cerca de um dia; a partir de então, existe um intervalo de uma semana

para a maturação dos precursores eritróides, levando ao aumento do hematócrito. Em condições basais, a sua concentração é de 10 a 20 mU/ml em pacientes saudáveis, e é responsável pela reposição de 1% do volume de células vermelhas circulantes, que é eliminado diariamente pelo sistema retículo-endotelial ^(8, 16, 20).

A hemoglobina é constituída por um arranjo de quatro cadeias. Dessas quatro, a cadeia alfa representa obrigatoriamente a metade. As outras duas podem ser beta, delta ou gama. No adulto há predomínio absoluto da hemoglobina com duas cadeias alfa e duas cadeias beta, dita $\alpha^2 \beta^2$, a denominada hemoglobina A. Também existe uma pequena percentagem de hemoglobina $\alpha^2 \gamma^2$, denominada de hemoglobina A₂. No feto encontra-se uma hemoglobina com dissociação gasosa adequada às trocas impróprias à vida intra-uterina, a hemoglobina $\alpha^2 \lambda^2$, denominada hemoglobina fetal. Esta persiste em cifras decrescentes após o nascimento e é apenas encontrada como traços (índices inferiores a 1,0%) no adolescente e na vida adulta e caracteriza-se por ser resistente à desnaturação de álcalis ^(16, 20, 28, 31).

Algumas patologias podem estar associadas ao aumento da hemoglobina fetal, tais como as talassemias α e β , anemia falciforme, hipertiroidismo, miastenia gravis, doenças mielóides e outras ^(18, 19).

No diabetes a associação ocorre de maneira contrária. Acredita-se que a eritropoetina e a hiperglicemia atuam de modo diferente na célula precursora eritróide (BFU-E). A eritropoetina estimulando as divisões celulares tendo como consequência maior ou menor número de hemácias circulantes. A hiperglicemia interferindo na diminuição da produção de

hemoglobina fetal. Com isso, o padrão de formação de hemoglobina F no tecido adulto hematopoético pode ser reversível na dependência do ambiente metabólico celular ^(7, 19).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Cento e vinte pacientes portadores de insuficiência renal crônica, foram estudados num período de outubro a dezembro de 1998. A idade variou de dezesseis a setenta e seis anos (média: $42 \pm 13,5$ anos), dos quais sessenta e dois eram do sexo masculino. Todos estavam em programa de hemodiálise nos centros dialíticos do Hospital Universitário Walter Cantídio e Santa Casa de Misericórdia, ambos situados em Fortaleza-Ceará. O programa constava de três meses a dezoito anos (média: $3,6 \pm 0,21$ anos). Nos três meses que antecederam o referido estudo, nenhum paciente havia recebido transfusão sangüínea. A doença renal primária era glomerulonefrite crônica em vinte pacientes, nefrosclerose hipertensiva em dezesseis, lúpus eritematoso sistêmico em nove, rins policísticos em sete, nefropatia diabética em seis, nefrite familiar em seis e insuficiência renal crônica de causa não determinada nos demais cinquenta e seis casos.

Não houve critérios de exclusão de pacientes nesses dois centros, já que todos freqüentavam as sessões de hemodiálise três vezes por semana e faziam uso de eritropoetina humana recombinante. Alguns usavam suplemento de ferro oral e/ou drogas hipotensoras. Antes do início do estudo, cada paciente fora informado e obtivemos seu consentimento por escrito.

A avaliação bioquímica constituiu-se de hematócrito, hemoglobina, cálcio, albumina, fósforo e ferro séricos, índice de saturação de transferrina e capacidade de fixação do ferro que foram obtidos de cada prontuário, com datas de realização recentes.

A eritropoetina recombinante humana utilizada no tratamento desses pacientes foi produzida por técnica de DNA recombinante, fornecida em solução tamponada e estéril, na concentração de 3.000U/ml (EPREX^R). Conservada sob temperatura entre 4 e 8° antes de seu uso. Administrava-se dose média de 80U/kg peso por via intravenosa, ao término de cada sessão de hemodiálise, três vezes por semana.

As amostras para estudo foram obtidas por ocasião de punção da fístula arteriovenosa. Eram colhidos 3,0 ml de sangue em tubos vacutainer contendo EDTA, com identificação prévia, utilizando-se seringas descartáveis de 3,0 ml. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Hemoglobina do HEMOCE, onde foram realizados os procedimentos para dosagem de hemoglobina fetal. Para obtenção do hemolisado, o sangue era centrifugado a 1.500 r.p.m. por cinco minutos. Retirado o plasma, as hemácias eram lavadas por três vezes com solução salina a 0,85%, centrifugados nas mesmas condições e desprezado o sobrenadante. Ao volume de hemácias lavadas, era adicionado um outro de água destilada, homogeneizado e a seguir acrescentado um volume de clorofórmio, idêntico ao do hemolisado formado. Agitado vigorosamente e centrifugado a 2.000 r.p.m. durante quinze minutos. A solução de hemoglobina sobrenadante ou hemolisado, era retirada por meio de pipeta de Pasteur e transferida para um tubo limpo, estéril e identificado previamente.

A dosagem de hemoglobina fetal foi realizada por meio da técnica de BETKE, que tem como princípio o fato de a hemoglobina fetal ser mais resistente à desnaturação por soluções fortemente alcalinas do que as outras hemoglobinas.

Para execução do trabalho foram utilizados um espectrofotômetro,

pipetas de 1,0, 2,0, 5,0 e 10,0 ml . Pipetador automático, cronômetro, papel de filtro (Whatman nº 1, S&S, Toyo), tubos 17 x 100 mm, funis pequenos e as soluções de Drabkin (Cianeto), NaOH 1,2N e solução saturada de Sulfato de amônio.

Para realização da técnica citada, diluímos 0,6 ml da solução de hemoglobina em um tubo contendo 10,0 ml da solução de Drabkin e homogeneizamos por inversão. Colocamos 5,6 ml da solução de hemoglobina diluída em um tubo rotulado "Hb fetal". Adicionamos 0,4 ml da solução de NaOH 1,2N acionando-se o cronômetro, agitamos cuidadosamente por 10 segundos o tubo. Ao final de dois minutos exatos, adicionamos 4,0ml da solução saturada de Sulfato de amônio. Homogeneizamos por inversão e deixamos em repouso por cinco a dez minutos, no máximo. Filtramos o conteúdo do tubo "Hb fetal" em duplo papel de filtro. Preparamos a solução padrão colocando em um tubo de ensaio 1,4 ml da solução de hemoglobina antes diluída, 0,1 ml de água destilada e 1,0 ml da solução saturada de Sulfato de amônio. Homogeneizamos e transferimos 1,0 ml dessa solução para um outro tubo, adicionamos 9,0 ml da solução de Drabkin. As densidades ópticas do tubo "Hb Fetal" e o tubo "Padrão" foram lidas em 540 nm, contra um branco de solução de Drabkin.

Os cálculos foram feitos através da fórmula:

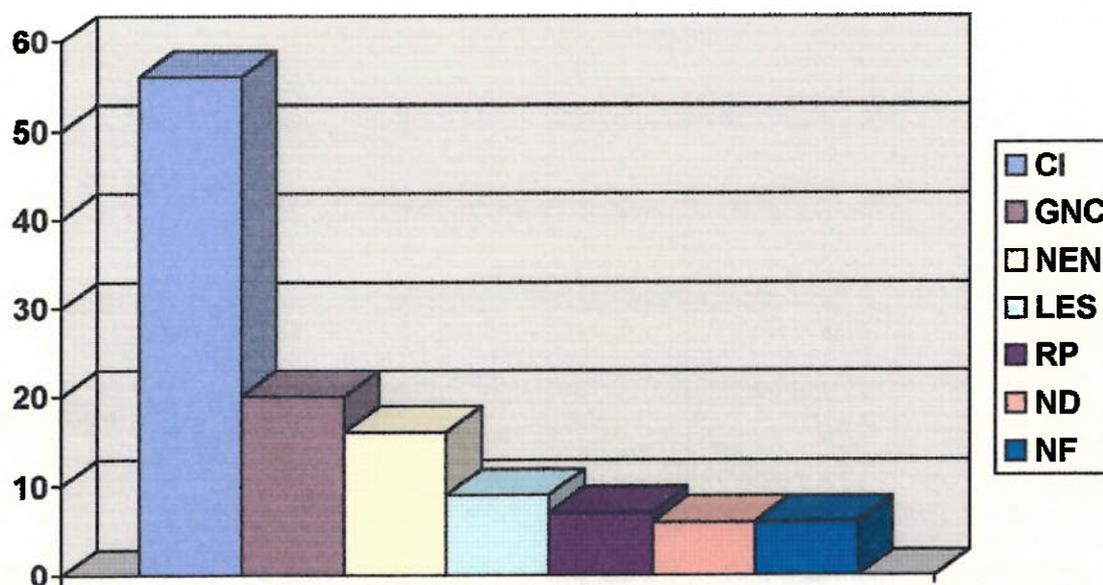
$$\% \text{ Hb Fetal} = \frac{\text{D.O. Hb Fetal}}{\text{D.O. Padrão} \times 10} \times 100$$

Foi formado um grupo controle constituído por vinte indivíduos normais, doadores de sangue do HEMOCE-Fortaleza, que apresentaram níveis máximos de Hb fetal de 1,0% (média: $0,69 \pm 0,1\%$)

4 RESULTADOS

Todos os pacientes estudados frequentavam rigorosamente os centros de diálise três vezes por semana. E ao investigar a origem da insuficiência renal nesses pacientes, apenas 53% deles apresentaram em seus prontuários uma causa definida da doença, como está representado na figura 1. E os níveis de hemoglobina fetal desses pacientes estão demonstrados na tabela 1.

FIGURA 1



CI	=	Causa indeterminada
GNC	=	Glomerulonefrite crônica
NEN	=	Nefrosclerose hipertensiva
LES	=	Lúpus eritematoso sistêmico
RP	=	Rins policísticos
ND	=	Nefropatia diabética
NF	=	Nefrite familiar

Histograma do número de casos, segundo a origem da insuficiência renal crônica.

TABELA I - Distribuição de frequência dos níveis de hemoglobina fetal (HbF) segundo a origem da insuficiência renal crônica (IRC).

ORIGEM DA IRC	NÍVEIS DE HbF (\bar{x}) %
Glomerulonefrite crônica	1,24
Rins policísticos	1,35
Lúpus eritematoso sistêmico	1,35
Nefroesclerose hipertensiva	1,31
Nefrite familiar	1,12
Indeterminada	1,01

Notamos que os níveis de hemoglobina fetal apresentaram-se superiores a 1%, sendo este o limite considerável normal pela literatura atual.

No grupo controle estudado, usado para confirmar os dados apresentados pela literatura, esse nível obteve uma média de $0,69 \pm 0,10\%$.

Os exames laboratoriais obtidos através dos prontuários dos pacientes apresentaram os valores assim apresentados na tabela 2.

TABELA II - Dados laboratoriais relacionados aos índices de normalidade.

EXAMES	VALORES OBTIDOS DOS PACIENTES (X)	VALORES NORMAIS
Hematócrito (Ht)	31,36%	36-48% (mulheres) 40-54% (homens)
Hemoglobina (Hb)	11,00g%	12-16g% (mulheres) 14-18g% (homens)
Ferro sérico (FeS)	76,25mcg/dl	37-148mcg/dl (mulheres) 59-158mcg/dl (homens)
Capacidade total de fixação do ferro (CTFFe)	266,70mcg/dl	250-350mcg/dl (mulheres) 300-400mcg/dl (homens)
Índice de saturação de transferrina (IST)	27,36%	20-50%
Cálcio sérico (Ca)	8,55mg/dl	8,4-10,6mg/dl
Albumina sérica (Alb)	3,82mg/dl	3,5-5,0g/dl
Fósforo sérico (P)	3,57mg/dl	2,5-4,5mg/dl

Os valores de hematócrito e hemoglobina apresentaram-se em níveis inferiores aos estabelecidos para normalidade, indicando portanto sinais de anemia. O ferro sérico, capacidade total de fixação do ferro e índice de saturação de transferrina mostraram-se dentro dos limites normais, haja visto a maioria desses pacientes fazerem uso de

suplementação de ferro, indicando assim uma boa resposta medular. O cálcio, albumina e fósforo séricos apresentaram-se em valores aceitáveis.

Os níveis de hemoglobina fetal mostraram-se elevados (acima de 1%) em mais de 50% dos pacientes estudados, assim apresentados na tabela 3. E a relação entre estes e o tempo de uso da eritropoetina humana recombinante está representada na figura 2.

TABELA III - Distribuição de frequências de hemoglobina fetal (HbF).

Hb fetal (%)	Ponto médio	Frequência	Frequência relativa (%)
0,0 ─ 0,5	0,25	02	1,67
0,5 ─ 1,0	0,75	24	20,00
1,0 ─ 1,5	1,25	70	58,33
1,5 ─ 2,0	1,75	24	20,00
TOTAL		120	100,0

FIGURA 2

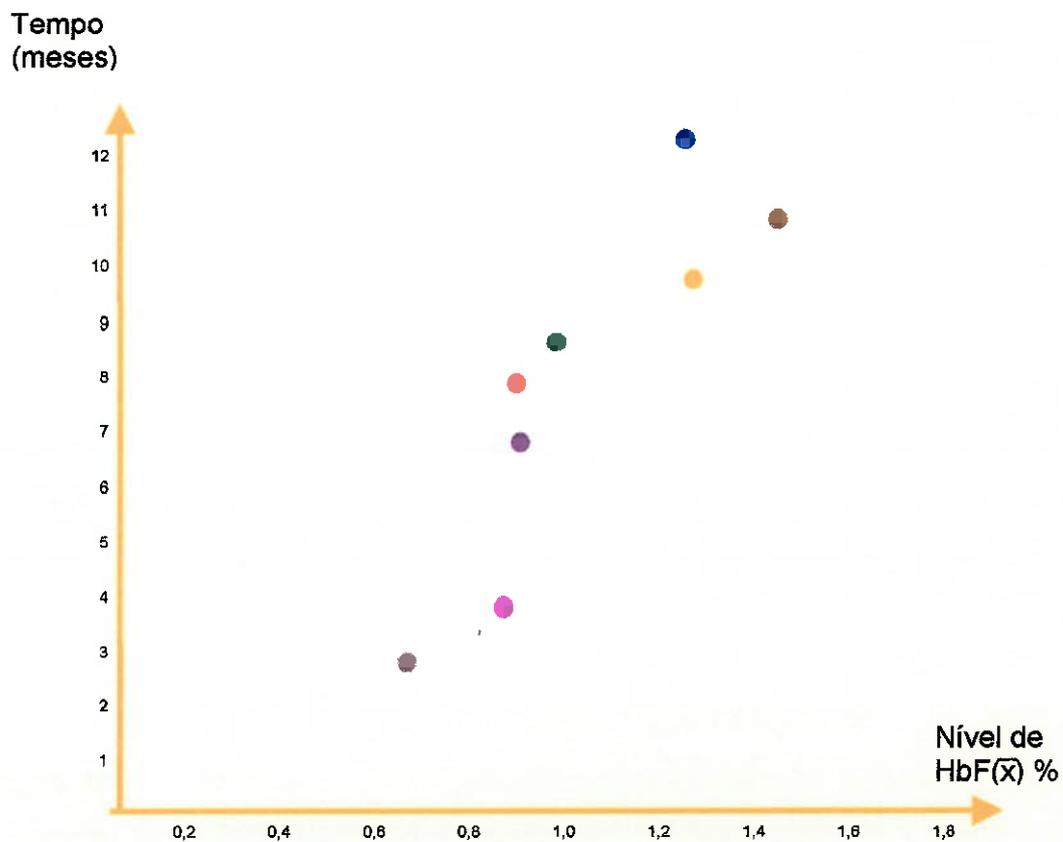


Diagrama de dispersão para níveis de hemoglobina fetal (HbF) e tempo de uso de eritropoetina humana recombinante.

Podemos observar numa correlação positiva entre as duas variáveis, em que o nível de HbF é maior à medida que o tempo de uso do hormônio aumenta.

5 DISCUSSÃO

O termo anemia de insuficiência renal crônica refere-se à anemia que resulta diretamente da insuficiência das funções endócrinas e excretórias do rim, sendo este a principal fonte de eritropoetina e, a capacidade de secretar esse hormônio é perdida à medida que o rim falha (16).

Os valores de ferro sérico variam consideravelmente na doença crônica, portanto uma grande maioria (94%) do grupo estudado fazia uso de suplemento de ferro. Isso deve-se ao fato de que os níveis de ferritina sérica apresentavam-se baixos no início do tratamento com eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu).

Os níveis de hemoglobina fetal apresentaram-se mais elevados naqueles pacientes cuja causa primária da insuficiência renal crônica era rins policísticos, nefrosclerose hipertensiva e lúpus eritematoso sistêmico.

Relacionando-se os níveis de hemoglobina fetal com o tempo de uso da eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu), verificamos que os pacientes que fizeram uso desse hormônio há um tempo maior apresentaram uma elevação desses valores.

Tendo em vista noventa e quatro dos cento e vinte pacientes estudados apresentarem níveis de hemoglobina fetal entre 1 e 2%, leva-se a crer que esse aumento deva-se ao uso da eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu).

6 CONCLUSÃO

Na anemia da insuficiência renal crônica tratada com o uso da eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu), no grupo estudado, observamos níveis elevados de hemoglobina fetal em 78,33% dos pacientes.

Vale ressaltar a necessidade de um trabalho posterior para estudar mais detalhadamente o assunto, haja visto que, os valores obtidos podem não corresponder ao aumento real promovido por este hormônio nestes pacientes, uma vez que não foram determinados os níveis de hemoglobina fetal antes do tratamento com eritropoetina humana recombinante (EPO-rHu).

***The Frequency of Fetal Hemoglobin in Chronic Renal Failure Patients
in Use of Recombinant Human Erythropoietin.***

SUMMARY

In two Hemodialysis Centers of Fortaleza city, Walter Cantídio University Hospital (HUWC) and Santa Casa of Misericórdia, was studied one hundred-twenty anemic patients with mean age of twenty four years old, in treatment with recombinant human erythropoietin (r-HuEpo), for available the fetal hemoglobin levels.

From one hundred-twenty patients studied, ninety-four (78,33% of all cases) presented fetal hemoglobin levels between 1,0% and 2,0% (normal values until 1,0%).

Thus, the recombinant human erythropoietin, used actually in therapy of chronic anemia in chronic renal failure, can to elevate the fetal hemoglobin levels.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIA

01. ABRAHAM, E.C. et al. Hemoglobin F levels in patients with chronic renal failure. Hemoglobin, v. 1, n. 7, p. 691-695, 1977.
02. AGROYANIS, B. et al. Effect of acetate and erythropoietin on fetal hemoglobin in hemodialyzed uremic patients. Blood, v. 85, n. 12, p. 3765-3766, 1995.
03. ANDREOLI, T.E. et al. Medicina interna básica. Rio de Janeiro: Guanabara, 1989. cap. 05.
04. BARD, H., WIDNESS, J.A. Effect of recombinant human erythropoietin on the swichover from fetal to adult hemoglobin sunthesis in preterm infants. J. of Pediatrics, v. 127, n. 3, p. 478-480, 1995.
05. BECHENSTEEN, A.G. et al. Effect of recombinant human erythropoietin on fetal and adult hemoglobin in preterm infants. Pediatr.Res., v. 38, n. 5, p. 729-732, 1995.
06. BELLIZI, V. et al. Fetal proteins and chronic treatment with low-dose erythropoietin. J. Lab. Clin. Med., v. 129, n. 2, p. 193-199, 1997.
07. BEUTLER, E., LICHTMAN, M.A. Williams hematology. 5. ed., Califórnia, Mc Graw-Hill, 1995, cap. 49.
08. CHIA, C.Y.; LEONE, C.R. Eritropoetina recombinante humana na anemia da prematuridade. São Paulo, Pediatria, v. 17, n. 4, p. 174-190, 1995.

09. DELUCCHI, B.M.A. et al. Efectos de eritropoyetina recombinante humana sobre la anemia y la composición corporal en niños hemodializados. Rev. Chil. de Pediatr., v. 63, n. 6, p. 303-307, 1992.
10. FIGUEIREDO, M.S. et al. Fetal hemoglobin in patients with chronic renal disease. Braz. J. Med. Biol. Res., v. 29, n. 8, p. 1001-1004, 1996.
11. HANICKI, Z. et al. Recombinant human erythropoietin stimulates synthesis of fetal haemoglobin in haemodialysed patients with anaemia due to end-stage Kidney. Contrib. Nephrol., v. 87, p. 11-14, 1990.
12. HAZMI, M.A. et al. The pharmacological manipulation of fetal hemoglobin: trials using hydroxyurea and recombinant human erythropoietin. Acta Haematol., v. 93, n. 2-4, p. 57-61, 1995.
13. HENICKI, Z. et al. Recombinant human erythropoietin stimulates synthesis of fetal haemoglobin in patients with renal anemia treated by repeated hemodialysis. Pol. Arch. Med. Wewn., v. 85, n. 6, p. 352-355, 1991.
14. JEANZA, H.J. et al. Evaluación de la eficacia de la eritropoyetina recombinante humana (r-HuEPO) en pacientes hemodializados. Rev. de Nefrol., diálisis transpl., v. 25, n. 2, p. 05-20, 1989.
15. KURATOWSKA, Z. et al. On the problem of hemoglobin F synthesis in adults. Baltimore, University Park Press., p. 397-402, 1975.
16. LEE, G.R., BITHELL, T.C. et al. Wintrobbe hematología clínica. São Paulo: Manole, 1998. cap. 06.

17. NAOUM, P.C. Eletroforese, técnicas e diagnósticos. São Paulo: Livraria Santo, 1990.
18. NAOUM, P.C. Hemoglobinopatias e talassemias. São Paulo: Sarvier, 1997.
19. NASCIMENTO, M.L.P. Hiperglicemia e hemoglobina fetal. Rev. bras. nefrol., v. 13, n. 2, p.63, 1988.
20. OLIVEIRA, H.P. Hematologia clínica. 3. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1990. cap. 03.
21. PICHARDO, H.L.P. Eritropoyetina humana recombinante (r-HuEPO) anemia e insuficiência renal crônica. Resp. Somnicana. Rev. Med. Dominicana, v. 51, n. 3, p. 39-43, 1990.
22. ROMÃO JR., J. E. et al. Uso da eritropoetina recombinante humana no tratamento da anemia do paciente em hemodiálise: um estudo multicêntrico. Rev. Ass. Med. Brasil, v. 38, n. 2, p. 57-61, 1993.
23. SALEH, A.W., HILLEN, H.F. Pharmacological synthesis in sickle-cell disease. Neth. J. Med., v. 51, n. 5, p. 169-178, 1997.
24. SALVATI, F. et al. Effect on hemoglobin F synthesis by erythropoietin in patients with anemia of end-stage renal disease maintained chronic hemodialysis. Nephron, v. 60, n. 3, p. 371, 1992.
25. SALVATI, F. Induction of fetal hemoglobin by recombinant human erythropoietin in patients with end-stage renal disease. Nephron., v. 65, n. 3, p. 313, 1993.

26. SCHREIBER, S. et al. Recombinant Erythropoetin for the treatment of anemia in inflammatory bowel disease. N. Eng. J. Med., v. 334, n. 10, p. 619-623, 1996.
27. SIKOLE A., et al. Hemoglobin F levels in end-stage renal disease patients after correction of anemia with erythropoietin. Nephron, v. 65, n. 3, p. 482-484, 1993.
28. SILVA, P. Farmacologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980. cap. 05.
29. STABILE, C. et al. Eritropoetina recombinante para o tratamento da anemia do paciente renal crônico em hemodiálise. J. Bras. Nefrol., v. 13, n. 3, p. 45-54, 1991.
30. VALDERRABANO, F. Eritropoetina e insuficiência renal crônica. Rev. Nefrol. Dialisis Transp., v. 34, p. 15-23, 1993.
31. ZANINI, A.C. et al. Farmacologia aplicada. 4 ed. São Paulo: Atheneu, p. 246-256, 1989. cap. 03.