

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**

**GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**RAIÇA DOMINIQUE MARIANA GOMES DA COSTA BRAZ**

**UMA REVISÃO SOBRE O GENE *CD36* E SUA INFLUÊNCIA EM CRISES VASO-  
OCLUSIVAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

**NATAL – RN**

**2022**

**RAIÇA DOMINIQUE MARIANA GOMES DA COSTA BRAZ**

**UMA REVISÃO SOBRE O GENE *CD36* E SUA INFLUÊNCIA EM CRISES VASO-  
OCLUSIVAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial para obtenção do título do grau bacharel em Farmácia.

Orientadores: Prof. Dra. Ivanise Marina Moretti Rebecchi e Dr. Igor de Farias Domingos.

**NATAL – RN**

**2022**

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN  
Sistema de Bibliotecas - SISBI  
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Setorial do Centro Ciências da Saúde - CCS

Braz, Raiça Dominique Mariana Gomes da Costa.

Uma revisão sobre o gene CD36 e sua influência em crises vaso-oclusivas de pacientes com anemia falciforme / Raiça Dominique Mariana Gomes da Costa Braz. - 2022.

77f.: il.

Trabalho de Conclusão de Curso - TCC (Graduação em Farmácia)  
- Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia. Natal, RN, 2022.

Orientadora: Prof. Dra. Ivanise Marina Moretti Rebecchi.

Coorientador: Dr. Igor de Farias Domingos.

1. Anemia falciforme - TCC. 2. Moléculas de adesão - TCC. 3. CD36 - TCC. 4. Crises vaso-oclusivas - TCC. I. Rebecchi, Ivanise Marina Moretti. II. Domingos, Igor de Farias. III. Título.

RN/UF/BS-CCS

CDU 616.155.194

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**

**GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**RAIÇA DOMINIQUE MARIANA GOMES DA COSTA BRAZ**

**UMA REVISÃO SOBRE O GENE *CD36* E SUA INFLUÊNCIA EM CRISES VASO-  
OCCLUSIVAS DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito parcial para obtenção do título do grau bacharel em Farmácia.

NATAL – RN, 21 de janeiro de 2022.

**Banca examinadora:**

---

Prof. Ivanise Marina Moretti Rebecchi, Dra., DACT/UFRN

---

Igor de Farias Domingos, Dr., PROCAPE/UPE

---

Prof. Thales Allyrio Araújo de Medeiros Fernandes, Dr., DCB/FACS/UERN

---

Gabriela da Silva Arcanjo, MSc., PPGG/UFPE

## **AGRADECIMENTOS:**

À minha família, por me apoiar e permitir que eu chegasse ao fim dessa jornada.

À Arthur e Vinícius, cuja amizade tive a sorte de ter desde a infância, e espero levar para o resto da vida.

Aos meus futuros colegas de profissão, em especial minhas amigas mais próximas: Amanda, Antonia, Carol, Gabi, Manu e Mylena. Ao longo do curso, compartilhamos muitas anedotas, incentivos, conselhos, risadas e triunfos que carregarei comigo.

Aos meus orientadores, Igor e Ivanise, por todos os ensinamentos que me ajudaram a chegar até aqui.

“Uma mente que se abre a uma nova ideia  
jamais voltará ao seu tamanho original.”

*Oliver Wendell Holmes Sr.*

## RESUMO

A anemia falciforme é uma das desordens monogênicas mais comuns do mundo, responsável pela diminuição da qualidade e expectativa de vida de seus portadores. A polimerização da hemoglobina S é essencial para a fisiopatologia da doença, pois leva a deformação e rigidez dos eritrócitos, tornando-os falciformes, causando eventos vaso-oclusivos e anemia hemolítica. A crise de dor aguda é a manifestação clínica que mais leva os pacientes a procurarem atenção médica e é decorrente da crise vaso-oclusiva, cujo início se dá pela obstrução do fluxo sanguíneo por hemácias falcizadas. Além da obstrução do fluxo, as hemácias falcizadas interagem com o endotélio vascular através de moléculas de adesão como a CD36. Detalhes sobre o perfil de expressão de CD36 e o impacto que exerce na patogênese da doença ainda são escassos, mas através da revisão de dados disponíveis na literatura foi possível corroborar a existência de uma associação entre maiores níveis de expressão de CD36 e comprometimento do fluxo sanguíneo por intermédio de interações adesivas entre hemácias falcizadas e o endotélio vascular. Tais interações são parcialmente inibidas pelo uso do fármaco hidroxiureia, e a aplicação de anticorpos anti-CD36 em um modelo animal apontou para uma diminuição da adesividade de eritrócitos falcizados, indicando um alvo terapêutico em potencial. Há poucos estudos que examinaram a possibilidade de alterações genéticas no *CD36* terem influência sobre sua atuação nos mecanismos fisiopatológicos da anemia falciforme, demonstrando a necessidade de mais pesquisas sobre esse tópico. Apesar de favorecer a ocorrência de crises vaso-oclusivas, ainda não foi estabelecida uma relação entre expressão de CD36 e severidade clínica da anemia falciforme.

**PALAVRAS-CHAVE:** Anemia falciforme. Moléculas de adesão. CD36. Crises vaso-oclusivas.

## **ABSTRACT:**

Sickle cell anemia is one of the most common monogenic disorders worldwide, responsible for diminishing the quality and life expectations of its carriers. The polymerization of hemoglobin S is essential for the pathophysiology of the disease, because it leads to deformity and rigidity of erythrocytes, turning them sickle-shaped, causing vaso-occlusive events and hemolytic anemia. Acute pain crisis is the clinical manifestation that most leads patients to seek medical attention and it's a result of vaso-occlusive crises, which begins when there's obstruction of the blood flow by sickle red blood cells. Sickle red blood cells also interact with the vascular endothelium through adhesion molecules such as CD36. Details about CD36's expression and the impact it has on the pathogenesis of the disease are still scarce, however, review of available data in the literature made possible to corroborate the existence of an association between higher levels of CD36's expression and blood flow impairment, through adhesive interactions between sickle red blood cells and the vascular endothelium. Such interactions are partially inhibited by the use of the drug hydroxyurea, and the injection of anti-CD36 antibodies in an animal model pointed to a reduction in the adhesiveness of sickle erythrocytes, indicating a potential therapeutic target. There are few studies that examined the possibility of genetic alterations in *CD36* having an influence over its role on the pathophysiological mechanisms of sickle cell anemia, demonstrating the need for more research on this topic. Despite favoring the occurrence of vaso-occlusive crisis, it hasn't been yet established a relation between the expression of CD36 and the clinical severity of sickle cell anemia.

**KEYWORDS:** Sickle cell anemia. Adhesion molecules. CD36. Vaso-occlusive crisis.



## LISTA DE FIGURAS:

<b>Figura 1:</b> Mapa-múndi do número estimado de nascimentos com AF.....	19
<b>Figura 2:</b> Fatores que contribuem para vaso-oclusão.....	26
<b>Figura 3:</b> Principais mecanismos da fisiopatologia da AF.....	29
<b>Figura 4:</b> Complicações agudas e crônicas da DF.....	42
<b>Figura 5:</b> Esfregaço de sangue periférico.....	44
<b>Figura 6:</b> Eletroforese em pHs alcalino e ácido.....	46
<b>Figura 7:</b> Visão parcial gel de IEF com várias corridas.....	48
<b>Figura 8:</b> Cromatograma de indivíduo HbSS.....	49
<b>Figura 9:</b> PCR RLFP.....	51
<b>Figura 10:</b> Mecanismo de ação da HU na AF.....	53
<b>Figura 11:</b> Aspectos de transfusão sanguínea na AF.....	56
<b>Figura 12:</b> Esquema da estrutura da CD36.....	66
<b>Figura 13:</b> Moléculas de adesão e seus ligantes.....	68

## LISTA DE QUADROS:

<b>Quadro 1:</b> Modificadores genéticos da DF.....	63
<b>Quadro 2:</b> Moduladores de manifestações clínicas da DF.....	64

## LISTA DE SIGLAS:

ADMA	Dimetilarginina assimétrica
AF	Anemia falciforme
AVC	Acidente vascular cerebral
B-CAM/Lu	Molécula de adesão de células basais-1/Luterano
CD36	<i>Cluster of Differentiation 36</i>
<i>CD36</i>	Gene codificador de CD36
CVO	Crise vaso-oclusiva
DAMP	Padrão molecular associado ao dano
DF	Doença falciforme
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FDA	<i>U. S. Food &amp; Drug Administration</i>
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina do adulto
HbAS	Traço falciforme
<i>HBB</i>	Gene codificador da cadeia $\beta$ -globina
HbFe <sup>2+</sup>	Hemoglobina reduzida
HbFe <sup>3+</sup>	Metemoglobina
HbS	Hemoglobina S
HbSS	Homozigoto para alelo $\beta^S$
Hib	<i>Haemophilus influenzae</i> tipo b
HLA	Antígeno leucocitário humano
HPLC	Cromatografia líquida de alta eficiência

HSCT	Transplante de célula-tronco hematopoiética
HU	Hidroxiureia
IAP	Proteína associada a integrina
ICAM-4	Molécula de adesão intercelular 4
IEF	Focalização Isoelétrica
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
PCR	Reação de polimerase em cadeia
PS	Fosfatidilserina
PNTN	Programa Nacional de Triagem Neonatal
ROS	Espécies reativas de oxigênio
STA	Síndrome torácica aguda
TSP	Trombospondina
VCAM-1	Molécula de adesão vascular 1
VLA-4	<i>Very Late Antigen-4</i>

## SUMÁRIO:

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. METODOLOGIA.....	16
4. ANEMIA FALCIFORME.....	17
5. EPIDEMIOLOGIA.....	18
6. FISIOPATOLOGIA.....	19
6.1. Sobre a hemoglobina.....	20
6.2. Polimerização de HbS.....	21
6.3. Alterações na membrana eritrocitária.....	22
6.4. Propriedades adesivas de hemácias falciformes.....	23
6.5. Vaso-oclusão.....	24
6.6. Disfunção endotelial.....	26
6.7. Inflamação.....	28
7. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS.....	29
7.1. Papel da HbF.....	29
7.2. Dactilite.....	30
7.3. Hipostenúria.....	30
7.4. Síndrome torácica aguda.....	31
7.5. Acidente vascular cerebral.....	32
7.6. Comprometimento esplênico e infecções.....	33
7.7. Colelitíase.....	35
7.8. Úlceras de membros inferiores.....	35
7.9. Priapismo.....	36
7.10. Retinopatia.....	37
7.11. Infarto e osteonecrose.....	38
7.12. Osteomielite.....	39
7.13. Osteopenia e osteoporose.....	40
7.14. Crises álgicas.....	40
7.15. Anemia.....	41
8. DIAGNÓSTICO.....	42

8.1. Testes de falcização e de solubilidade.....	44
8.2. Eletroforese.....	45
8.3. Focalização isoeétrica.....	47
8.4. Cromatografia líquida de alta eficiência.....	48
8.5. Análise de DNA.....	50
8.6. Exames complementares.....	51
9. TRATAMENTO.....	52
9.1. Hidroxiureia.....	52
9.2. Transfusão sanguínea e quelação de ferro.....	55
9.3. Terapias adjuvantes.....	56
9.4. Transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapia gênica.....	57
9.5. Terapias farmacológicas emergentes.....	59
10. HETEROGENEIDADE FENOTÍPICA.....	61
11. VARIABILIDADE GENÉTICA.....	62
12. CD36.....	64
13. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

## 1. INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF) é uma doença hereditária autossômica recessiva que acomete milhões de pessoas ao redor do mundo, sendo estas portadoras de mutação no gene *HBB* em homozigose, resultando na síntese de hemoglobina (Hb) com cadeias  $\beta$  mutantes, chamada HbS (ALAPAN *et al.*, 2016; HABARA e STEINBERG, 2016; WARE *et al.*, 2017). A AF é a forma mais comum da doença falciforme (DF), termo que se refere tanto a herança homozigótica de HbS quanto a co-herança do alelo  $\beta^S$  com outra variante do gene *HBB*, resultando na diminuição da produção de cadeias  $\beta$  ( $\beta$ -talassemia) ou síntese de cadeias  $\beta$  com outra alteração estrutural (como HbC) (WILLIAMS e THEIN, 2018). Populações economicamente desfavorecidas são desproporcionalmente afetadas pela AF em comparação com populações ricas, com descendentes de populações africanas apresentando a doença em decorrência do que se acredita ser herança de uma pressão seletiva do meio para proteção contra malária (ALAPAN *et al.*, 2016; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018).

A HbS causa danos ao organismo devido a sua polimerização intraeritrocitária, resultante principalmente de desoxigenação. HbS polimerizada deforma as hemácias, levando a dano estrutural celular, expressão anormal de moléculas de adesão, comprometimento do fluxo sanguíneo e morte celular prematura. Conseqüentemente, há dano aos vasos sanguíneos, estímulo à ativação do sistema imune, anemia e injúria de isquemia e reperfusão, cuja constância leva a dano progressivo aos órgãos (NOVELLI e GLADWIN, 2016).

Manifestações clínicas agudas e crônicas (crises de dor, síndrome torácica aguda, úlceras de membros inferiores, osteonecrose) ocorrem com frequência e intensidade variáveis entre os pacientes (KATO *et al.*, 2018). O tratamento consiste em grande parte na aplicação de medidas paliativas, com o uso do fármaco hidroxiureia constituindo a alternativa terapêutica mais popular para modificar o curso clínico da doença (WILLIAMS e THEIN, 2018). Novas e promissoras opções terapêuticas surgem no horizonte, embora a maioria ainda não esteja disponível para todos os pacientes, especialmente aqueles de baixa renda (KATO *et al.*, 2018; NARDO-MARINO, BROUSSE e REES, 2020). Desafio similar é encontrado no diagnóstico da doença, o qual idealmente deve ser realizado o mais cedo possível, porém populações pobres de diversos países têm dificuldade em acessar atendimento médico (ALAPAN *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018).

Passos importantes foram dados desde a descoberta da AF em 1910, permitindo um melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença, mas ainda há muitas perguntas sem resposta (KATO *et al.*, 2018). Embora a polimerização da hemoglobina mutante (HbS) seja o gatilho para o desencadeamento das manifestações clínicas da doença, é consenso que várias outras moléculas, como a CD36, participam dos processos relacionados à patogênese (ALAPAN *et al.*, 2016). A CD36 é uma molécula de adesão expressa em eritrócitos liberados prematuramente da medula óssea, cuja presença na circulação periférica permite interações adesivas entre hemácias falcizadas e endotélio, constituindo um dos fatores que contribuem para o comprometimento do fluxo sanguíneo, embora mais estudos sejam necessários para permitir a determinação do real impacto da CD36 na modulação da gravidade clínica da anemia falciforme (MAKIS, HATZIMICHAEL e BOURANTAS, 2000; KAUSHAL *et al.*, 2016). Trata-se de uma doença complexa, com células sanguíneas, endoteliais e componentes plasmáticos interagindo de forma irregular sob influência de fatores ainda não totalmente compreendidos (ALAPAN *et al.*, 2016), necessitando, portanto, ser explorada mais a fundo.



## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Discorrer sobre diferentes fontes bibliográficas acerca do papel do gene *CD36* na fisiopatologia da anemia falciforme e detalhar informações obtidas em estudos e experimentos sobre seu papel na contribuição da heterogeneidade fenotípica das manifestações clínicas apresentadas por pacientes com AF.

### **2.2. Objetivos específicos**

- Explicar os principais aspectos da anemia falciforme, como sua epidemiologia, fisiopatologia, manifestações clínicas, moduladores genéticos, conceitos sobre o diagnóstico laboratorial e alternativas terapêuticas para a doença.

- Detalhar a participação do gene *CD36* na patogênese da anemia falciforme, em particular sua contribuição para a ocorrência de crises vaso-oclusivas.

### 3. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento deste trabalho foi utilizado o recurso de revisão bibliográfica. A revisão bibliográfica tem como objetivo apresentar ao leitor e ao pesquisador do trabalho um panorama acerca dos avanços, dos históricos e das estatísticas, a fim de obter uma melhor compreensão do tema abordado.

No presente estudo foram selecionados artigos que tratavam sobre a doença falciforme e, principalmente, a anemia falciforme. Foram incluídos trabalhos de 1989 a 2021, com o último acesso em 30/12/2021. As buscas foram realizadas em diversas bases de dados, incluindo: PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), SciELO (<http://www.scielo.org>), Elsevier (<https://www.elsevier.com/pt-br>), Google Scholar (<https://www.scholar.google.com.br>) e Nature (<https://www.nature.com/>). Também foram utilizados artigos referenciados nas publicações selecionadas e livros-texto como parte integrante do levantamento bibliográfico. Foram selecionadas publicações completas e, em relação aos idiomas escolhidos, houve estudos em português e inglês. As buscas foram realizadas através da utilização dos termos “doença falciforme”, “anemia falciforme”, “fisiopatologia”, “diagnóstico”, “tratamento”, “hemoglobina”, “hemoglobina F”, “moduladores genéticos”, “CD36” e “TSP” em diferentes combinações, bem como seus correspondentes em inglês. A ordem para a seleção foi realizada da seguinte forma: leitura do título e do resumo, e compreensão do artigo. Os artigos encontrados foram associados à revisão bibliográfica como forma de entendimento e compreensão do objeto de estudo.

#### 4. ANEMIA FALCIFORME

A primeira descrição da AF na literatura médica ocidental é creditada ao médico James B. Herrick; trata-se de um relato de caso de um paciente acompanhado por dois anos e meio, um rapaz de descendência africana que apresentava anemia, ulcerações nos membros inferiores, infecções respiratórias recorrentes e células vermelhas de formato alongado no esfregaço sanguíneo (SAVITT e GOLDBERG, 1989). As características descritas por Herrick em sua publicação, lançada em 1910, foram identificadas em pacientes de outros centros médicos, e por volta de 1920 já haviam relatos com similaridades suficientes para os pesquisadores perceberem o padrão hereditário da doença e sua história natural (SAVITT e GOLDBERG, 1989; SOUZA *et al.*, 2016). Grandes avanços na área da saúde, incluindo o surgimento e aplicação da biologia molecular ao estudo de doenças, permitiram que o entendimento sobre a AF fosse expandido imensamente, embora ainda haja aspectos a serem elucidados (WILLIAMS e THEIN, 2018).

É importante distinguir os termos “anemia falciforme”, “doença falciforme” e “traço falciforme”, pois embora todos os três apresentem um denominador comum – a relação com a presença de HbS – cada um denota uma herança genética diferente, e, portanto, apresentam perfis clínicos diversos (HABARA e STEINBERG, 2016). Anemia falciforme corresponde à herança do gene para a hemoglobina  $\beta^s$  em homozigose (WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020). Por outro lado, doença falciforme é um termo guarda-chuva que pode denotar uma herança heterozigótica, com uma cópia do gene codificando a hemoglobina  $\beta^s$  e a outra cópia codificando outra desordem hematológica, como  $\beta$ -talassemia, hemoglobina C, hemoglobina D, hemoglobina E, entre outras, de modo que se trata de um termo que engloba tanto a AF (HbSS) quanto a co-herança com outra hemoglobinopatia (WARE *et al.*, 2017; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). O traço falciforme também é uma herança heterozigótica, contudo trata-se de herdar uma cópia do gene mutado – que codifica a hemoglobina  $\beta^s$  – e outra cópia que codifica a cadeia  $\beta$ -globina normal (HbAS) (WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018). Pacientes com traço falciforme geralmente são assintomáticos, enquanto que pacientes com anemia ou doença falciforme podem apresentar ao longo da vida sintomas com frequência e gravidade clínica variáveis (WARE *et al.*, 2017).

## 5. EPIDEMIOLOGIA

Hemoglobinopatias, grupo de desordens hematológicas das quais a anemia falciforme faz parte, correspondem às doenças hereditárias mais comuns do mundo (ABDUL-HUSSEIN, AL-MAMMORI e HASSAN, 2021), com cerca de 300.000 bebês nascendo anualmente com hemoglobinopatias severas de acordo com a Organização Mundial da Saúde (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2021).

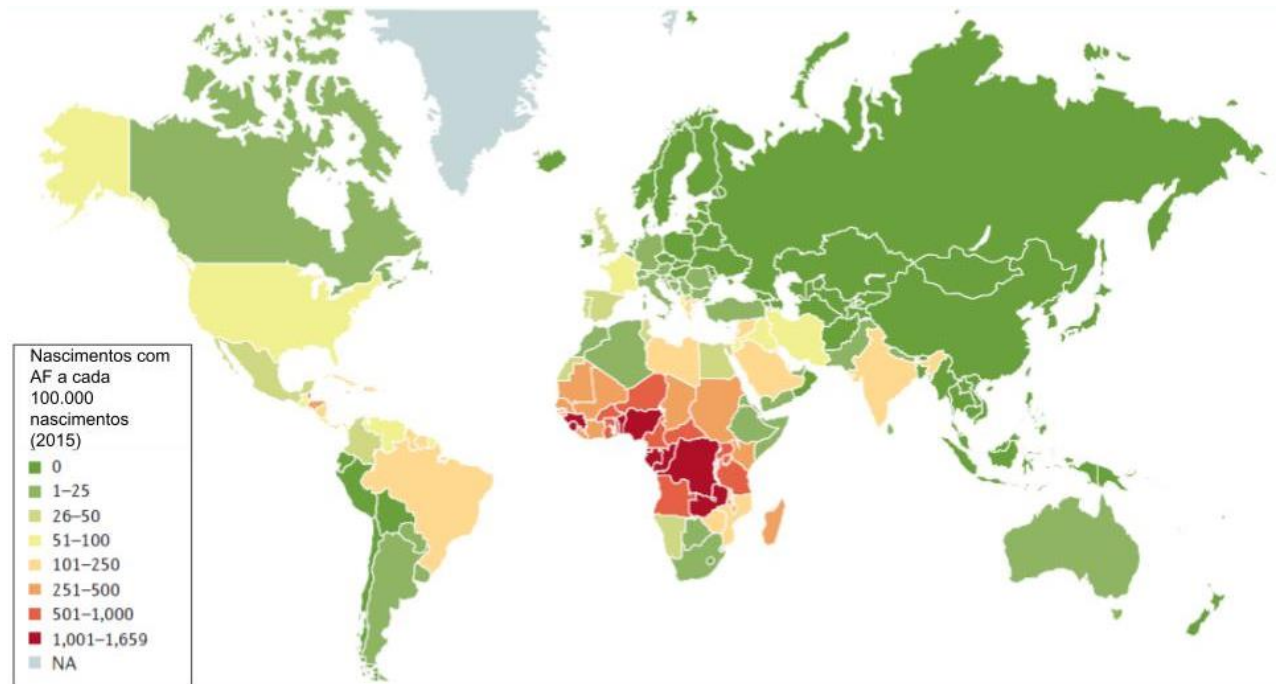
Segundo o Programa Nacional de Triagem Neonatal do Ministério da Saúde, 1.214 novos casos de doença falciforme foram diagnosticados em 2019 no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Estudos mostram que sem receberem o tratamento adequado a tempo, apenas 20% dessas crianças atingirão os cinco anos de idade (WARE *et al.*, 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

O fardo das hemoglobinopatias pode ser reduzido através de programas de diagnóstico precoce e da aplicação de cuidados médicos que favoreçam a qualidade e a expectativa de vida dos pacientes (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2021), mas muitos países subdesenvolvidos não contam com tais medidas de forma sistemática como estratégias nacionais, a exemplo de países da África Subsaariana, como Nigéria, Uganda, Benin, Camarões, Gana e Angola (WARE *et al.*, 2017). Isto é problemático, considerando que são as populações de países subdesenvolvidos as mais afetadas (KATO *et al.*, 2018).

Há evidências demonstrando que indivíduos portadores do traço falciforme (HbAS) têm mais chance de sobrevivência em ambientes endêmicos de malária do que indivíduos com Hb normal - indivíduos com HbAS contam com cerca de 90% menos chance de desenvolver casos severos de malária, portanto evitando também suas consequências, como desnutrição e o desenvolvimento de infecções bacterianas fatais (SOUZA *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018). Esses benefícios contribuíram para a seleção de indivíduos portadores do traço falciforme, os quais promoveram o aumento da herança de HbAS nas populações historicamente acometidas pela malária (populações de países da África Subsaariana, Índia, Oriente Médio e bacia do Mediterrâneo) (SOUZA *et al.*, 2016; WILLIAMS e THEIN, 2018). Com o aumento da frequência do traço falciforme nessas populações, inevitavelmente uma proporção significativa de crianças nascidas em tais áreas geográficas acabaram herdando a AF (HbSS) (WILLIAMS e THEIN, 2018). Conforme houve a migração

dessas populações para outras regiões do globo, a AF passou a afetar locais cada vez mais distantes de sua origem geográfica (Fig. 1) (KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018).

A ocorrência de AF no Brasil se dá devido ao tráfico de escravos do continente africano, com a incidência variando substancialmente ao longo dos diferentes estados, refletindo a heterogeneidade étnica da população brasileira, porém é bem documentado que estados com perfis sociodemográficos que apontam maiores índices de pobreza e maior número de indivíduos com descendência africana são os mais afetados (KATO *et al.*, 2018; SOUZA *et al.*, 2019).



**Figura 1:** Mapa-múndi do número estimado de nascimentos com AF. NA: Não se aplica (Adaptado de KATO *et al.*, 2018).

## 6. FISIOPATOLOGIA

A fisiopatologia da AF é complexa, resultante dos efeitos prejudiciais da polimerização de HbS desoxigenada na membrana, forma, densidade, deformabilidade e adesão das hemácias. A patogênese envolve vaso-oclusão, hemólise, anemia, adesão e inflamação, com consequente isquemia tecidual, crises de dor e dano progressivo aos órgãos. Embora tenha sido descoberta há décadas,

muitos mecanismos ainda não são completamente compreendidos, com muitas facetas da doença ainda por serem exploradas de modo a contribuírem para o sucesso do diagnóstico e da terapêutica (ALAPAN *et al.*, 2016).

### 6.1. Sobre a hemoglobina

No organismo humano, a célula responsável pelo transporte de oxigênio é a hemácia, também chamada de eritrócito ou glóbulo vermelho (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2013), cujo formato normal é de um disco bicôncavo (MONTEIRO *et al.*, 2015). A hemoglobina é uma proteína expressa no interior das hemácias (PATRINOS e ANTONARAKIS, 2010), sendo composta por quatro subunidades polipeptídicas ligadas à grupos prostéticos (YUAN *et al.*, 2015). Das quatro subunidades, duas são constituídas de cadeias  $\alpha$ -globina e duas de  $\beta$ -globina (PATRINOS e ANTONARAKIS, 2010), organizadas em uma estrutura quaternária mantida por ligações não-covalentes (YUAN *et al.*, 2015). Cada uma das quatro subunidades encontra-se ligada a um grupo prostético heme (YUAN *et al.*, 2015), que é composto por uma parte orgânica que corresponde a um anel tetrapirrólico, associada a uma parte inorgânica, um átomo de ferro no estado ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (GROTTO, 2010; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019), e é esse ferro que se liga a moléculas de  $\text{O}_2$  possibilitando seu transporte pelo organismo (YUAN *et al.*, 2015).

As cadeias  $\alpha$ - e  $\beta$ -globina possuem, respectivamente, 141 e 146 aminoácidos, e são codificadas por genes de dois *clusters*. O *cluster*  $\alpha$ -like está localizado no braço curto do cromossomo 16 (16p13.3) e o *cluster*  $\beta$ -like encontra-se no braço curto do cromossomo 11 (11p15.5). Ao longo da vida, elementos regulatórios transcricionais (promotores, *enhancers* e silenciadores) regulam a expressão dos genes desses *clusters*. Há dois tipos de cadeias  $\alpha$ -like que podem ser transcritas e traduzidas, as cadeias  $\alpha$ - e  $\zeta$ -globina; já as cadeias  $\beta$ -like podem ser  $\delta$ - ,  $\epsilon$ - ,  $\gamma$ - ou  $\beta$ -globinas. A principal hemoglobina em crianças acima de 6 meses e em adultos é a hemoglobina do adulto ou HbA ( $\alpha_2\beta_2$ ), embora uma pequena porcentagem (<3%) de HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) esteja normalmente presente. Adultos contam naturalmente com uma pequena porcentagem (<2%) de hemoglobina fetal (HbF,  $\alpha_2\gamma_2$ ) (PATRINOS e ANTONARAKIS, 2010). Imediatamente após o nascimento, neonatos possuem de 85 a 98% de HbF, porcentagem que decai gradualmente ao longo do primeiro ano de vida (AMOYAL e

FIBACH, 2007). A HbF tem importante papel fisiológico na vida intrauterina, pois possui mais afinidade pelo O<sub>2</sub> que a HbA, permitindo que o feto consiga obter oxigênio da mãe através da placenta (AMOYAL e FIBACH, 2007).

Cada uma das cadeias  $\beta$ -globina da HbA é codificada por uma cópia do gene *HBB*, presente no *cluster* dos genes  $\beta$ -like (PATRINOS e ANTONARAKIS, 2010). Uma mutação pontual no gene *HBB*, a troca de uma adenina por uma timina na posição referente ao sexto códon da proteína (rs334), resulta na substituição do resíduo de ácido glutâmico por valina na 6ª posição da cadeia polipeptídica (HABARA e STEINBERG, 2016). A molécula de hemoglobina com cadeia  $\beta$  mutante gerada a partir do alelo  $\beta^S$  é chamada HbS (HABARA e STEINBERG, 2016; KATO *et al.*, 2018). Em condições de baixa saturação de O<sub>2</sub>, baixo pH e alta osmolaridade, as moléculas de HbS polimerizam-se (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010), forçando os eritrócitos a alterar sua arquitetura natural de disco bicôncavo de maneira rápida e inicialmente reversível para um formato alongado e rígido, similar a uma foice (WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018), sendo este formato característico semelhante à ferramenta agrícola que inspirou o nome da doença (WARE *et al.*, 2017).

## 6.2. Polimerização de HbS

O principal gatilho para a falcização das hemácias é a hipóxia pois, ao perder moléculas de O<sub>2</sub> para os tecidos, há a exposição de regiões hidrofóbicas das cadeias  $\beta^S$ , com destaque para os resíduos de valina de natureza apolar (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Essas regiões apolares não ficam expostas por muito tempo; as moléculas de HbS ligam-se umas às outras para esconderem suas regiões hidrofóbicas do meio intracelular rico em água, formando polímeros que crescem rapidamente e formam longas fibras que distorcem a membrana eritrocitária e aumentam a rigidez celular, levando a falcização, estresse energético, desidratação, prejuízos à reologia e morte prematura das hemácias (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). A taxa em que a polimerização ocorre é proporcional à concentração de HbS dentro do eritrócito, e inversamente proporcional à concentração de HbF, a qual pode interferir no processo de polimerização bem como substituir a HbS em seu papel fisiológico, diminuindo assim a intensidade e progressão dos sintomas da AF (REES, WILLIAMS e GLADWIN,

2010; STEINBERG, 2016; KATO *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Reoxigenação do eritrócito desfaz o polímero de HbS e restaura o formato normal da célula temporariamente; uma mesma hemácia pode passar por repetidos ciclos de falcização e reversão de falcização até que a membrana celular perca sua flexibilidade e o formato de foice se torne irreversível, ponto em que essa célula pode provocar eventos vaso-oclusivos, sofrer hemólise ou ser retirada da circulação pelo sistema reticuloendotelial (WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018).

### 6.3. Alterações na membrana eritrocitária

A polimerização da HbS afeta direta ou indiretamente a bicamada lipídica e as proteínas da membrana eritrocitária, o que leva a redução da hidratação celular, interações anormais com outras células sanguíneas e favorecimento de hemólise (STEINBERG, 2016; KATO *et al.*, 2018). Diversos canais iônicos de membrana encontram-se disfuncionais em hemácias falcizadas, incluindo os co-transportadores de K-Cl KCC1 (codificado por *SLC12A4*), KCC3 (codificado por *SLC12A6*) e KCC4 (codificado por *SLC12A7*); o canal de Gardos (canal de efluxo de K<sup>+</sup> ativado por Ca<sup>2+</sup>, codificado por *KCNN4*) e os canais PIEZO1 (canais iônicos mecanossensíveis tipo-piezo 1), resultando em aumento da permeabilidade da membrana e desidratação celular, o que favorece a falcização do eritrócito pois a taxa de polimerização depende da concentração intracelular de HbS, a qual aumenta com a desidratação da célula (STEINBERG, 2016; WANDERSEE e HILLERY, 2016; KATO *et al.*, 2018). Fosfatidilserina (PS) pode ser encontrada exposta na superfície da membrana celular (PS usualmente encontra-se apenas na camada interna da membrana); eritrócitos com PS exposta têm um papel importante na patogênese, promovendo hemólise, ativação endotelial, interações anormais entre células sanguíneas e plaquetas, e ativação das vias da coagulação (STEINBERG, 2016; KATO *et al.*, 2018). A polimerização da HbS também afeta proteínas de membrana com função estrutural, especialmente a proteína de transporte de ânions da banda 3, a qual encontra-se ligada ao citoesqueleto celular, causando microvesiculação da membrana e liberação de micropartículas no plasma (WANDERSEE e HILLERY, 2016; KATO *et al.*, 2018). Essas micropartículas contêm marcadores de superfície, proteínas citosólicas e microRNAs da célula de origem e podem afetar vias da coagulação, inflamação e função endotelial (KATO *et al.*, 2018).



Proteínas da membrana eritrocitária encontram-se sujeitas a estresse oxidativo devido à instabilidade que acomete a HbS após ciclos de oxigenação e desoxigenação, levando a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) (STEINBERG, 2016). HbS instável tem afinidade pela bicamada lipídica da membrana, favorecendo a separação do grupo heme com subsequente liberação de ferro, o qual é cataliticamente ativo e pode contribuir para peroxidação dos lipídeos da bicamada ao permanecer associado à membrana; além de dissociar-se do grupo heme, a HbS instável pode desnaturar-se e dar origem a hemicromos oxidados irreversivelmente em localização próxima à superfície interna da membrana (WANDERSEE e HILLERY, 2016). O estresse oxidativo pode ser tão grande que mecanismos antioxidantes como a atuação da vitamina E ( $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol), glutatona e ácido ascórbico provam-se ineficientes (WANDERSEE e HILLERY, 2016). O crescente aumento de estresse oxidativo das proteínas e lipídeos de membrana causam danos que contribuem para anormalidades na superfície celular, tais como transporte catiônico alterado, agregação aberrante de proteínas de superfície, perturbação da simetria dos fosfolipídios, redução de deformabilidade, aumento da fragilidade de membrana e exposição de moléculas que favorecem adesão e morte celular prematura intravascular ou pelo sistema reticuloendotelial (STEINBERG, 2016; WANDERSEE e HILLERY, 2016).

#### **6.4. Propriedades adesivas de hemácias falciformes**

Estudos *in vitro* (ensaios estáticos de adesão e câmaras de fluxo endotelizadas) e em modelos animais (infusão de hemácias falcizadas humanas em ratos saudáveis e estudo de camundongos transgênicos com doença falciforme) descrevem um aumento na adesão de eritrócitos falciformes ao endotélio vascular (WANDERSEE e HILLERY, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Atualmente compreende-se que as interações das hemácias falcizadas com o endotélio, plaquetas e leucócitos são parte importante da patogênese de eventos vaso-oclusivos, os quais representam a característica mais marcante da DF (WANDERSEE e HILLERY, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

Dano à membrana eritrocitária devido à falcização pode resultar na externalização de moléculas de adesão e regiões de ligação que normalmente não

são expressos na superfície celular, tais como PS, molécula de adesão de células basais-1/Luterano (B-CAM-1/Lu), proteína associada à integrina (IAP ou CD47) e molécula de adesão intercelular 4 (ICAM-4) (ODIÈVRE *et al.*, 2008; WANDERSEE e HILLERY, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Com essas moléculas expressas, há interações adesivas de hemácias com leucócitos e endotélio, interações essas que normalmente não aconteceriam, favorecendo a ocorrência de vaso-oclusão e a ativação de vias inflamatórias (ODIÈVRE *et al.*, 2008; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

A morte prematura de hemácias estimula a medula óssea a liberar eritrócitos mesmo que imaturos para suprir a demanda dos tecidos (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). A liberação de reticulócitos (eritrócitos imaturos) na circulação periférica tem como objetivo aumentar a capacidade de transporte de O<sub>2</sub> pelo organismo; as consequências do aumento de reticulócitos na circulação ainda estão sendo exploradas em estudos (KAUSHAL *et al.*, 2016; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020), entretanto participação em eventos vaso-oclusivos já é atribuída a hemácias falcizadas derivadas de tais reticulócitos, devido à presença de moléculas de adesão como a integrina  $\alpha 4\beta 1$  (também conhecida como *Very Late Antigen-4*, VLA-4) e o CD36 (*Cluster of Differentiation 36*) na superfície celular, as quais persistem na membrana de hemácias de pacientes com DF embora sejam marcadores de superfície não encontrados fora da medula óssea em indivíduos saudáveis (HARLAN, 2000; MEIER *et al.*, 2016; WANDERSEE e HILLERY, 2016; ALAPAN *et al.*, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020; ABDUL-HUSSEIN, AL-MAMMORI e HASSAN, 2021).

Proteínas adesivas plasmáticas e da matriz subendotelial também podem contribuir para adesão de hemácias falcizadas; TSP (trombospondina), laminina, fibronectina, fibrinogênio e fator de von Willebrand são exemplos de moléculas que favorecem a adesividade de drepanócitos à leucócitos, plaquetas e parede dos vasos sanguíneos (WANDERSEE e HILLERY, 2016).

## **6.5. Vaso-oclusão**

A obstrução de vasos sanguíneos é o advento mais comum da AF, consequência de um conjunto de fatores: Fluxo comprometido devido ao formato de foice dos

eritrócitos, adesividade elevada de hemácias falcizadas à leucócitos e endotélio, e atividade hemostática (Fig. 2) (HARLAN, 2000; ALAPAN *et al.*, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). O bloqueio da circulação, levando a isquemia, é a causa das crises vaso-oclusivas (CVO) (ODIÈVRE *et al.*, 2008; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). A ocorrência de CVO geralmente é acompanhada por episódios de dor aguda, sintoma que mais incita pacientes a procurarem cuidados médicos de emergência (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

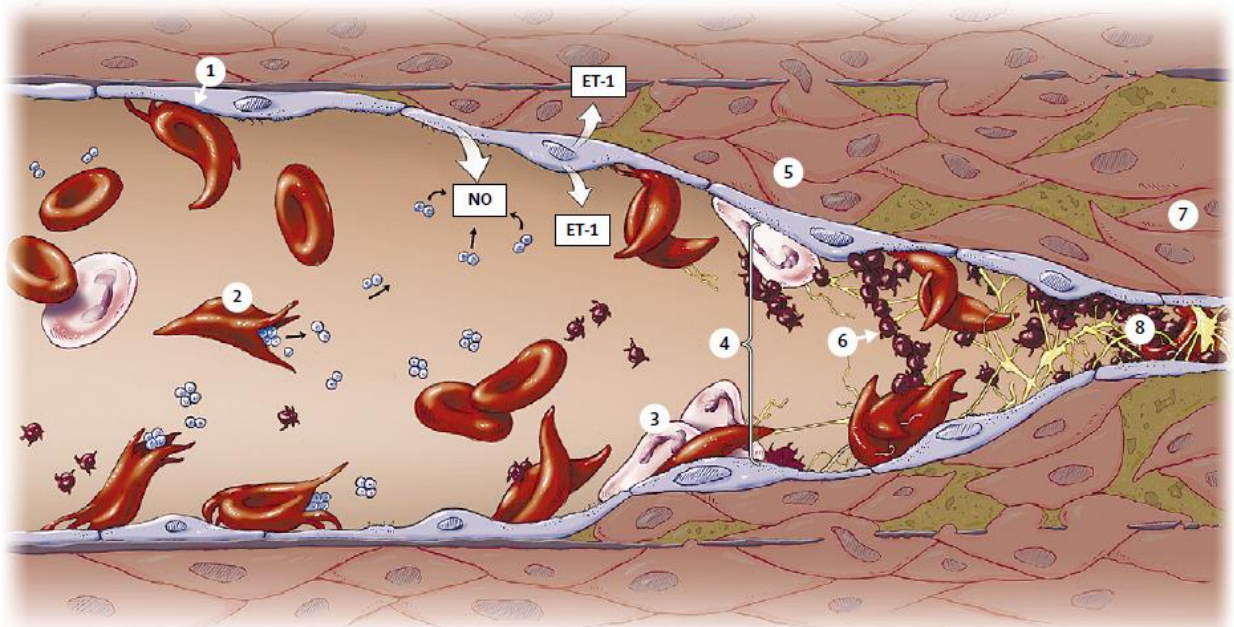
Hemólise crônica decorrente de constante morte prematura de hemácias, junto com diminuição da deformabilidade eritrocitária, aumentam a viscosidade plasmática, contribuindo para comprometimento no fluxo sanguíneo em capilares e vênulas pós-capilares de tecidos com alta demanda de O<sub>2</sub> (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Indivíduos com hematócrito elevado contam com um fator de risco a mais, pois uma quantidade maior de hemácias na circulação aumenta a viscosidade plasmática e favorece o comprometimento do fluxo (KATO *et al.*, 2018).

Moléculas de adesão anormalmente expressas na membrana das hemácias (PS, B-CAM-1/Lu, IAP, ICAM-4, VLA-4 e CD36) promovem ligação com o endotélio vascular, leucócitos e plaquetas circulantes, participando ativamente da patogênese da vaso-oclusão (ODIÈVRE *et al.*, 2008; ALAPAN *et al.*, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

Disfunção endotelial e inflamação estéril – detalhadas adiante – são fenômenos comuns na DF, cuja contribuição para eventos vaso-oclusivos advém do estímulo para aumento de expressão de selectinas (P- e E-selectinas), molécula de adesão vascular-1 (VCAM-1), ICAM-1, e quimiocinas como a interleucina-8 (IL-8) em células endoteliais (ALAPAN *et al.*, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). O componente inflamatório na DF também pode promover a ativação de neutrófilos, monócitos e plaquetas, levando a um aumento da adesão dessas células entre si e ao endotélio ativado, favorecendo a obstrução da circulação (ALAPAN *et al.*, 2016; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

Episódios repetidos de oclusão dos vasos e restabelecimento do fluxo contribuem para injúria de isquemia e reperfusão ao promover hipóxia transiente, geração de ROS, disfunção microvascular, ativação do sistema imune e morte celular

(REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).



**Figura 2:** Fatores que contribuem para vaso-oclusão. 1: Adesão anormal de hemácias falcizadas ao endotélio; 2: Hemólise intravascular; 3: Adesão de leucócitos ativados a eritrócitos e endotélio em decorrência de inflamação estéril; 4: Aumento da secreção de endotelina (ET-1) e depleção de óxido nítrico (NO) resultam em tônus vascular elevado; 5 e 7: Vasculopatia contribui para estreitamento da luz do vaso; 6: Agregação plaquetária estimulada por estado pró-inflamatório; 8: Vaso-oclusão (Retirado de SWITZER *et al.*, 2006).

## 6.6. Disfunção endotelial

Com o passar do tempo, o impacto da hemólise constante e de episódios de vaso-oclusão cresce, resultando em dano progressivo aos órgãos (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Drepanócitos podem interromper o fluxo da microcirculação de forma mecânica, promovendo isquemia; também estão sujeitos a sofrerem hemólise intra ou extravascular, levando a um quadro de anemia hemolítica crônica, ambas situações que danificam diretamente os vasos sanguíneos (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

A taxa em que hemólise ocorre varia de acordo com características intrínsecas das hemácias falcizadas (níveis de HbF, concentração de HbS, hidratação, densidade) e transições ambientais as quais as células são submetidas (mudança da macro para microcirculação, fluxo laminar para turbulento, normóxia para hipóxia,

meio isotônico para hipertônico, meio ácido para alcalino) (KATO, STEINBERG e GLADWIN, 2017; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Pacientes com altas taxas de hemólise são mais suscetíveis a desenvolverem vasculopatia conforme envelhecem, como consequência de injúria vascular constante (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

Hemácias de indivíduos saudáveis têm uma expectativa de vida de 120 dias; na DF, hemácias conseguem sobreviver cerca de 20 dias na circulação antes de serem destruídas (KATO, 2012; STEINBERG, 2016). Quando a hemólise é intravascular, há exposição do conteúdo dos eritrócitos ao plasma, desencadeando uma série de problemas (Fig. 3) (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). O primeiro deles é a depleção de óxido nítrico (NO) pela Hb em uma reação rápida e irreversível que gera nitrato inerte ( $\text{NO}_3^-$ ) e metemoglobina ( $\text{HbFe}^{3+}$ ), diminuindo assim a biodisponibilidade de NO, e, portanto, interferindo com o cumprimento de suas funções fisiológicas, principalmente vasodilatação basal, mas também regulação da função plaquetária, das vias da inflamação, de proliferação de músculo liso e de estresse oxidativo (KATO, STEINBERG e GLADWIN, 2017; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Dois outros fatores que interferem com o NO, por meio de perturbação da atividade da enzima que o produz, a óxido nítrico sintase (NOS), são liberados no plasma durante a destruição dos eritrócitos: A enzima arginase-1 e a dimetilarginina assimétrica (ADMA) (KATO, STEINBERG e GLADWIN, 2017; KATO *et al.*, 2018). A arginase-1 compete com a NOS por L-arginina, substrato necessário para produção de NO, diminuindo assim a síntese de NO (KATO *et al.*, 2018). A ADMA, por sua vez, é um inibidor endógeno da NOS e um produto da lise de proteínas metiladas com arginina, e é abundante em eritrócitos (KATO, STEINBERG e GLADWIN, 2017; KATO *et al.*, 2018). Tanto a arginase-1 quanto a ADMA interferem com a NOS, que passa a sintetizar ROS em vez de NO (KATO *et al.*, 2018). A geração de radicais livres também pode se dar pela reação da Hb com  $\text{H}_2\text{O}_2$  pela reação de Fenton, gerando o radical hidroxila ( $\text{OH}\cdot$ ) e metemoglobina ( $\text{HbFe}^{3+}$ ) (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

A ativação anormal de endotélio e plaquetas, indicadas pela expressão irregular de moléculas de adesão, constitui outra consequência da diminuição da biodisponibilidade de NO; observa-se, portanto, que o comprometimento do metabolismo de NO contribui não apenas para o desenvolvimento de vasculopatia

progressiva sistêmica, mas também para a ocorrência de CVO (KATO *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

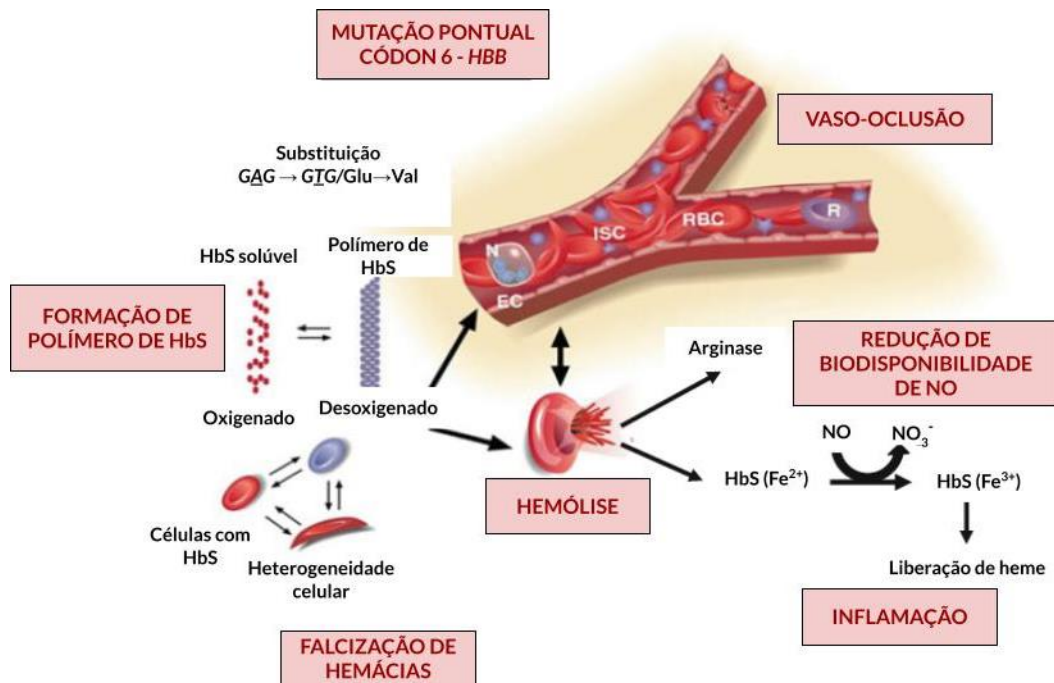
### 6.7. Inflamação

Em adição ao efeito negativo na integridade da função endotelial, Hb livre afeta o sistema imune através da sua degradação e consequente liberação de heme e ferro no plasma, os quais são considerados padrões moleculares associados ao dano (DAMPs), promotores e propagadores de inflamação (KATO *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). DAMPs também são liberados por células afetadas por isquemia decorrente de vaso-oclusão como sinal de estresse (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019), mas não ajudam no restabelecimento do fluxo; ao contrário, DAMPs ativam o sistema imune inato e aumentam a adesão de leucócitos circulantes, favorecendo obstrução dos vasos (KATO *et al.*, 2018).

Heme livre ativa neutrófilos, estimulando a liberação de armadilhas extracelulares (NETs), as quais aumentam a ativação plaquetária e a liberação de fator de crescimento placentário (PGF), ambos mecanismos que comprometem o fluxo sanguíneo, principalmente nos pulmões (KATO *et al.*, 2018). O receptor Toll-*like* 4 (TLR4) é bastante expresso em células imunes na DF (KATO *et al.*, 2018); o heme liberado após degradação de Hb é um potente agonista do TLR4, contribuindo para o estado pró-inflamatório e pró-coagulante encontrado em pacientes com DF, caracterizado pela ativação de leucócitos, células endoteliais, plaquetas, aumento dos níveis de fatores teciduais, tempestade de citocinas, depleção de NO e geração de ROS (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019).

Além do heme livre, vaso-oclusão em si favorece a ocorrência de inflamação estéril na DF devido a injúria de reperusão que sucede o restabelecimento de fluxo pós-isquemia (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Moléculas danificadas por radicais livres (proteínas, lipídeos, DNA) favorecem a ativação de morte celular e a liberação de DAMPs, com consequente ativação de receptores Toll-*like* em células endoteliais e leucócitos, levando a ativação de vias que resultam na indução de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Vários mecanismos conhecidos envolvendo as vias inflamatórias são descritos na literatura, e muitos outros continuam a serem explorados, principalmente como

possíveis alvos terapêuticos (ALAPAN *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).



**Figura 3:** Principais mecanismos da fisiopatologia da AF. EC: Célula endotelial; N: Neutrófilo; R: Reticulócito; RBC: Hemácia (Adaptado de STEINBERG, 2016).

## 7. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

### 7.1. Papel da HbF

Pacientes com AF tendem a ser menos sintomáticos durante os seis primeiros meses de vida devido à HbF presente nas hemácias em concentrações superiores às encontradas nos adultos – como já discutido anteriormente, a HbF exerce um efeito protetor contra a polimerização da HbS e suas consequências (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Após esses seis primeiros meses, a síntese das cadeias  $\gamma$ -globina presentes na HbF é reduzida, com aumento concomitante da síntese das cadeias  $\beta$  por influência de fatores genéticos e fisiológicos (AMOYAL e FIBACH, 2007; DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Com a troca, a Hb em quantidade dominante dentro dos glóbulos vermelhos passa a ser a Hb $\beta^S$ , de modo que o indivíduo perde a propriedade protetora da HbF (DE FIGUEIREDO *et*

*al.*, 2014), começando assim a apresentar as manifestações clínicas características da doença (Fig. 4).

## **7.2. Dactilite**

A dactilite (também chamada de síndrome mão-pé) geralmente é a primeira manifestação clínica musculoesquelética a afetar crianças com DF, atingindo-as entre os seis primeiros meses de vida até os seis anos, com a maior taxa de incidência ocorrendo na faixa dos 6 a 12 primeiros meses (ALDALLAL, 2017). A ocorrência de dactilite foi associada a baixas concentrações de HbF, elevada contagem de reticulócitos e baixas temperaturas (ALDALLAL, 2017). Os sintomas apresentados incluem mãos e pés inchados, sensíveis e quentes, dor aguda, febre, limitação dos movimentos e da capacidade de levantar peso (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; ALDALLAL, 2017). Acredita-se que a causa da dactilite seja infarto ou necrose tecidual nos metacarpos, metatarsos e falanges, resultado da obstrução de capilares desses tecidos por hemácias falcizadas (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; ALDALLAL, 2017). A obstrução do fluxo causa crises de dor; ademais, isquemia prolongada frequentemente causa destruição óssea dos metacarpos e falanges terminais (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; ALDALLAL, 2017).

A dactilite manifesta-se em episódios autolimitados que usualmente persistem por duas semanas, resolvendo-se no período de um mês, raramente levando a sequelas permanentes das juntas. Em casos graves, episódios de dactilite podem causar febre alta e leucocitose. É de interesse mencionar que a dactilite relacionada a DF é muitas vezes confundida com osteomielite e artrite juvenil devido à semelhança nos sintomas, reforçando a necessidade do diagnóstico adequado para melhor manejo da doença (ALDALLAL, 2017).

## **7.3. Hipostenúria**

Caracterizada pela inabilidade dos rins de concentrar a urina em condições de privação de água, a hipostenúria é a primeira alteração renal relacionada a falcização dos eritrócitos na DF a apresentar-se (ATAGA e ORRINGER, 2000; WOLF *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2015; PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021). Pode ser identificada cedo na



infância, a partir do primeiro ano de vida, e é irreversível a partir dos 15 anos em indivíduos HbSS (WOLF *et al.*, 2014; PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021). É a anormalidade renal mais observada em pacientes com DF, pois o ambiente medular renal favorece o processo de falcização por possuir baixa  $pO_2$ , osmolaridade alta e pH ácido, resultando em falcização de hemácias nos *vasa recta* e consequente obstrução do fluxo (ATAGA e ORRINGER, 2000; PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021). Com o tempo, repetidos ciclos de isquemia e infarto destroem os *vasa recta* próximos aos néfrons justamedulares, os quais atuam na concentração máxima da urina, porém como o córtex renal é relativamente poupado, em geral os pacientes retêm a capacidade de concentrar a urina adequadamente em circunstâncias normais (ATAGA e ORRINGER, 2000; WOLF *et al.*, 2014; PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021).

Hipostenúria frequentemente manifesta-se como enurese noturna, poliúria e risco de desidratação em casos de ingestão insuficiente de água ou perdas extra-renais elevadas (PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021).

Outras consequências de nefropatia encontradas em pacientes com DF incluem hematúria, infarto e necrose papilar, acidose tubular, aumento da reabsorção de sódio e fosfato, secreção elevada de ácido úrico, proteinúria, falha renal aguda e doença renal crônica (LÓPEZ REVUELTA e RICARD ANDRÉS, 2011; NAIK e DEREBAIL, 2017; PAYÁN-PERNÍA *et al.*, 2021).

#### **7.4. Síndrome torácica aguda**

A síndrome torácica aguda (STA) é uma complicação que frequentemente leva a hospitalização de pacientes com AF (PAUL *et al.*, 2011; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018). A STA é a segunda causa mais comum de internação de pacientes com DF, atrás apenas das crises algicas (PAUL *et al.*, 2011; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018). Episódios recorrentes podem causar dano pulmonar permanente e episódios agudos graves podem levar ao óbito (FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018).

“Síndrome torácica aguda” corresponde a um termo descritivo para doença pulmonar aguda em pacientes com DF, definida por novo infiltrado pulmonar e uma combinação de febre, dor no peito e sinais e sintomas pulmonares como tosse,

taquipneia e dispneia, decorrentes de uma patogênese que inclui oclusão de vasos pulmonares por hemácias falcizadas, infecção, embolismo gorduroso devido à infarto da medula óssea e infarto pulmonar (PAUL *et al.*, 2011; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018).

Múltiplos fatores foram apontados como de risco para o desenvolvimento de STA, os mais proeminentes em pacientes com DF sendo infecção, asma e hiper responsividade das vias aéreas, idade (maior incidência em crianças entre 2 e 4 anos de idade, com declínio gradual do número de episódios a partir da segunda década de vida), hipóxia crônica noturna, anestesia e cirurgia (principalmente procedimentos abdominais, como colecistectomia e esplenectomia, não incomuns em pacientes com AF), tabagismo, sazonalidade (STA tem maior incidência durante o inverno), uso de opioides, CVO, tromboembolismo pulmonar e fatores genéticos (pacientes com genótipo HbSS tem maior chance de desenvolver STA dentre os pacientes com outros tipos de DF) (PAUL *et al.*, 2011; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018).

Episódios de STA podem complicar-se de diversas maneiras: Falha respiratória com requerimento de ventilação mecânica, eventos neurológicos (estado mental alterado, convulsão, anormalidades neuromusculares), hipertensão pulmonar aguda, tromboembolismo, danos renais, coagulopatias e óbito – este majoritariamente associado a embolismos e pneumonia, embora hemorragia pulmonar, *cor pulmonale*, choque hipovolêmico decorrente de sequestro esplênico, sepse e hemorragia intracraniana também tenham sido apontados como contribuintes para a mortalidade de pacientes com STA (PAUL *et al.*, 2011).

### **7.5. Acidente vascular cerebral**

Indivíduos com AF têm predisposição ao acidente vascular cerebral hemorrágico (AVCh) e ao acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi) devido à hemólise crônica e eventos vaso-oclusivos (MAGALHÃES *et al.*, 2020). Observou-se que o AVCi é predominante em crianças, enquanto que o AVCh é mais frequente em adultos (SWITZER *et al.*, 2006; DOS SANTOS *et al.*, 2019). O risco de AVC é maior após os dois primeiros anos (devido ao papel protetor da HbF) até o final da primeira década de vida (VERDUZCO e NATHAN, 2009).

Clinicamente, identifica-se o AVC pela ocorrência de hemiparesia ou convulsões focais. Na maioria dos casos, a fraqueza muscular é passageira, porém epilepsia, espasticidade e comprometimento cognitivo persistem além do evento inicial. O AVCh prova-se fatal em um quarto dos pacientes, enquanto que o AVCi por si só raramente leva a morte (SWITZER *et al.*, 2006).

Há ainda pacientes que apresentam o chamado AVC silencioso, caracterizado pela visualização de área de isquemia em estudo de imagem, contudo sem manifestação clínica evidente (DOS SANTOS *et al.*, 2019), cuja susceptibilidade apresenta-se especialmente em crianças (HIRTZ e KIRKHAM, 2019). O risco de haver comprometimento cognitivo subsequente é maior em casos de AVCh ou AVCi, todavia casos de AVC silencioso também podem causar sequelas – até mesmo pacientes que não apresentam evidências de infarto cerebral encontram-se em algum risco de enfrentar algum prejuízo (HIRTZ e KIRKHAM, 2019).

Medidas para prevenir a ocorrência de AVC concentram-se em reduzir a exposição de pacientes a fatores de risco como baixas temperaturas, trauma, desidratação e perda de sangue (HIRTZ e KIRKHAM, 2019). Transfusão sanguínea também é utilizada como medida preventiva, principalmente em crianças (DEBAUN, DERDEYN e MCKINSTRY III, 2006). Para diagnóstico e determinação do risco de AVC, emprega-se com frequência o Doppler transcraniano para rastreamento de velocidades anormais no fluxo sanguíneo das artérias cerebrais (DEBAUN, DERDEYN e MCKINSTRY III, 2006; VERDUZCO e NATHAN, 2009). Quanto mais cedo realizado o diagnóstico, maiores são as chances de minimizar as consequências de AVC em crianças com AF (DEBAUN, DERDEYN e MCKINSTRY III, 2006; HIRTZ e KIRKHAM, 2019).

## **7.6. Comprometimento esplênico e infecções**

Na primeira infância de indivíduos com AF, pode ocorrer esplenomegalia como consequência da congestão da polpa vermelha do baço. A retirada de hemácias falcizadas da circulação pelo baço através do sequestro dessas células pelos cordões esplênicos e capilares sinusóides pode evoluir para trombose e infartos que culminam em atrofia e fibrose esplênica, processo denominado auto esplenectomia, o qual geralmente ocorre até os cinco anos de idade. Entretanto, mesmo antes desse severo

comprometimento esplênico, a capacidade de fagocitose mediada por opsoninas e a produção de anticorpos são prejudicadas como resultado da constante agressão ao baço, resultando em asplenia funcional que se torna permanente na faixa do sexto ao oitavo ano de vida. A consequência maior da asplenia é susceptibilidade aumentada a infecções, particularmente por microrganismos encapsulados como as bactérias *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) e a *Streptococcus pneumoniae* (também chamada pneumococo). Infecções, acompanhadas de desidratação, acidose e hipóxia podem promover a ocorrência de CVO, pois estimulam a produção de citocinas inflamatórias e a expressão de moléculas de adesão por células endoteliais, favorecendo a adesão de hemácias falcizadas bem como de leucócitos ao endotélio vascular, propiciando o estabelecimento de um ciclo vicioso perigoso para o paciente, que pode se provar letal caso não seja tratado de maneira adequada (DI NUZZO e FONSECA, 2004; SOUZA *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018).

Infecções por alguns tipos de vírus foram associadas à crise aplástica (queda de níveis basais de hemoglobina e reticulocitopenia importante) transitória, em especial o parvovírus B19, cujo principal alvo é a célula eritróide imatura – como a AF cursa com anemia hemolítica crônica, há uma hiperplasia compensatória da série eritróide, e a destruição dessas células imaturas, seguida da interrupção na síntese de eritrócitos, leva a uma acentuação da anemia já existente, podendo esta ser acompanhada de leucopenia e/ou trombocitopenia (DI NUZZO e FONSECA, 2004).

Otite média aguda, pneumonia, osteomielite, artrite séptica, meningite, gastroenterite, infecções do trato urinário e septicemia são tipos de infecções observadas frequência em indivíduos com AF, todas relacionadas ao comprometimento da resposta imune em decorrência da asplenia funcional (DI NUZZO e FONSECA, 2004).

A auto esplenectomia não ocorre em todos os indivíduos com AF que apresentam esplenomegalia; há casos em que a esplenomegalia persiste além da primeira década de vida, relacionada a crises de sequestro, infarto massivo e abscesso, necessitando assim de esplenectomia cirúrgica para remoção do baço. Ao passo que há uma diminuição de problemas relacionados à esplenomegalia pós-cirurgia, o paciente que teve seu baço retirado é tão ou mais vulnerável a infecções do que pacientes com baços atrofiados (AL-SALEM, 2011).

### **7.7. Colelitíase**

Litíase biliar decorrente de hemólise crônica ocorre com frequência significativa em pacientes com DF a partir dos cinco anos de idade, com aumento progressivo durante a adolescência e idade adulta (GUMIERO *et al.*, 2007; TRAINA e SAAD, 2007). A formação de cálculos biliares acontece devido a destruição prematura de hemácias falcizadas em grande escala, e geralmente é acompanhada de hiperbilirrubinemia indireta crônica (GUMIERO *et al.*, 2007). Pacientes com genótipo HbSS apresentam maiores concentrações de bilirrubina indireta, portanto são mais suscetíveis a desenvolverem colelitíase (GUMIERO *et al.*, 2007; TRAINA e SAAD, 2007). Tipicamente, os sinais e sintomas apresentados são icterícia, plenitude pós-prandial, dor abdominal, intolerância a alimentos gordurosos, náusea e vômito (GUMIERO *et al.*, 2007; EBERT, NAGAR e HAGSPIEL, 2010). Caso a colelitíase seja acompanhada de colecistite aguda, pode haver alteração de hábitos intestinais, febre, aumento de icterícia, colúria ou acolia fecal (GUMIERO *et al.*, 2007).

Por ser um sintoma inespecífico, a dor abdominal da colelitíase apresenta um desafio diagnóstico, pois precisa ser diferenciada de outras causas comuns (parasitoses, constipação, intolerância ou alergia alimentar) e de outras causas inerentes a DF (sequestro hepático ou esplênico de hemácias, CVO) (GUMIERO *et al.*, 2007; EBERT, NAGAR e HAGSPIEL, 2010). Complicações da litíase biliar incluem colecistite, dismotilidade da vesícula biliar, pancreatite, colangite, perfuração da vesícula e migração do cálculo (GUMIERO *et al.*, 2007). Entretanto, há pacientes que são diagnosticados com litíase biliar através de ultrassonografia ainda na fase assintomática, e assim continuam por muito tempo (GUMIERO *et al.*, 2007). Infartos decorrentes de crises agudas de falcização, colestase intra-hepática, coledocolitíase e suscetibilidade aumentada hepatites também constituem complicações hepáticas encontradas na DF (TRAINA e SAAD, 2007; EBERT, NAGAR e HAGSPIEL, 2010).

### **7.8. Úlceras de membros inferiores**

Ulcerações nos membros inferiores constituem as manifestações cutâneas mais comuns apresentadas por pacientes com DF; são acompanhadas de dor crônica intensa e possuem altas taxas de recorrência, afetando de modo significativo a qualidade de vida dos pacientes (GRANJA *et al.*, 2020). Estudos descrevem maior

acometimento em pacientes com AF, ocorrendo com maior frequência a partir da segunda década de vida (MINNITI *et al.*, 2010; GRANJA *et al.*, 2020). Os mecanismos envolvidos na patogênese ainda não estão completamente elucidados, embora acredite-se que a interação de fatores como vaso-oclusão, disfunção endotelial, hipercoagulabilidade, inflamação crônica e injúria tecidual isquêmica tenha influência, em adição à fatores locais específicos – a falta de dificuldade de cicatrização em outras áreas além das pernas sugere que elementos locais têm grande importância na patogênese, de modo que a doença venosa crônica (aqui caracterizada por insuficiência de drenagem dos tornozelos e constante elevação da pressão venosa, favorecendo a cicatrização lenta e o possível início das úlceras) foi associada à ocorrência das lesões, como demonstram dados da literatura (ALDALLAL, 2019; GRANJA *et al.*, 2020).

As lesões são caracterizadas por terem limites bem definidos e bordas elevadas, semelhante a perfurações; é comum pequenas úlceras aparecerem de forma simultânea e coalescerem, formando uma lesão maior (GRANJA *et al.*, 2020). A extremidade afetada frequentemente apresenta edema, e a pele ao redor da úlcera pode ser hiper ou hipopigmentada, com folículos pilosos esparsos e musculatura ligeiramente atrófica (GRANJA *et al.*, 2020). Devido a lentidão na cura das lesões, regularmente ocorre infecção bacteriana secundária (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Streptococcus pyogenes* caracterizam os agentes etiológicos mais isolados) (MINNITI *et al.*, 2010; GRANJA *et al.*, 2020). Quando a cicatrização por fim ocorre, o tecido formado tem pouca resistência a tração e má perfusão, sendo propenso a reabertura (GRANJA *et al.*, 2020).

### **7.9. Priapismo**

Definido pela ocorrência de ereção peniana prolongada, dolorosa e não acompanhada de estímulo sexual, o priapismo é considerado uma emergência urológica, cujo tratamento inadequado pode acarretar disfunção erétil como sequela, interferindo na qualidade de vida dos pacientes afetados (VICARI e FIGUEIREDO, 2007; ARDUINI e TROVÓ DE MARQUI, 2018). Há uma classificação que divide essa manifestação clínica em dois tipos, de acordo com o grau de oxigenação do sangue nos corpos cavernosos: Priapismo de baixo fluxo (isquêmico) e de alto fluxo (não

isquêmico) (VICARI e FIGUEIREDO, 2007). Em pacientes com DF, tipicamente se encontra a forma de baixo fluxo, que pode manifestar-se de forma aguda ou recorrente (essa denominada *stuttering*) (VICARI e FIGUEIREDO, 2007; ARDUINI e TROVÓ DE MARQUI, 2018).

A literatura traz que o priapismo em pacientes com AF está associado a baixos níveis de Hb e alterações nos biomarcadores relacionados a hemólise (bilirrubinas, desidrogenase láctica, aspartato aminotransferase e contagem de reticulócitos), embora os mecanismos associados à patogênese ainda não estejam bem definidos (VICARI e FIGUEIREDO, 2007; ARDUINI e TROVÓ DE MARQUI, 2018). Há relatos do primeiro episódio ocorrendo durante a primeira década de vida, porém considera-se que a incidência é maior entre adultos jovens entre 20-30 anos, ainda que existam poucos trabalhos que exploraram o assunto e haja uma discrepância entre os dados de prevalência apresentados, demonstrando uma necessidade de estudos mais aprofundados sobre o tema (VICARI e FIGUEIREDO, 2007; KATO, 2012; ARDUINI e TROVÓ DE MARQUI, 2018).

### **7.10. Retinopatia**

Todas as estruturas orbitais e oculares podem ser afetadas por oclusões microvasculares causadas por hemácias falcizadas, entretanto, perda de visão entre pacientes com DF é mais comumente associada à retinopatia proliferativa, a qual é mais frequente em pacientes com o genótipo HbSC. Observou-se que pacientes com AF (HbSS) apresentam com maior frequência retinopatia não-proliferativa, relacionada a sintomas mais brandos com pouca ou nenhuma perda de acuidade visual na maioria dos casos. A distinção entre retinopatia não-proliferativa e proliferativa é realizada através de achados clínicos que denotam diferentes estágios de remodelamento vascular em resposta à distúrbios na circulação, como anastomoses (associado a estágios não-proliferativos) e neovascularização (associado a estágios proliferativos) (ELSAYED *et al.*, 2019).

A incidência de retinopatia é maior em adultos, embora também já tenha sido descrita em crianças; pacientes com AF entre as idades 25 a 39 anos encontram-se em maior risco de desenvolvê-la (BONANOMI e LAVEZZO, 2013).

Outras doenças que também cursam com isquemia e neovascularização devem ser consideradas no diagnóstico diferencial, como retinopatia diabética, embolismos, infecções, doença de Eale, sarcoidose, vasculite, entre outras (BONANOMI e LAVEZZO, 2013; ELSAYED *et al.*, 2019).

### **7.11. Infarto e osteonecrose**

Osteonecrose (também chamada necrose avascular, isquêmica ou asséptica) na DF ocorre quando há infarto das cavidades medulares e epífises de ossos longos, principalmente fêmur e úmero (ALMEIDA e ROBERTS, 2005), em decorrência da falcização de hemácias, provocando isquemia tecidual (EJINDU *et al.*, 2007). Esses infartos podem causar crises de dor intensa, embora existam casos clinicamente silenciosos que só são descobertos acidentalmente mediante exame de imagem (raio-X ou ressonância magnética) (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007). Infarto da medula óssea pode resultar na liberação de glóbulos de gordura na circulação, os quais podem causar embolismo gorduroso (TSITSIKAS, BRISTOWE e ABUKAR, 2020). Disfunção de múltiplos órgãos como consequência da embolia ocorre tanto pela obstrução mecânica dos vasos quanto pela injúria tecidual resultante da ação de citocinas inflamatórias (TSITSIKAS, BRISTOWE e ABUKAR, 2020); o embolismo gorduroso é apontado na literatura como um importante contribuinte para o desenvolvimento de STA (ALMEIDA e ROBERTS, 2005).

Limitação de movimento e dor constituem os principais sintomas, com o acometimento sendo mais frequente em indivíduos entre 27-36 anos (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007; SEVERYNS e GAYET, 2021). Fatores de risco incluem idade avançada, ser do sexo masculino, alto índice de massa corporal, CVOs frequentes e histórico de STA (ADESINA e NEUMAYR, 2019). É comum que os pacientes tenham as juntas afetadas de forma bilateral; na ausência de diagnóstico precoce e tratamento o osso comprometido tende a colapsar, necessitando de cirurgia (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; ADESINA e NEUMAYR, 2019; SEVERYNS e GAYET, 2021).



### 7.12. Osteomielite

Osteomielite pode ocorrer de forma aguda ou crônica em indivíduos com DF, crianças e adultos, resultante de infecções as quais os pacientes encontram-se mais suscetíveis devido a comprometimento do baço e do sistema imune (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007; BERGER *et al.*, 2009). A medula óssea necrosada funciona como um bom meio de cultura para crescimento bacteriano (EJINDU *et al.*, 2007). Além disso, pacientes que passam por múltiplas internações têm mais chance de entrar em contato com certos patógenos no ambiente hospitalar (EJINDU *et al.*, 2007).

Os agentes etiológicos mais comumente isolados são espécies de *Salmonella* não-Typhi, seguidos por *Staphylococcus aureus* (WONG, SAKAMOTO e JOHNSON, 2001; ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007; BERGER *et al.*, 2009). Também há relatos de identificação de *Shigella sonnei*, *Escherichia coli*, *Arizona hinshawii* e *Serratia* spp. (WONG, SAKAMOTO e JOHNSON, 2001). A literatura traz que a infecção é comumente de origem hematológica, levantando a hipótese de que bacteremia de *Salmonella* spp. e outros bacilos Gram-negativos deve-se a infarto resultante de falcização de eritrócitos dentro dos vasos mesentéricos, embora espalhamento de infecções que tenham acometido úlceras de membros inferiores também aconteçam, casos em que comensais cutâneos como *S. aureus* são identificados com frequência (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007).

As manifestações clínicas incluem dor, febre, edema e limitação de movimento, características similares às encontradas em crises álgicas decorrentes de vaso-occlusão, o que dificulta a diferenciação entre infarto e infecção (WONG, SAKAMOTO e JOHNSON, 2001; ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EJINDU *et al.*, 2007; BERGER *et al.*, 2009). Não há detalhe no histórico do paciente, sinal clínico, exame laboratorial ou radiológico que ofereça uma distinção segura e definitiva entre osteomielite e CVO, com a exceção de uma cultura positiva de amostra do próprio osso afetado (BERGER *et al.*, 2009). Para obtenção desta amostra é necessário biópsia ou aspiração, procedimentos que não são realizados com frequência por serem invasivos e uma amostra representativa depender de a coleta do material ser feita antes do início da antibioticoterapia (BERGER *et al.*, 2009). Culturas de sangue periférico não oferecem um bom direcionamento em casos de osteomielite, de modo que há ausência de diagnóstico definitivo em muitos casos (BERGER *et al.*, 2009). A dificuldade em obter

um diagnóstico é altamente prejudicial para o paciente, pois aumenta o risco de septicemia e de maior destruição óssea, podendo suscitar a necessidade de antibioticoterapia prolongada, arriscando o desenvolvimento de resistência bacteriana (EJINDU *et al.*, 2007).

### **7.13. Osteopenia e osteoporose**

Estudos demonstraram que pacientes com DF possuem redução da densidade mineral óssea, atribuída a hiperplasia medular (ALMEIDA e ROBERTS, 2005) estimulada pela constante destruição de eritrócitos e consequente anemia (EJINDU *et al.*, 2007). A medula óssea vermelha (hematopoiética) é ativa em todo o esqueleto fetal, porém após o nascimento é gradualmente convertida em medula amarela a partir das extremidades; um adulto saudável tem a medula vermelha apenas no esqueleto axial (coluna vertebral, caixa torácica, esterno, pelve e ossos longos proximais), todavia indivíduos com DF têm estímulo constante para produção de hemácias, o que impede a conversão da medula vermelha em amarela nas extremidades, menos nos pequenos ossos das mãos e dos pés (EJINDU *et al.*, 2007). Com a estimulação constante, a medula vermelha expande-se, e a hiperplasia causa alargamento dos espaços medulares com estreitamento do osso cortical, podendo levar a osteopenia e osteoporose (EJINDU *et al.*, 2007).

### **7.14. Crises algícas**

Crises de dor aguda são a marca da DF, manifestando-se de forma abrupta e debilitante devido a crises de vaso-oclusão (DARBARI *et al.*, 2012; BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018). CVOs caracterizam o motivo mais comum pelo qual pacientes com DF buscam atendimento médico de emergência, sendo a principal causa de hospitalização e impactando profundamente a qualidade de vida dos indivíduos afetados (DARBARI *et al.*, 2012; BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018; SUNDD, GLADWIN e NOVELLI, 2019). Dentre os fatores que podem desencadear uma CVO encontram-se hipóxia, infecção, desidratação, febre, acidose, gravidez, menstruação, apneia do sono, etilismo, exaustão física, exposição a extremos de temperatura, diabetes, entre

outros (BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

Apesar de haver conhecimento de um número de fatores de risco, nem sempre há um gatilho claro para a ocorrência de uma CVO (BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017). Existem registros de crianças apresentando crises de dor já aos 6 meses de idade, assim que a quantidade de HbF dentro das hemácias decai e a quantidade de HbS eleva-se; a partir do primeiro ano a frequência das CVOs tende a aumentar, com os pacientes apresentando episódios intermitentes de dor aguda em intervalos variáveis ao longo da vida (DARBARI *et al.*, 2012; BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018).

A dor que acompanha a CVO é descrita de variadas maneiras: Cortante, perfurante, latejante (BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). A duração, intensidade e frequência das crises aumenta conforme os pacientes envelhecem (BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). Estudos associaram maior frequência de crises álgicas com maior taxa de mortalidade (DARBARI *et al.*, 2012; BRANDOW, ZAPPIA e STUCKY, 2017).

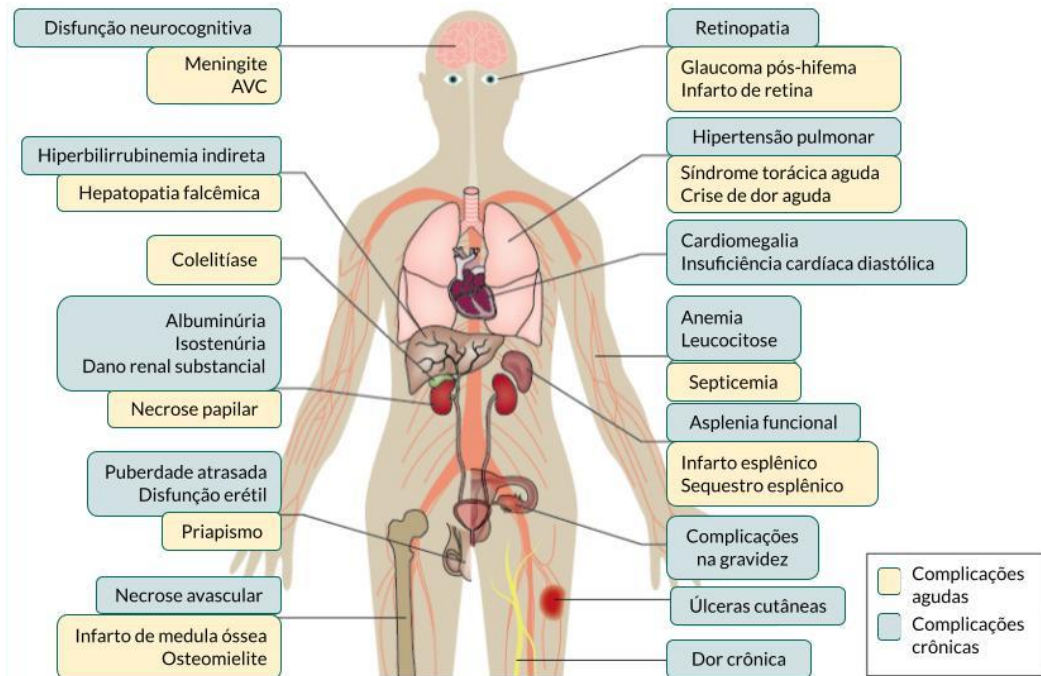
Ao realizar o diagnóstico de CVO, é importante distingui-la de episódios de agudização relacionados a complicações crônicas, como osteonecrose e osteomielite, e de outras complicações agudas como STA (DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

### **7.15. Anemia**

A anemia aguda, definida como um declínio de 2g/dL ou mais de Hb dos níveis-base, comumente acompanha a CVO, embora também possa resultar de sequestro de eritrócitos pelo baço e/ou fígado (Fig. 4), de episódios aplásicos secundários a infecção por parvovírus B19 ou de aumento de hemólise devido a infecção aguda ou reação transfusional tardia (WILLIAMS e THEIN, 2018).

Episódios constantes de hemólise intra e extravascular colocam pacientes com AF em estado de anemia crônica, o qual força a medula óssea a aumentar o ritmo de produção e maturação de eritrócitos, resultando em grandes quantidades de

reticulócitos sendo lançados na circulação periférica prematuramente e em estresse da medula (CARDEN, FASANO e MEIER, 2020).



**Figura 4:** Complicações agudas e crônicas da DF (Adaptado de KATO *et al.*, 2018).

## 8. DIAGNÓSTICO

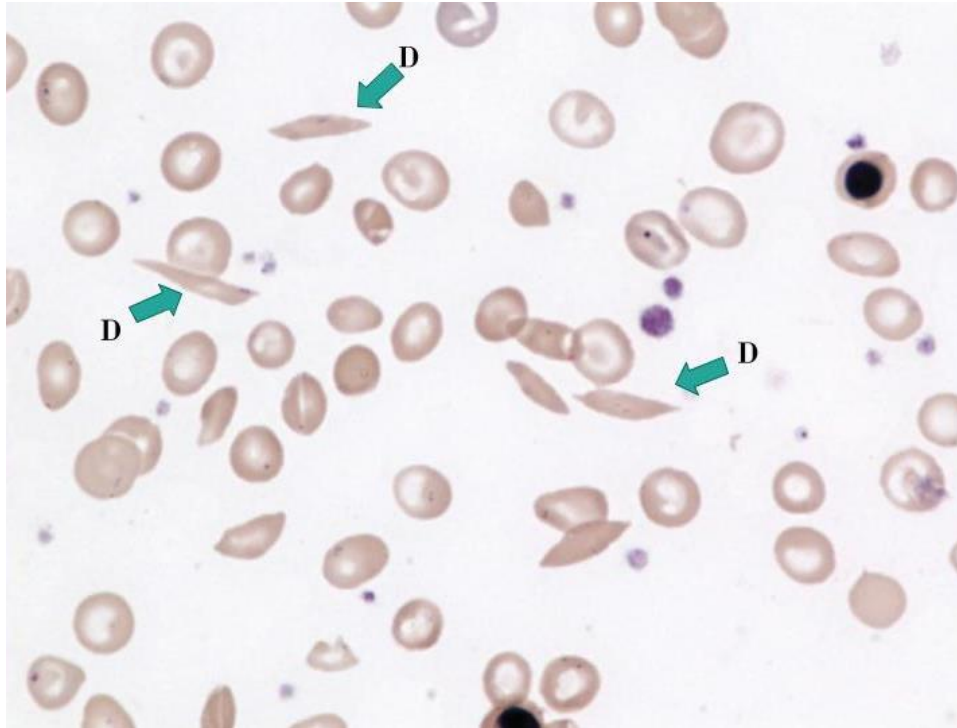
Devido às altas taxas de prevalência de AF no Brasil, foi criado em 2001 o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), também conhecido como Teste do Pezinho, com o objetivo de diagnosticar precocemente doenças responsáveis por morbimortalidade de um grande número de indivíduos caso não sejam identificadas e tratadas adequadamente – neste grupo encontra-se a DF e outras hemoglobinopatias, a fenilcetonúria, a fibrose cística, o hipotireoidismo congênito e a deficiência de biotinidase (DA SILVA *et al.*, 2017; SOUZA *et al.*, 2019). A instituição do PNTN foi feita para possibilitar o diagnóstico precoce e a aplicação de medidas preventivas importantíssimas para garantir a qualidade de vida de muitos pacientes (DA SILVA *et al.*, 2017), contudo, o Brasil é um dos poucos países em desenvolvimento que conta com uma estratégia nacional voltada para o diagnosticar a AF o quanto antes; recursos limitados para diagnóstico e tratamento são frequentes em outros países de terceiro mundo, levando a resultados insatisfatórios se tratando da qualidade e

expectativa de vida de pessoas com AF nesses países (ALAPAN *et al.*, 2016). No Brasil, caso não seja realizado o Teste do Pezinho logo após o nascimento, o Sistema Único de Saúde possibilita a obtenção de diagnóstico para pessoas inseridas na Rede Cegonha ou que buscam atendimento na Atenção Básica (BRASIL, 2018; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

O diagnóstico de hemoglobinopatias é complexo, devendo considerar diversos fatores além de dados clínicos e genéticos – idade, detalhes da coleta, condições e tempo de armazenamento da amostra têm influência sobre os resultados obtidos nos testes (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014).

Em recém-nascidos identificados durante a triagem neonatal como prováveis doentes falciformes, é requerida reavaliação laboratorial após o sexto mês de vida, quando a quantidade da HbF começa a decair, para confirmação do diagnóstico (FERRAZ e MURAO, 2007; DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014). Indica-se a instituição de medidas educativas e profiláticas após a obtenção do diagnóstico, bem como estudo familiar complementar (FERRAZ e MURAO, 2007).

Em pacientes mais velhos, não diagnosticados ao nascer, a suspeita geralmente começa devido ao fenótipo de anemia apresentado, em conjunto com histórico familiar (LEE *et al.*, 2019). Os achados laboratoriais mais comuns encontrados em exames de rotina são hemoglobina baixa (geralmente entre 6 a 9g/dL, mas há variações) e eritrócitos falciformes no esfregaço sanguíneo (Fig. 5); processos hemolíticos elevam os níveis de bilirrubina indireta e a contagem de reticulócitos (DA SILVA *et al.*, 2017). Uma vez levantada a suspeita de AF, outros testes são realizados para confirmação do diagnóstico (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014; DA SILVA *et al.*, 2017).



**Figura 5:** Esfregaço de sangue periférico corado por May-Grunwald-Giemsa mostra hemácias falcizadas em definitivo (drepanócitos apontados por setas) (Adaptado de REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010).

### 8.1. Testes de falcização e de solubilidade

Os dois testes mais básicos para detectar a presença de HbS são falcização e solubilidade (ALAPAN *et al.*, 2016). Não devem ser realizados em neonatos, pois podem resultar em falsos-negativos devido aos altos níveis de HbF ainda presente nas hemácias; caso esses testes sejam feitos com amostras de recém-nascidos, devem ser repetidos até um ano após o nascimento, quando os níveis de HbF já terão diminuído o suficiente para observar o comportamento da HbS com menos interferência (FERRAZ e MURAO, 2007; DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014).

O teste de falcização (pesquisa de drepanócitos) consiste em expor as hemácias do paciente a baixas concentrações de oxigênio através do uso de metabissulfito de sódio a 2% e vedação do sistema para posterior observação dos drepanócitos ao microscópio (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017). Embora seja um teste simples e fácil de ser realizado, carrega o ônus de ser demorado (a leitura deve ser realizada após 24 horas) e inespecífico (não distingue genótipos, apenas aponta a presença de HbS) (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017;).

O teste de solubilidade baseia-se em aplicar uma solução-tampão de fosfato concentrada a amostra de modo a reduzir (desoxigenar) a HbS, efetivamente tornando-a insolúvel e turvando a solução (ALAPAN *et al.*, 2016). Assim como o teste de falcização, é um bom método de triagem, mas é inespecífico, pouco sensível e pode produzir falsos-negativos em recém-nascidos (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017).

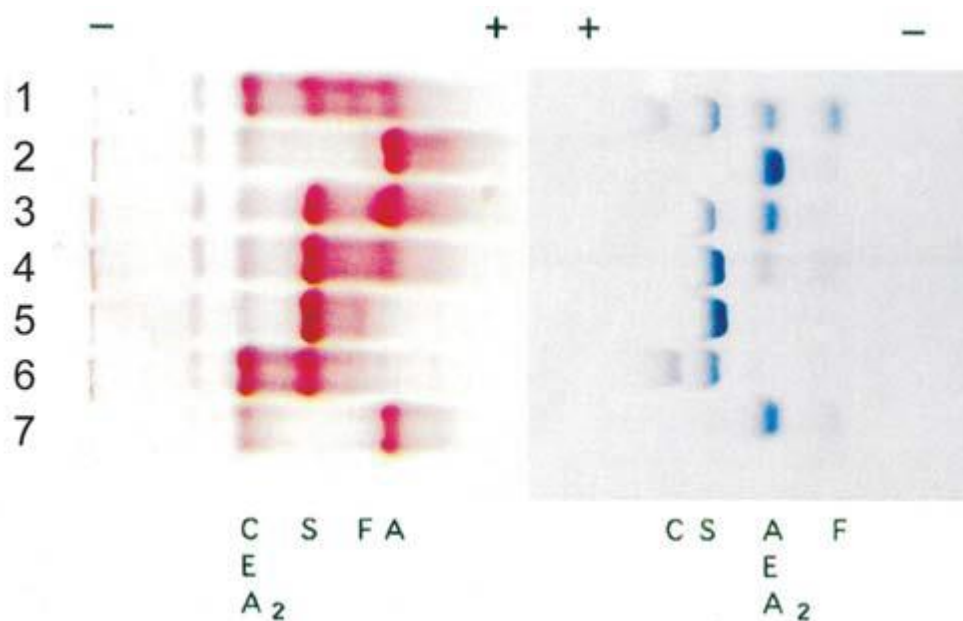
## 8.2. Eletroforese

A eletroforese de hemoglobina é muito empregada no diagnóstico pré-natal de hemoglobinopatias (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014; DA SILVA *et al.*, 2017). A técnica baseia-se na migração de íons sob a aplicação de um campo elétrico – dependendo do pH e concentração iônica do tampão utilizado, porosidade do meio de migração e cargas das moléculas teste, haverá um padrão de migração diferente (ALAPAN *et al.*, 2016; LEE *et al.*, 2019).

No caso da eletroforese de hemoglobina, o teste pode ser realizado em condições ácidas (com ágar citrato) ou alcalinas (com gel acetato de celulose) (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017); a eletroforese em acetato de celulose é muito utilizada pelos laboratórios por ser um método barato e rápido (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017; LEE *et al.*, 2019), mas em pacientes recém-nascidos a obtenção de um diagnóstico é dificultada pelos altos níveis de HbF, que atrapalham a visualização de HbS por uma dificuldade na separação das frações (BANDEIRA *et al.*, 2003). A hemoglobina é carregada negativamente, e a eletroforese em pH alcalino utiliza-se disso para promover a migração das moléculas em direção ao polo positivo por atração eletrostática, com o objetivo de separá-las durante a corrida em diferentes bandas (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017); para resolver o problema da baixa resolução entre as frações de HbS e HbF, deve ser empregada a eletroforese em pH ácido para confirmação do resultado (Fig. 6) (BANDEIRA *et al.*, 2003; ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017). A eletroforese em pH ácido possibilita também a distinção entre as frações S e D, e C e E, que são visualizadas na mesma faixa em eletroforese em pH alcalino (BANDEIRA *et al.*, 2003). Os resultados da corrida podem ser quantificados usando densitometria, porém há o risco de os valores obtidos serem imprecisos caso as moléculas estejam em baixas concentrações (ALAPAN *et al.*,

2016). A diferença na migração das frações das hemoglobinas com defeitos estruturais se deve ao fato de que as substituições de aminoácidos alteram suas cargas, portanto, alterando seus pontos isoelétricos (pI) e como se comportam em diferentes pHs, resultando em diferentes motilidades durante a corrida eletroforética (BANDEIRA *et al.*, 2003).

Embora ainda seja utilizada em cenários de recursos limitados, a associação de eletroforeses convencionais em pHs alcalino e ácido foi substituída por focalização isoelétrica e cromatografia líquida de alta eficiência na maioria dos programas de triagem neonatal, pois essas técnicas podem ser realizadas isoladamente devido a serem métodos de elevada precisão (FERRAZ e MURAO, 2007). Eletroforese capilar de zona permite corridas mais curtas ao utilizar-se de voltagens mais altas, constituindo uma alternativa em casos de falta de recursos para realização de diagnóstico através de focalização isoelétrica ou cromatografia líquida de alta eficiência (ALAPAN *et al.*, 2016).



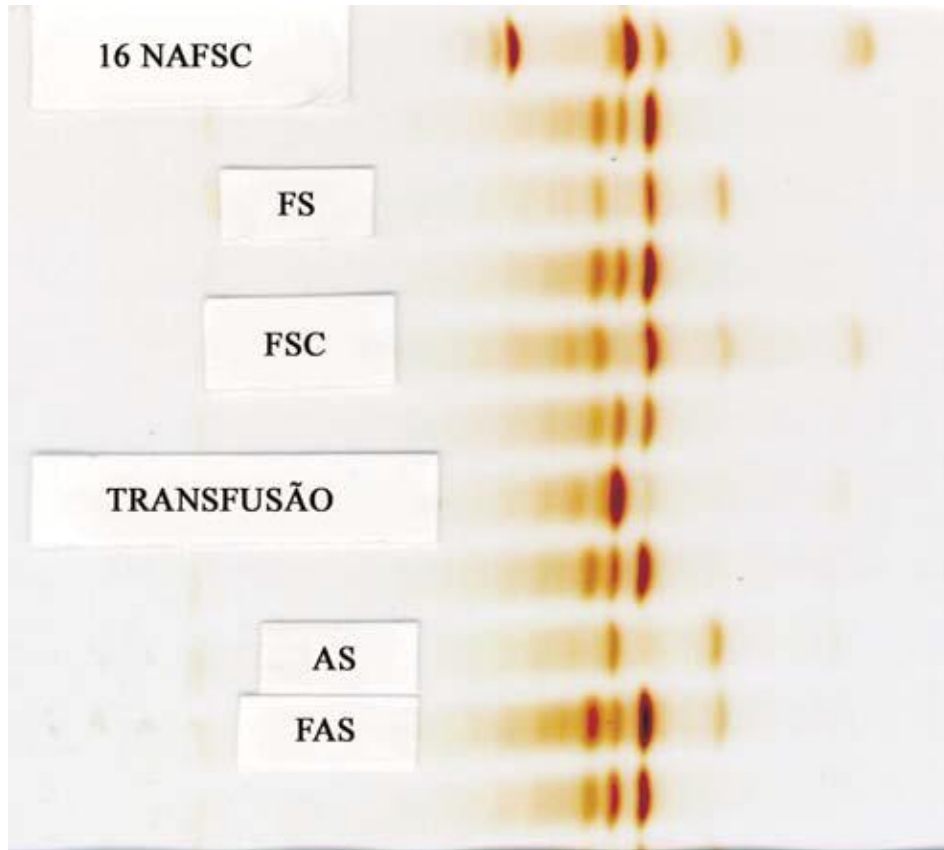
**Figura 6:** Eletroforese em acetato de celulose e pH alcalino (vermelho) e eletroforese em ágar citrato e pH ácido (azul). 1 - Controles: A, F, S e C; 2 - HbAA; 3 - HbAS; 4 - HbAS; 5 - HbSS; 6 - HbSC; 7 - HbAE (Retirado de FERRAZ e MURAO, 2007).



### 8.3. Focalização isoelétrica

O método de focalização isoelétrica (IEF) utiliza-se da variação de cargas que ocorre em uma molécula dependendo do pH do meio que a cerca; proteínas podem ser separadas por IEF dependendo de seus pontos isoelétricos (pI corresponde ao valor de pH em que uma molécula se encontra neutra, ou seja, sem carga). O princípio da IEF consiste na aplicação de um campo elétrico a um meio com gradiente de pH fixo no qual as diferentes frações de Hb tornam-se imóveis ao atingirem seu pI. A IEF tem resolução mais alta do que a eletroforese, de modo que é capaz de distinguir entre um número maior de variantes de Hb (Fig. 7) – vantajosa nesse sentido, porém tem o revés de ser mais difícil de interpretar devido ao grande número de bandas resultantes da alta resolução, além de ser mais cara que a eletroforese. Quantificação das frações de Hb é realizada através de densitometria, assim como na eletroforese, sob o mesmo risco de obter resultados inexatos em amostras com baixa concentração das moléculas de interesse (ALAPAN *et al.*, 2016).

Apesar dos inconvenientes apresentados pelo custo e quantificação passível de inexatidão, a IEF é uma das técnicas-padrão na triagem neonatal de hemoglobinopatias, pois permite a obtenção de um diagnóstico com pouco volume de sangue ou até mesmo com eluato de sangue seco (que é a amostra obtida no Teste do Pezinho) (ALAPAN *et al.*, 2016). Quando positivo, o resultado deve ser confirmado por repetição do teste na mesma amostra; resultados inconclusivos ou duvidosos devem ser reavaliados por outro método com sensibilidade e especificidade superior, de modo que é ideal que todo laboratório de triagem tenha dois métodos a disposição, um para uso de rotina e outro como complemento (FERRAZ e MURAO, 2007).



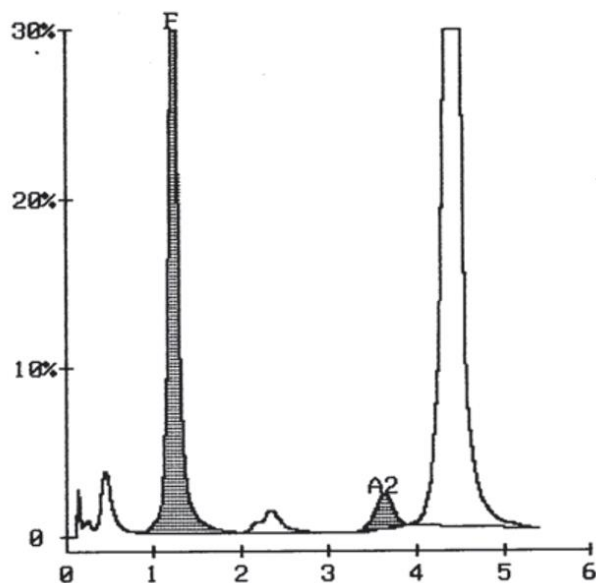
**Figura 7:** Visão parcial gel de IEF com várias corridas. 16 NAFSC: Controle na posição 16 do gel; Padrões: Hb FS, Hb FSC, Hb AS, Hb FAS; Transfusão: HbAF em neonato (Retirado de FERRAZ e MURAO, 2007).

#### 8.4. Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) é uma técnica que permite a separação de compostos ou moléculas baseada em suas características físico-químicas (tamanho, carga, polaridade); para a cromatografia de Hb, o método de troca iônica é o mais eficiente, usado com frequência por laboratórios (LEE *et al.*, 2019). Através do HPLC, é possível não apenas separar, mas também quantificar frações de HbA, HbA<sub>2</sub>, HbF, HbS e de outras variantes da hemoglobina (DA SILVA *et al.*, 2017). O método consiste na passagem da amostra por uma coluna cujo interior é revestido por uma resina com carga própria, de modo que dependendo das cargas das moléculas-teste haverá uma maior ou menor interação com a resina por atração ou repulsão eletrostática (GUPTA *et al.*, 2009). O tempo que os íons da amostra levam para passar pela coluna é chamado tempo de retenção – para moléculas conhecidas há tempos de retenção conhecidos, e é assim que é possível identificar moléculas de interesse em uma amostra (Fig. 8) (GUPTA *et al.*, 2009). Os dados obtidos durante a

corrida cromatográfica são transmitidos instantaneamente para computador associado (ALAPAN *et al.*, 2016). A alta sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade, rapidez na corrida, quantificação precisa e migração de dados para software que facilita a interpretação do resultado são aspectos vantajosos dessa técnica, porém o custo elevado do equipamento dificulta a disponibilização do HPLC para diagnóstico em locais economicamente desfavorecidos (GUPTA *et al.*, 2009; ALAPAN *et al.*, 2016). Em países ricos, IEF e eletroforese foram substituídos em grande parte pelo HPLC como método de triagem, devido a IEF e eletroforese serem técnicas mais trabalhosas, que exigem mais tempo e não quantificam as frações de Hb com precisão; além da aplicação diagnóstica, o HPLC também é utilizado no acompanhamento de pacientes tratados com transfusão sanguínea e hidroxiureia (ALAPAN *et al.*, 2016).

TECH ID#	5		
VIAL#	40		
SAMPLE ID#	0000000000000009754		
ANALYTE ID	%	TIME	AREA
F	23.1	1.24	497929
Ao	1.9	2.33	40465
A2	2.5	3.63	49906
S-WINDOW	72.1	4.42	1540002
TOTAL AREA			2128302
F	23.1%	A2	2.5%



**Figura 8:** Cromatograma de indivíduo HbSS. F: HbF; Ao: HbA; A2: HbA<sub>2</sub>; S-window: HbS; Time: Tempo de retenção em minutos (Retirado de GUPTA *et al.*, 2009).

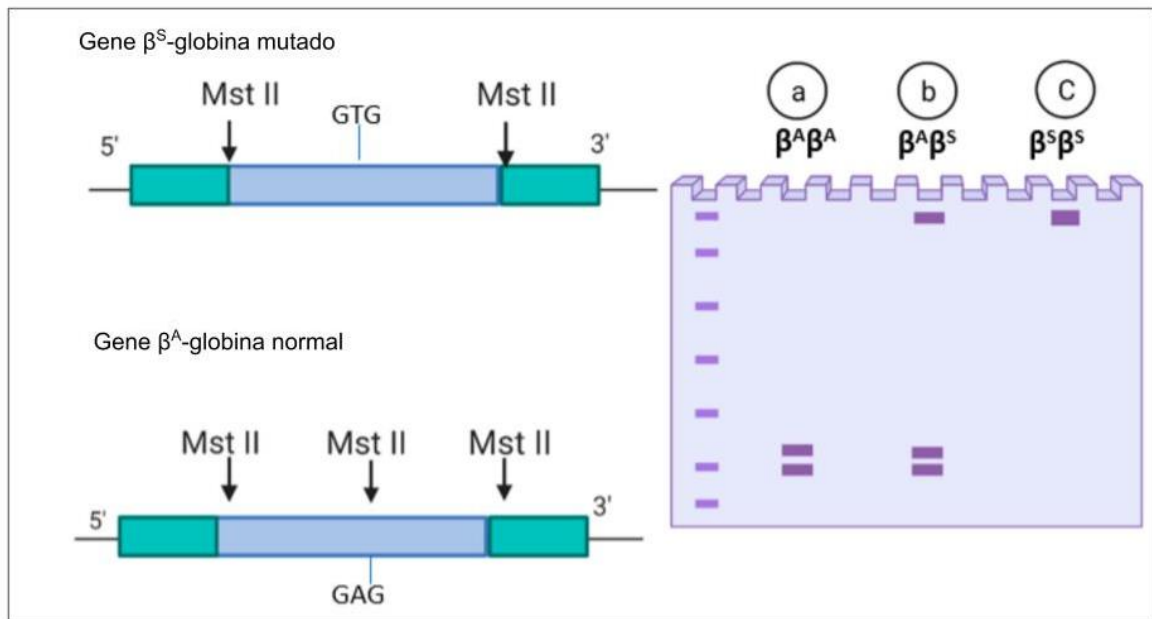
## 8.5. Análise de DNA

Ensaio moleculares capazes de detectar mutações no gene *HBB* podem ser usados para diagnosticar a AF, todavia o custo de realização desses testes é maior do que os mencionados anteriormente (ALAPAN *et al.*, 2016; DA SILVA *et al.*, 2017). O diagnóstico pode ser feito por meio de reação de polimerase em cadeia (PCR) convencional ou em tempo real (DA SILVA *et al.*, 2017).

A PCR convencional é uma técnica qualitativa capaz de detectar e amplificar o gene de interesse através de um processo que cria um grande número de cópias idênticas do DNA-alvo para análise (KUBISTA *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2017). A PCR em tempo real (RT-PCR ou qRT-PCR) é uma evolução do método convencional, pois permite não só a detecção da sequência-alvo como também sua quantificação enquanto o processo de amplificação acontece (KUBISTA *et al.*, 2006; GARIBYAN e AVASHIA, 2013; DA SILVA *et al.*, 2017).

A PCR convencional pode ser associada ao estudo dos polimorfismos no comprimento de fragmentos de restrição (PCR RFLP), utilizando-se de expor o gene *HBB* amplificado a enzimas de restrição como a MstII e a DdeI (CLARK e THEIN, 2004; ARISHI, AL-HADRAMI e ZOUROB, 2021). Na AF, devido a mutação do *HBB* em homozigose, há a remoção dos sítios de ligação dessas enzimas, impedindo seu reconhecimento e subsequente clivagem do DNA (CLARK e THEIN, 2004; ALAPAN *et al.*, 2016; ARISHI, AL-HADRAMI e ZOUROB, 2021). Eletroforese em gel é realizada para análise dos fragmentos de DNA amplificados, possibilitando a observação de uma única banda correspondente ao gene *HBB* de indivíduos com AF, em contraste com as várias bandas encontradas em amostras de pacientes heterozigotos ou saudáveis (Fig. 9) (ALAPAN *et al.*, 2016; ARISHI, AL-HADRAMI e ZOUROB, 2021).

O uso de PCR RLFP costumava ser uma técnica popular para diagnosticar a mutação causadora da AF, mas em tempos recentes houve um favorecimento do sequenciamento direto do gene *HBB* por técnicas mais sofisticadas, seguido de análise de variáveis do *locus*  $\beta$ -globina (ALAPAN *et al.*, 2016).



**Figura 9:** PCR RLFP: (Esquerda) Devido a substituição de adenina por timina, a MstII perde seu sítio de ligação no *HBB*. (Direita) Esquema de gel de eletroforese; a –  $\beta^A \beta^A$ : Indivíduo saudável, apresenta duas bandas devido a clivagem do gene em dois fragmentos; b –  $\beta^A \beta^S$ : Indivíduo com traço falciforme, apresenta duas bandas que representam a clivagem do alelo  $\beta^A$  normal e uma banda que representa o alelo  $\beta^S$  não clivado; c –  $\beta^S \beta^S$ : Indivíduo com anemia falciforme, apresenta somente uma banda correspondente aos dois alelos mutados não clivados (Adaptado de ARISHI, AL-HADRAMI e ZOUROB, 2021).

## 8.6. Exames complementares

Adicionalmente aos testes voltados para detecção de HbS ou de mutações no gene *HBB*, também são realizados exames complementares para acompanhar a evolução clínica dos pacientes com AF (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014).

Exames de imagem como raio-X, ressonância magnética nuclear e tomografia computadorizada são frequentemente empregados na investigação de complicações ósseas (dactilite, osteonecrose, osteomielite, osteoporose, osteopenia), esplenomegalia e STA (WONG, SAKAMOTO e JOHNSON, 2001; AL-SALEM, 2011; ALDALLAL, 2017; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018). A ultrassonografia abdominal permite a detecção de litíase biliar (GUMIERO *et al.*, 2007).

Exames específicos podem ser requeridos para certas manifestações clínicas: Culturas microbiológicas em casos de STA e osteomielite para identificação de agentes patológicos (WONG, SAKAMOTO e JOHNSON, 2001; FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018); Doppler transcraniano para rastreamento de risco de AVC, principalmente em crianças, através da detecção da velocidade do fluxo

sanguíneo nas artérias do Polígono de Willis (DEBAUN, DERDEYN e MCKINSTY III, 2006; MAGALHÃES *et al.*, 2020); gasometria arterial para determinar a pO<sub>2</sub> em casos de STA (FAROOQ, ABU OMAR e SALZMAN, 2018); testes de acuidade visual e angiografia fluoresceínica para avaliação de estruturas oculares quando há suspeita de retinopatia (BONANOMI e LAVEZZO, 2013). Outras complicações podem ser detectadas em exames de rotina, a exemplo do priapismo e das úlceras cutâneas, facilmente observadas durante o exame físico (VICARI e FIGUEIREDO, 2007; ALDALLAL, 2019), e da nefropatia relacionada a AF, avaliada através de exames bioquímicos e urinálise (NAIK e DEREBAIL, 2017).

A avaliação do hemograma completo e de painel bioquímico, assim como exame clínico e interpretação do histórico do paciente, têm papel indispensável no acompanhamento da progressão das complicações agudas e crônicas (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014).

## **9. TRATAMENTO**

A terapêutica aplicada a pacientes com AF tem evoluído junto com o entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença (WILLIAMS e THEIN, 2018). Por muito tempo, o manejo das complicações agudas e crônicas foi relegado a aplicação de paliativos, e embora certas manifestações clínicas ainda sejam remediadas desta forma, atualmente existem opções mais refinadas para o tratamento (DE FIGUEIREDO *et al.*, 2014; WILLIAMS e THEIN, 2018).

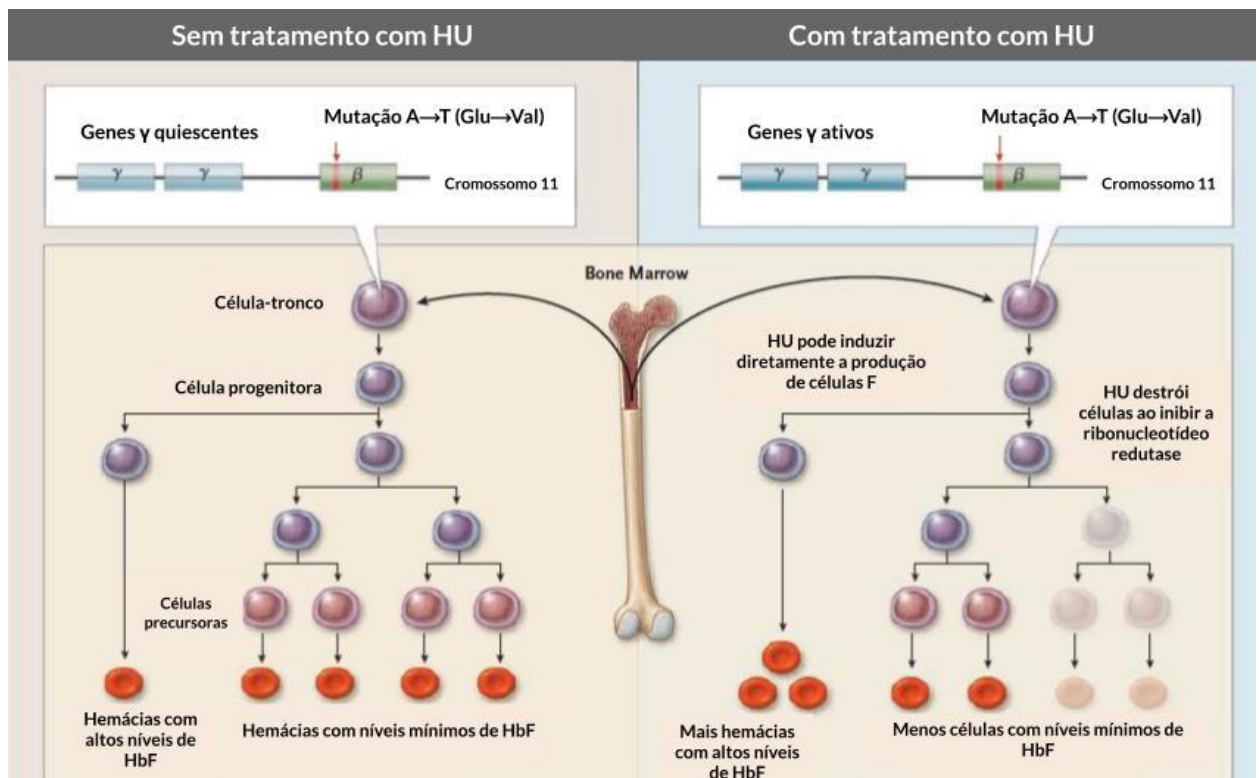
Há um número crescente de opções animadoras que mostram potencial para tratamento da AF, porém é preciso ressaltar que populações ricas têm maior facilidade de acessar tais avanços, enquanto que populações de baixa renda ainda precisam contentar-se com alternativas terapêuticas de menor eficácia por serem de baixo custo (KATO *et al.*, 2018).

### **9.1. Hidroxiureia**

A hidroxiureia (HU), também conhecida como hidroxycarbamida, é considerada a opção farmacológica mais eficaz para DF (PLATT, 2008; BRASIL, 2018). Trata-se de um fármaco citotóxico usado por décadas para redução de hematócrito e contagem

de plaquetas em pacientes com policitemia vera (PLATT, 2008). A HU é um potente inibidor da ribonucleotídeo redutase, enzima de importância na síntese do DNA – especula-se que seja essa a chave para os diversos efeitos terapêuticos da HU, que tem ação quimioterápica em neoplasias hematológicas (PLATT, 2008; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018).

O efeito citotóxico da HU na DF advém da redução de eritrócitos contendo altos níveis de HbS, os quais tendem a serem originados de precursores de proliferação rápida, e favorecimento da produção de eritrócitos com altos níveis de HbF (chamados “células F”), originados de precursores de multiplicação lenta (Fig. 10) (PLATT, 2008; ALAPAN *et al.*, 2016). Através de outros mecanismos ainda não totalmente compreendidos, a HU também promove redução de leucócitos, plaquetas, reticulócitos, expressão de moléculas de adesão e liberação de citocinas inflamatórias, bem como aumento da produção de NO, reduzindo as chances de ocorrerem episódios vaso-oclusivos (PLATT, 2008; WILLIAMS e THEIN, 2018; ABDUL-HUSSEIN, AL-MAMMORI e HASSAN, 2021).



**Figura 10:** Mecanismo de ação da HU na AF: Favorecimento de maturação de células F e destruição de células com alto conteúdo de HbS (Adaptado de PLATT, 2008).

Comumente – mas não universalmente – o uso de HU resulta em aumento dos níveis de HbF (WILLIAMS e THEIN, 2018). Diversos estudos apontam este como sendo o benefício maior do uso de HU no tratamento da DF devido ao papel protetor atribuído a HbF contra a falcização eritrocitária por inibir a polimerização de HbS (PLATT, 2008; REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; ALAPAN *et al.*, 2016; WARE *et al.*, 2017; BRASIL, 2018; KATO *et al.*, 2018; STEINBERG, 2020). Outros fármacos também possuem a capacidade de elevar os níveis de HbF, porém a maioria apresenta efeitos tóxicos que os descartam como opções viáveis para terapias de longo prazo (WARE *et al.*, 2017). A HU foi escolhida por sua eficácia e boa tolerância em geral (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018). Estudos clínicos apontaram redução na frequência de CVOs, hospitalizações e risco de mortalidade de pacientes em uso de HU (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018).

Recomenda-se uma dose inicial de HU de 15mg/kg/dia, via oral, com aumento de 5mg/kg/dia a cada quatro semanas até atingir a dose máxima de 35mg/kg/dia, ou até que ocorra toxicidade hematológica ou outro efeito adverso grave (PLATT, 2008; BRASIL, 2018). Os efeitos adversos associados a HU podem ser neurológicos (cefaleia, tontura, letargia, alucinações, desorientação), gastrointestinais (estomatite, anorexia, náusea, vômito, diarreia, constipação), dermatológicos (erupções, eritema, surgimento ou agravamento de ulcerações), renais (elevação de ureia e creatinina), hepáticos (elevação de enzimas hepáticas), reprodutivos (oligospermia, azoospermia, teratogênese), hematológicos (mielotoxicidade, mielossupressão, hiperesplenismo infantil), entre outros (calafrios, febre, mal-estar) (BRASIL, 2018). Todos os efeitos adversos da HU merecem atenção, pois são motivo importante na contribuição da má adesão ao tratamento por parte dos pacientes (KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018). Efeitos adversos, quando moderados a graves, exigem suspensão temporária do uso, podendo haver reintrodução dependendo do dano causado e da vontade do paciente (BRASIL, 2018). Mielotoxicidade e mielossupressão devem ser monitoradas cuidadosamente com exames hematológicos, constituindo os efeitos adversos mais comuns (PLATT, 2008; REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; ALAPAN *et al.*, 2016; BRASIL, 2018).

Estudos relatam que a HU tem um histórico de subutilização devido a preocupações com carcinogênese, teratogenicidade e infertilidade, relacionadas a



resultados de estudos com modelos animais (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; KATO *et al.*, 2018). Embora indivíduos em uso de HU sejam geralmente aconselhados a evitarem concepção, ainda não há dados na literatura que corroborem efeitos teratogênicos em humanos (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; KATO *et al.*, 2018). Com a divulgação recente de estudos clínicos detalhando os benefícios em HU, tanto em adultos como em crianças, observa-se uma crescente prescrição de HU para pacientes com AF (PLATT, 2008; REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018; KATO *et al.*, 2018; STEINBERG, 2020).

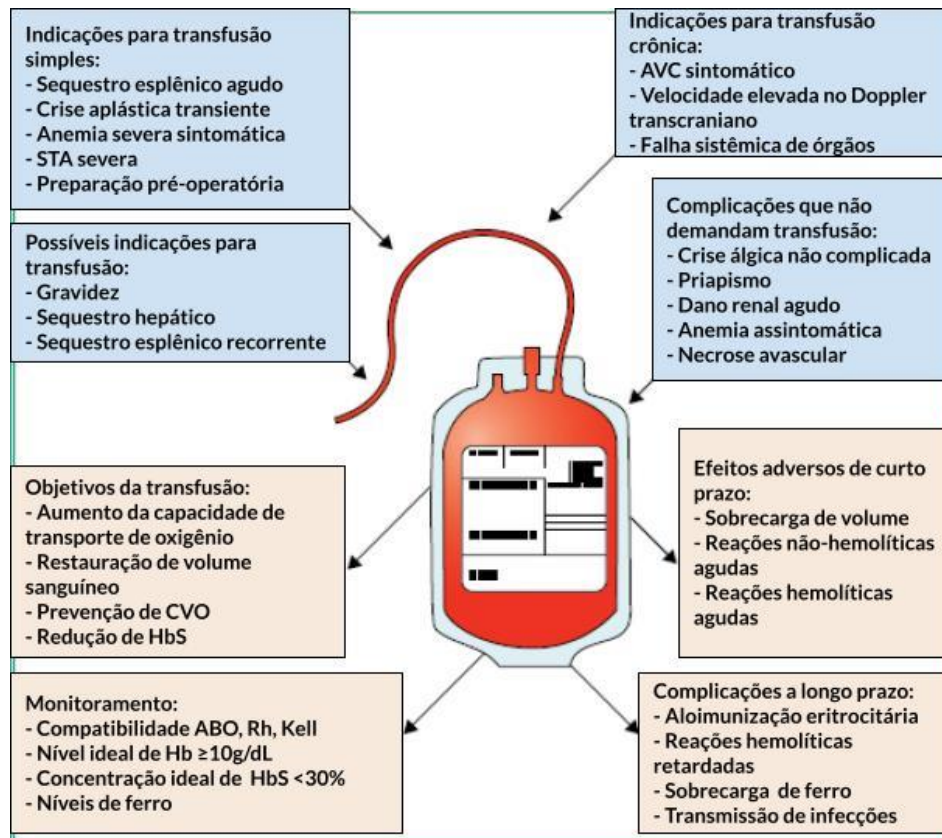
## **9.2. Transfusão sanguínea e quelação de ferro**

A transfusão de hemácias tem papel importante no manejo de complicações agudas e crônicas da AF (Fig. 11); corrige anemia, diminui a concentração de HbS e o número de drepanócitos circulantes, reduz hemólise, injúria vascular e inflamação (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; KATO *et al.*, 2018). Transfusões crônicas são empregadas com frequência na redução do risco de AVC em indivíduos (principalmente crianças, mas adultos também) com resultados preocupantes no Doppler transcraniano (DEBAUN, DERDEYN e MCKINSTRY III, 2006; ALAPAN *et al.*, 2016; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018). É um elemento essencial no tratamento da AF, mas não é desprovido de riscos, principalmente de aloimunização, transmissão de infecções, sobrecarga de ferro e reações transfusionais (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018).

Aloimunização decorrente de exposição a antígenos eritrocitários não-próprios é uma complicação relativamente comum, a qual pode levar a dificuldades na obtenção de hemocomponentes compatíveis, reações transfusionais retardadas, significativa morbidade e até mesmo mortalidade (ALAPAN *et al.*, 2016; WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018). Para amenizar este problema, é necessário assegurar a compatibilidade entre pacientes e doadores cuidadosamente através de fenotipagem de amostras e realização de prova cruzada (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018).

Sobrecarga de ferro é uma consequência de transfusões crônicas, com depósito de ferro (hemossiderose) ocorrendo no fígado (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010;

ALAPAN *et al.*, 2016; WARE *et al.*, 2017). Quelação deve ser realizada para prevenir complicações que podem se provar fatais (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017). Desferroxamina (uso parenteral) e deferasirox (via oral) são duas opções de quelantes de ferro que podem ser empregados para esse fim (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017).



**Figura 11:** Aspectos de transfusão sanguínea na AF (Adaptado de WARE *et al.*, 2017).

### 9.3. Terapias adjuvantes

Pacientes com AF podem necessitar de cirurgia para aliviar prejuízos decorrentes de complicações crônicas, como remoção do baço, vesícula biliar e osso comprometido (ALMEIDA e ROBERTS, 2005; EBERT, NAGAR e HAGSPIEL, 2010; AL-SALEM, 2011).

Vacinação e antibioticoterapia profilática são empregadas para prevenir a ocorrência de infecções graves, principalmente em crianças (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SOUZA *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018). Acredita-se

que vários mecanismos estão associados a susceptibilidade aumentada a infecções, dentre os quais encontram-se comprometimento esplênico, defeitos na ativação do sistema complemento, deficiência de micronutrientes e isquemia tecidual (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SOUZA *et al.*, 2016). Estudos demonstraram redução de bacteremia em pacientes que fizeram uso de penicilina de forma profilática e foram imunizados contra Hib e pneumococo, contribuindo para diminuição de taxas de mortalidade (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SOUZA *et al.*, 2016; KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018).

Apesar da importância das crises algícas – pois constituem o principal motivo de hospitalização de pacientes com AF – não há tratamentos específicos direcionados a elas (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010). Anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e esteroidais (corticoides), opioides orais e parenterais são utilizados com o objetivo de promover analgesia, porém não há protocolo fixo para o uso de nenhum deles, devendo a equipe da unidade de saúde determinar o procedimento a seguir ao atender um paciente em crise de dor aguda, embora existam programas adotados por certas instituições que buscam padronizar a conduta voltada para esses casos (SOUZA *et al.*, 2016; BRASIL, 2018; KATO *et al.*, 2018; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). Em eventos leves a moderados, pacientes podem receber a recomendação de hidratarem-se, descansarem e fazerem uso de analgésicos orais para diminuir a dor sem precisarem se dirigir ao hospital, entretanto casos graves necessitam de atenção médica de urgência, e estes não são infrequentes (KATO *et al.*, 2018; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

#### **9.4. Transplante de células-tronco hematopoiéticas e terapia gênica**

O transplante de células-tronco hematopoiéticas (HSCT) é o único tratamento curativo da DF (WARE *et al.*, 2017; BRASIL, 2018; STEINBERG, 2020). Recomenda-se o HSCT alogênico mieloablativo para indivíduos HbSS e HbS $\beta$ tal em uso de HU com complicações graves não infecciosas (KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018). Apesar de apresentar a melhor alternativa para pacientes com DF, apenas um número pequeno de pacientes tem acesso a esse tratamento, pois além de ter um custo elevado também exige doador com HLA (Antígeno Leucocitário Humano) compatível; geralmente são testados os irmãos dos pacientes (REES, WILLIAMS e GLADWIN,

2010; WARE *et al.*, 2017; KATO *et al.*, 2018; BRASIL, 2018). Há uma preferência por realizar o transplante em crianças com doenças cerebrovasculares que possuem irmãos com HLA compatível, pois são pacientes com maiores chances de obterem resultados de sucesso, embora modificações no procedimento tenham possibilitado a realização de HSCT em adultos com disfunção de órgãos, os quais teriam sido considerados inelegíveis para o tratamento com a ablação de medula tradicional (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018; BRASIL, 2018).

A compatibilidade HLA é um grande obstáculo para realização de HSCT, pois não são encontrados doadores idealmente compatíveis para a grande maioria dos pacientes (WILLIAMS e THEIN, 2018). O doador ideal é aquele que tem o HLA idêntico ao do receptor; na ausência de compatibilidade ideal, pode-se explorar a possibilidade de um transplante haploidêntico (compatibilidade de 50%), embora já se saiba que transplantes haploidênticos não tem o mesmo nível de sucesso que transplantes com HLA idêntico, apresentando maior risco de desenvolvimento da doença do enxerto *versus* hospedeiro e morte (KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018; STEINBERG, 2020).

Terapia gênica usando células geneticamente modificadas do próprio paciente (ou seja, transplante autólogo) constitui uma alternativa para evitar a doença do enxerto *versus* hospedeiro e rejeição do transplante, e uma possibilidade de aplicação a mais pacientes, pois não depende da obtenção de doadores HLA-compatíveis e não necessita de imunossupressão pré ou pós-transplante (WILLIAMS e THEIN, 2018; DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018). Diversas abordagens estão sendo exploradas, dentre elas encontram-se a adição de genes por vetores lentivirais e edição de genes (WILLIAMS e THEIN, 2018; DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018).

Vetores lentivirais estabilizados podem ser utilizados para a adição de transgene  $\beta$ -globina funcional (gene *HBB* sem mutação), adição de gene  $\beta$ -globina anti-falcização (gene *HBB* com substituição de códon de treonina por glutamina na posição 87 para diminuição de polimerização), adição de gene  $\gamma$ -globina (genes híbridos  $\gamma/\beta$  com elementos regulatórios do gene  $\beta$  e sequências codificantes das cadeias  $\gamma$ -globina promovem aumento de síntese de HbF), indução de  $\gamma$ -globina (obtida através de alteração artificial do sítio de ligação de elementos regulatórios do *cluster*  $\beta$ -like, de modo a aumentar a expressão de HbF e concomitantemente diminuir a expressão de

HbS), silenciamento de supressor de  $\gamma$ -globina (silenciamento de *BLC11A* e outros genes que reprimem a expressão de HbF) (WARE *et al.*, 2017; WILLIAMS e THEIN, 2018; DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018; STEINBERG, 2020).

Desordens monogênicas como a AF teoricamente têm o potencial de serem grandes beneficiárias de terapias de edição gênica para correção da mutação (WILLIAMS e THEIN, 2018; DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018; OLOWOYEYE e OKWUNDU, 2020). Estudos nessa área encontram-se em fases iniciais, não tendo havido ainda testes em humanos, embora pesquisadores estejam otimistas quanto as chances de obtenção de uma alternativa curativa de sucesso (DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018; OLOWOYEYE e OKWUNDU, 2020). Correção da mutação no gene *HBB* e indução da expressão de  $\gamma$ -globina através de técnicas como ZFNs (*Zinc Finger Nucleases*), TALENs (*Transcription Activator-Like Effector Nucleases*) e CRISPR/Cas9 (*Clustered Regularly Interspaced Palindromic Repeats/Associated Protein-9 nuclease*) estão sendo analisadas (DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018). Embora esforços estejam sendo empregados na otimização desses métodos para uso clínico, ainda há correções que precisam ser feitas para aumentar a eficácia de tais técnicas e impedir o desenvolvimento de efeitos adversos como imunogenicidade e malignidade (WILLIAMS e THEIN, 2018; DEMIRCI, UCHIDA e TISDALE, 2018).

### **9.5. Terapias farmacológicas emergentes**

Novas abordagens terapêuticas farmacológicas têm sido desenvolvidas nas últimas duas décadas, amparadas pelo conhecimento obtido por estudos com modelos animais da patogênese da AF e de potenciais alvos terapêuticos (WILLIAMS e THEIN, 2018; MATTE *et al.*, 2019). Fármacos que interferem na polimerização de HbS, na adesividade dos drepanócitos, no desenvolvimento de vasculopatia e agentes antioxidantes seguem sendo analisados por pesquisadores na busca de opções para prevenção e tratamento das manifestações clínicas da AF (KATO *et al.*, 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018).

Suplementação oral de aminoácido com L-glutamina foi aprovado em 2017 pelo FDA (*U. S. Food & Drug Administration*) para pacientes com DF a partir dos cinco anos de idade, com o objetivo de reduzir complicações agudas por sua atuação como antioxidante, além de especular-se possuir a capacidade de diminuir a adesão de

hemácias falcizadas ao endotélio e promover um suplemento de aminoácido que melhora a hemoglobinação durante a eritropoiese (TORRES e CONRAN, 2019; NARDO-MARINO, BROUSSE e REES, 2020).

Crizanlizumabe é um anticorpo monoclonal humanizado que se liga a P-selectina expressa na superfície de células endoteliais e plaquetas, bloqueando a interação de hemácias falcizadas através dessa molécula (MATTE *et al.*, 2019; STEINBERG, 2020; NARDO-MARINO, BROUSSE e REES, 2020). Em 2019, recebeu aprovação do FDA para diminuir a frequência de CVOs em pacientes com DF a partir de 16 anos (U. S. FOOD & ADMINISTRATION, 2019). Apresenta, porém, um obstáculo na aplicação em pacientes com acesso intravenoso difícil, pois é um medicamento de uso parenteral (U. S. FOOD & ADMINISTRATION, 2019; STEINBERG, 2020).

Voxelotor é uma molécula sintética desenvolvida para uso oral de pacientes com DF; o mecanismo de ação consiste na ligação covalente reversível entre voxelotor e a valina N-terminal da cadeia  $\alpha$ -globina da HbS, resultando em modificação alostérica da hemoglobina e estabilização da conformação da Hb quando oxigenada, prevenindo polimerização da HbS e falcização da célula (MATTE *et al.*, 2019; TORRES e CONRAN, 2019; STEINBERG, 2020; NARDO-MARINO, BROUSSE e REES, 2020). Em dezembro de 2021, o FDA aprovou a entrada de comprimidos de voxelotor no mercado através do processo de aprovação acelerada, permitindo a prescrição para pacientes com DF a partir dos onze anos de idade (U. S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION, 2021).

Muitas opções farmacológicas seguem em desenvolvimento; outras já passaram por diversos estágios de testes e falharam em produzir resultados encorajadores (NARDO-MARINO, BROUSSE e REES, 2020). A base de dados ClinicalTrials.gov, onde é possível encontrar informações referentes a estudos clínicos de financiamento público e privado ao redor do mundo, registra 19 estudos com pacientes com DF sendo realizados no Brasil (U. S. NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE, 2021). Por enquanto, as únicas terapias recomendadas pelo Ministério da Saúde Brasileiro são o uso de HU para modulação de HbS, profilaxia com penicilina, analgésicos para crises álgicas, suplementação com ácido fólico e transplante mieloablativo de células-tronco hematopoiéticas (BRASIL, 2018).

## 10. HETEROGENEIDADE FENOTÍPICA

A apresentação clínica da AF varia substancialmente, com alguns pacientes levando uma vida não tão prejudicada pela doença, enquanto outros sofrem com crises graves desde a infância, sob o risco de desenvolverem comprometimento severo dos órgãos e morrerem jovens (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; SOUZA *et al.*, 2016). A frequência, intensidade e até mesmo os próprios sintomas diferem entre pacientes, sofrendo influência de fatores genéticos e ambientais (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WILLIAMS e THEIN, 2018; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020).

Exposição a extremos de temperatura, ventos fortes e períodos de chuva foram reportados como precipitantes de crises álgicas (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WILLIAMS e THEIN, 2018; DARBARI, SHEEHAN e BALLAS, 2020). Outros fatores ambientais, estes relacionados a situação social dos pacientes, também tem influência sobre a variabilidade fenotípica da AF (WILLIAMS e THEIN, 2018). Hábitos nutricionais, acesso a cuidados médicos e apoio social têm sua importância, e são especialmente deficientes nas regiões com maior número de indivíduos com AF (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WILLIAMS e THEIN, 2018).

Quanto a fatores genéticos, os dois modulares da AF mais bem estabelecidos são determinantes da concentração eritrocitária de HbF e co-herança com  $\alpha$ -talassemia (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WILLIAMS e THEIN, 2018). A manutenção de altas concentrações de HbF por variações genéticas tem efeito protetor contra polimerização de HbS, e a herança concomitante de  $\alpha$ -talassemia reduz a concentração de hemoglobina dentro dos eritrócitos, portanto diminuindo a tendência da HbS a polimerizar-se (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; WILLIAMS e THEIN, 2018). Os efeitos observados da manutenção natural de altos níveis de HbF e da co-herança com  $\alpha$ -talassemia foram variáveis, mas no geral benéficos, contribuindo para a diminuição da frequência e severidade das manifestações clínicas (REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; HABARA e STEINBERG, 2016; WILLIAMS e THEIN, 2018). Há outros fatores genéticos com influência sobre o desenrolar da doença (HABARA e STEINBERG, 2016), e muitos deles necessitam de uma exploração mais profunda para permitir a obtenção de informações que auxiliem o prognóstico e otimizem o tratamento.

## 11. VARIABILIDADE GENÉTICA

Variabilidade na apresentação clínica da DF deve-se a interação de fatores genéticos e ambientais (WILLIAMS e THEIN, 2018), como mencionado anteriormente. A literatura traz que diferentes níveis de morbidade e mortalidade podem ser influenciados por modulação gênica advinda do genótipo (homozigose, heterozigose com outra  $\beta$ -hemoglobinopatia ou traço), co-herança com  $\alpha$ -talassemia, persistência hereditária de hemoglobina fetal (HPFH), deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), polimorfismos em *UGT1A1*, haplótipo de  $\beta$ -globina e modificadores como *BCL11A* e *HBS1L-MYB* (ALFADHLI *et al.*, 2013; CHANG *et al.*, 2018). Técnicas como GWAS (*Genome Wide Association Studies*) têm permitido a identificação de preditores genéticos da severidade da DF (CHANG *et al.*, 2018). Genes associados a modulação de HbF, CVOs, AVCs, colelitíase, função renal e outras manifestações clínicas vêm sendo identificados, porém ainda são necessários mais estudos para determinar o real impacto desses genes no fenótipo da doença (CHANG *et al.*, 2018).

Os fatores genéticos mais bem estabelecidos como influenciadores do curso clínico da DF encontram-se no Quadro 1. No entanto, a literatura traz que a variação da severidade global da doença levantou questionamentos que direcionaram à conclusão de que a etiologia primária da DF – ou seja, a polimerização da  $\beta^s$  – não é a única responsável pelas manifestações clínicas da doença, devendo, portanto, receber a contribuição de mecanismos fisiopatológicos diversos codificados por diferentes genes (GARDNER e THEIN, 2016). Associam-se a complicações de órgãos específicas diferentes variações genéticas (GARDNER e THEIN, 2016), dispostas no Quadro 2.



<b>Gene</b>	<b>Efeito associado</b>	<b>Referência</b>
<i>HBA</i> ( $\alpha$ -talassemia)	Diminuição da concentração eritrocitária de HbS; aumento da concentração eritrocitária de HbF	WILLIAMS e GLADWIN, 2010; REES, GARDNER e THEIN, 2016; WILLIAMS e THEIN, 2018; CHANG <i>et al.</i> , 2018
<i>HBG</i> (HPFH)	Aumento da concentração eritrocitária de HbF; diminuição da polimerização de HbS	LETTRE e BAUER, 2016; GARDNER e THEIN, 2016; CHANG <i>et al.</i> , 2018; MENZEL e THEIN, 2019
<i>HBS1L-MYB</i> (HMIP)	SNPs e deleções resultam em aumento da concentração eritrocitária de HbF	LETTRE e BAUER, 2016; CHANG <i>et al.</i> , 2018; WILLIAMS e THEIN, 2018; MENZEL e THEIN, 2019
<i>BCL11A</i>	Variações removem efeito silenciador sobre o gene da $\gamma$ -globina, resultando em aumento da concentração de HbF	LETTRE e BAUER, 2016; GARDNER e THEIN, 2016; WILLIAMS e THEIN, 2018; CHANG <i>et al.</i> , 2018; MENZEL e THEIN, 2019
<i>Xmnl-HBG2</i>	Alterações nos níveis de HbF (resultados discrepantes)	REES, WILLIAMS e GLADWIN, 2010; GARDNER e THEIN, 2016; CHANG <i>et al.</i> , 2018; MENZEL e THEIN, 2019
<i>KLF1</i>	Variações removem efeito silenciador sobre o gene da $\gamma$ -globina, resultando em aumento da concentração de HbF (necessita de estudos mais aprofundados)	GARDNER e THEIN, 2016; LETTRE e BAUER, 2016; WILLIAMS e THEIN, 2018
Deficiência G6PD	Aumento do risco de AVC (resultados discrepantes)	GARDNER e THEIN, 2016; CHANG <i>et al.</i> , 2018
<i>UGT1A1</i>	Polimorfismos aumentam risco de hiperbilirrubinemia e litíase biliar	ALFADHLI <i>et al.</i> , 2013; CHANG <i>et al.</i> , 2018

**Quadro 1:** Modificadores genéticos da DF.

Manifestação clínica	Gene	Principal função
Episódios de dor (CVOs, STA)	<i>MBL2</i>	Inflamação
	<i>VEGF</i>	Angiogênese
	<i>COMMD7</i>	Metabolismo de cobre
Nefropatia	<i>APOL1</i>	Resistência a <i>Trypanosoma brucei</i>
	<i>MYH9</i>	Integridade celular na Cápsula de Bowman
	<i>BMPR1B</i>	Formação de cartilagem
AVC	<i>VCAM1</i>	Adesão celular
	<i>TNF-<math>\alpha</math></i>	Inflamação
	<i>ADYC9</i>	Sinalização neuronal
	<i>ANXA2</i>	Hipercoagulabilidade
	<i>TEK</i>	Adesão celular
	<i>TGFRP3</i>	Inflamação
	<i>GOLGB1</i>	Transporte do Complexo de Golgi
	<i>ENPP1</i>	Glicoproteína transmembrana
Osteonecrose	<i>KL</i>	Regulação de Vitamina D
	<i>BMP6</i>	Inflamação e formação óssea
	<i>ANXA2</i>	Transdução de sinal

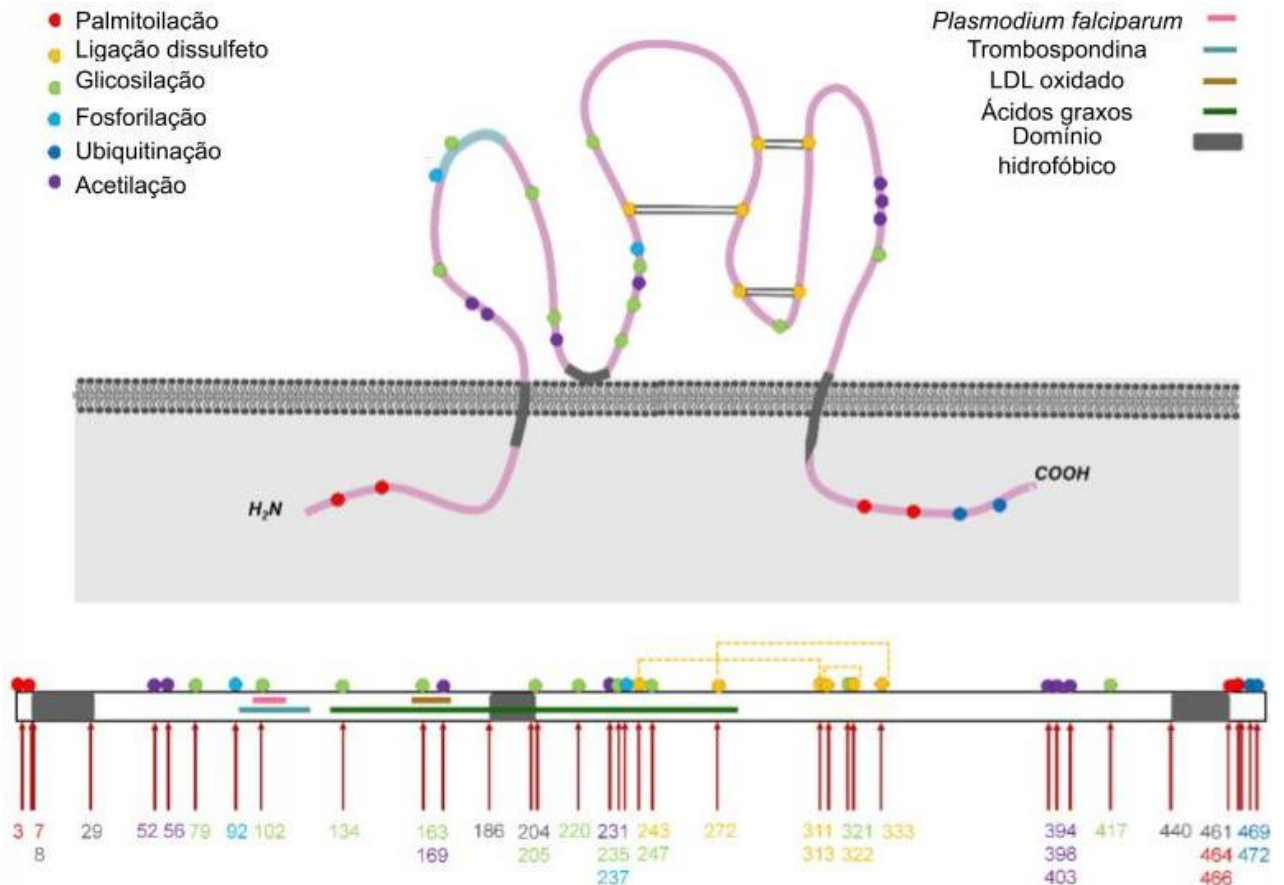
**Quadro 2:** Moduladores de manifestações clínicas da DF (Adaptado de CHANG *et al.*, 2018).

## 12. CD36

O gene *CD36* tem sido estudado como um potencial modulador gênico do curso clínico da AF (COELHO *et al.*, 2014; KALAI *et al.*, 2017; LE TORIELLEC *et al.*, 2020). Localiza-se no braço longo do cromossomo 7 (7q21.11), consistindo de 17 éxons e 18 íntrons, podendo gerar quatro isoformas através de *splicing* alternativo (NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019). O *CD36* codifica uma glicoproteína transmembrana (Fig. 12) de mesmo nome (também conhecida como glicoproteína plaquetária IIIb ou IV – GPIIb e GPIV, respectivamente) envolvida no metabolismo lipídico e na adesão celular intravascular (LOVE-GREGORY *et al.*, 2011; COELHO *et al.*, 2014; NICULITE,

ENCIU e HINESCU, 2019; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020; LE TORIELLEC *et al.*, 2020; ABDUL-HUSSEIN, AL-MAMMORI e HASSAN, 2021). Expressa-se em diferentes tipos celulares: Macrófagos, células endoteliais, adipócitos, eritrócitos (LOVE-GREGORY *et al.*, 2011; COELHO *et al.*, 2014; NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019; LE TORIELLEC *et al.*, 2020). A proteína traduzida tem 472 aminoácidos cujo peso molecular varia de 78kDa a 88kDa dependendo de modificações pós-transcricionais e do tipo celular em que está sendo expressa (LE TORIELLEC *et al.*, 2020). Alterações estruturais e expressão aumentada de *CD36* foram associados a mecanismos fisiopatológicos de metástase tumoral, doença cardiovascular, malária e anemia falciforme (MAKIS, HATZIMICHAEL e BOURANTAS, 2000; LOVE-GREGORY *et al.*, 2011; COELHO *et al.*, 2014; NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019).

Quando foi primeiramente identificado, a *CD36* foi classificada como uma proteína de adesão por ligar-se a colágeno, fibronectina, trombospondina (TSP) e até mesmo permitir a ligação de *Plasmodium falciparum* (NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019; LE TORIELLEC *et al.*, 2020). Mais tarde, estudos demonstraram que a *CD36* também atua como receptor *scavenger* e translocador de ácidos graxos, lipoproteínas de baixa densidade oxidadas e fosfolípidios aniônicos (COELHO *et al.*, 2014; NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019). A existência de diferentes sítios de ligação no domínio extracelular da *CD36* é o que permite a ampla variedade de ligantes (Fig. 12); dependendo do ligante e do tipo celular onde a *CD36* está expresso, diferentes reações são desencadeadas pela sua ativação (NICULITE, ENCIU e HINESCU, 2019).



**Figura 12:** Esquema da estrutura da CD36. (Acima) A CD36 é uma proteína transmembrana com uma região extracelular contendo sítios para vários ligantes e duas pequenas sequências citoplasmáticas (N- e C-terminais). Regiões de ligação e ligantes (*P. falciparum*, trombospondina, LDL oxidado, ácidos graxos) correspondentes estão indicados por cores, bem como modificações pós-traducionais (palmitoilação, ligação dissulfeto, glicosilação, fosforilação, ubiquitinação e acetilação). (Abaixo) Estrutura primária de CD36, com sítios de ligação destacados por cores e números indicando resíduos de aminoácidos passíveis de sofrerem modificações pós-traducionais (Adaptado de WANG e LI, 2019).

Em células jovens da linhagem eritróide, a CD36 é importante para maturação e diferenciação dessas células no ambiente medular, sendo encontrado em grande quantidade na superfície de reticulócitos (ODIÈVRE *et al.*, 2008; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020; ABDUL-HUSSEIN, AL-MAMMORI e HASSAN, 2021). O estado de anemia hemolítica crônica que caracteriza a AF resulta na estimulação da liberação prematura de reticulócitos na circulação periférica, com estes expressando CD36 na membrana – dados da literatura afirmam que indivíduos saudáveis não possuem CD36 expresso em reticulócitos periféricos, e pacientes acometidos com outras formas de anemia hemolítica não associadas a vasculopatia possuem uma quantidade aproximadamente dez vezes menor de CD36 expresso na superfície eritrocitária em relação a indivíduos com AF (ODIÈVRE *et al.*, 2008; KAUSHAL *et al.*, 2016; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020). Pela sua capacidade de atuar como

molécula de adesão, a expressão elevada de CD36 na membrana eritrocitária favorece adesão das hemácias ao endotélio vascular através da ligação com a TSP (ODIÈVRE *et al.*, 2008; KAUSHAL *et al.*, 2016; MEIER *et al.*, 2016; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020).

A TSP é uma glicoproteína adesiva, presente nos grânulos  $\alpha$  das plaquetas; é liberada no plasma quando há ativação plaquetária, promovendo interações intercelulares bem como interações entre células e matriz subendotelial, participando ativamente de processos inflamatórios (NOVELLI *et al.*, 2012; AL HUNEINI *et al.*, 2017; ADEGOKE *et al.*, 2018; MENZEL e THEIN, 2019). A TSP regula migração e proliferação celular, secreção de citocinas inflamatórias por linfócitos T auxiliares tipo 1 (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$ ), inibe produção de NO e funciona como uma ponte entre a CD36 eritrocitária e moléculas de adesão presentes no endotélio ativado, como a integrina  $\alpha$ V $\beta$ 3 ou a CD36 endotelial (Fig. 13) (MAKIS, HATZIMICHAEL e BOURANTAS, 2000; ELION *et al.*, 2004; NOVELLI *et al.*, 2012; AL HUNEINI *et al.*, 2017; KALAI *et al.*, 2017; ADEGOKE *et al.*, 2018). Elion *et al.* (2004) destacam que a interação CD36-TSP-CD36 tem grande importância na adesão eritrocitária ao endotélio em vênulas pós-capilares, local propenso à ocorrência de eventos vaso-oclusivos por influência de interações adesivas.

Potenciais vias de adesão drepanócito-parede vascular

Célula endotelial	Proteína adesiva intermediária	Drepanócito (HbSS)
$\alpha_v\beta_3$	← TSP →	Glicolípido sulfatado
$\alpha_v\beta_3$	← vWf →	Glicolípido sulfatado
$\alpha_v\beta_3$	← TSP →	CD36
VCAM-1	← →	$\alpha_4\beta_1$
CD36	← TSP →	CD36
GPIIb	← vWf →	Glicolípido sulfatado
?	← →	banda 3
<b>Matriz subendotelial</b>		<b>Drepanócito (HbSS)</b>
vWf	← →	Glicolípido sulfatado
TSP	← →	Glicolípido sulfatado
LN	← →	Glicolípido sulfatado
FN	← →	$\alpha_4\beta_1$
LN	← →	B-CAM/Lu

**Figura 13:** Moléculas de adesão e seus ligantes. Eritrócitos falciformes com CD36 expressa podem aderir à parede vascular através da interação com TSP, a qual pode ligar-se tanto à CD36 expressa nas células endoteliais quanto à integrina  $\alpha_v\beta_3$ . VCAM-1: Molécula de adesão vascular-1; GPIIb: Glicoproteína Ib; vWf: Fator de von Willebrand; TSP: Trombospondina; LN: Laminina; FN: Fibronectina; B-CAM/Lu: molécula de adesão de células basais-1/Luterano (Adaptado de HARLAN, 2000).

Considerando que a expressão irregular de moléculas de adesão é um dos mecanismos da patogênese da AF, concluiu-se que a presença de CD36 na membrana de eritrócitos falcizados é um dos fatores que favorecem a ocorrência de CVO ao aumentar a adesividade das hemácias ao endotélio através da TSP (ELION *et al.*, 2004; KAUSHAL *et al.*, 2016; CARDEN, FASANO e MEIER, 2020). Quantificação de CD36 e TSP em amostras de pacientes com AF coletadas durante CVO revelam um aumento nos níveis de CD36 e TSP em relação ao estado basal (fora da crise) tanto em crianças como em adultos, confirmando a existência de uma relação entre níveis elevados de CD36 e comprometimento do fluxo sanguíneo, com aumento das chances de ocorrência de episódios vaso-oclusivos (NOVELLI *et al.*, 2012; ADEGOKE *et al.*, 2018).

Estudos com foco em identificar alterações estruturais na CD36 e correlacioná-las com a clínica de pacientes com AF são lamentavelmente escassos na literatura, apesar de haver diversos polimorfismos já identificados no gene. A Single Nucleotide Database (dbSNP) mostra centenas SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) no gene *CD36*, alguns dos quais são apontados como possíveis fatores de risco ou

biomarcadores de interesse, como o rs3211938 e o rs1984112 (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021). O rs3211938 (substituição de timina por guanina) codifica uma proteína truncada e instável (LOVE-GREGORY *et al.*, 2011). O rs1984112 pode causar a substituição de adenina por guanina, timina ou citosina (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021); estudos clínicos realizados por Coelho *et al.* (2014) e Kalai *et al.* (2017) revelaram que o alelo rs1984112\_G encontra-se mais relacionado a contagens de reticulócitos elevadas, com o genótipo mutante GG em homozigose alcançando um valor muito próximo da significância estatística ao ser correlacionado com a ocorrência de CVOs, embora não ainda não tenha sido estabelecida uma conexão entre alterações estruturais no CD36 e severidade clínica da AF.

Em relação a influência do tratamento na CD36, estudos destacam que a HU é capaz de reduzir a expressão de moléculas de adesão; *in vivo*, a HU diminui a porcentagem de reticulócitos circulantes com CD36 expressa, portanto, diminui o impacto da adesividade aumentada das hemácias (HARLAN, 2000; ODIÈVRE *et al.*, 2008; MEIER *et al.*, 2016). Trinh-Trang-Tan *et al.* (2010) demonstraram em um estudo com camundongos transgênicos SAD1 – os quais apresentam doença falciforme com priapismo, problemas renais e mortalidade precoce como principais manifestações – uma diminuição de eritrócitos adesivos após tratamento com anticorpos monoclonais anti-CD36, sugerindo um possível alvo terapêutico de interesse.

### 13. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Após realização de revisão da literatura disponível é possível inferir que:

- A AF é uma doença de grande importância global, pois afeta uma quantidade considerável de indivíduos, milhares deles brasileiros.
- Apesar de ter sido descoberta há mais de um século, ainda há uma desorganização estrutural dos países mais acometidos, o que não permite a detecção da mutação durante o período neonatal, dificultando a implementação de medidas educativas e profiláticas para evitar o desenvolvimento de manifestações clínicas graves.
- O tratamento da AF ainda se resume em grande parte a aplicação de medidas paliativas após apresentação de sinais e sintomas, com transfusão e HU configurando as alternativas terapêuticas mais populares para suavizar o curso clínico da doença. A eficácia da HU, assim como as manifestações clínicas da AF, varia entre os pacientes por influência de fatores genéticos e ambientais.
- Modulação de genes que participam na patogênese da AF leva a resultados diversos, dependendo do gene em questão. Em relação ao *CD36*, a literatura consta que a proteína codificada por ele é relevante para a adesividade aumentada apresentada por hemácias falcizadas.
- Há poucas informações acerca de como alterações estruturais decorrentes de polimorfismos no *CD36* afetam a fisiopatologia da AF, mas já está claro que a *CD36* expressa na superfície eritrocitária e endotelial participa ativamente de processos vaso-oclusivos, de modo que mais estudos com o objetivo de analisar a influência de tais polimorfismos se faz necessária.
- Ainda não foi estabelecida uma relação entre a expressão de *CD36* e a gravidade clínica da AF, contudo, os poucos estudos já existentes com esse tema tornam evidente que este é um tópico com muito potencial a ser explorado.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABDUL-HUSSEIN, Hanan Kifah; AL-MAMMORI, Hind Shaker; HASSAN, Meaad Kadhum. Evaluation of the expression of red blood cell CD36, interleukin-6 and interleukin-8 in sickle cell anemia pediatric patients. **Cytokine**, v. 143, p. 155534, 2021.

ADEGOKE, Samuel A. et al. Thrombospondin-1 and vitamin D in children with sickle cell anemia. **Journal of pediatric hematology/oncology**, v. 41, n. 8, p. e525-e529, 2018.

ADESINA, Oyebimpe O.; NEUMAYR, Lynne D. Osteonecrosis in sickle cell disease: an update on risk factors, diagnosis, and management. **Hematology 2014, the American Society of Hematology Education Program Book**, v. 2019, n. 1, p. 351-358, 2019.

AL HUNEINI, M. et al. Increased vasoocclusive crises in "O" blood group sickle cell disease patients: association with underlying thrombospondin levels. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 9, n. 1, 2017.

ALAPAN, Yunus et al. Emerging point-of-care technologies for sickle cell disease screening and monitoring. **Expert review of medical devices**, v. 13, n. 12, p. 1073-1093, 2016.

ALDALLAL, Salma. 2017. Dactylitis: A Complication in Patients With Sickle Cell. Disponível em: <https://www.arjonline.org/full-text/american-research-journal-of-hematology/Dactylitis-A-Complication-in-Patients-With-Sickle-Cell-Disease>. Acesso em: 12 de novembro de 2021.

ALDALLAL, Salma M. Mini review: leg ulcers-a secondary complication of sickle cell disease. **International journal of general medicine**, v. 12, p. 279, 2019.

ALFADHLI, Suad et al. The effect of UGT1A1 promoter polymorphism in the development of hyperbilirubinemia and cholelithiasis in hemoglobinopathy patients. **PloS one**, v. 8, n. 10, p. e77681, 2013.

ALMEIDA, Antonio; ROBERTS, Irene. Bone involvement in sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 129, n. 4, p. 482-490, 2005.

AL-SALEM, Ahmed H. Splenic complications of sickle cell anemia and the role of splenectomy. **International Scholarly Research Notices**, v. 2011, 2011.

AMOYAL, Ilana; FIBACH, Eitan. Hemoglobin switch in the newborn: a flow cytometry analysis. **Neonatology**, v. 91, n. 1, p. 61-68, 2007.

ARDUINI, Giovanna AO; TROVÓ DE MARQUI, Alessandra B. Prevalence and characteristics of priapism in sickle cell disease. **Hemoglobin**, v. 42, n. 2, p. 73-77, 2018.

ARISHI, Wjdan A.; AL-HADRAMI, Hani A.; ZOUROB, Mohammed. Techniques for the Detection of Sickle Cell Disease: A Review. **Micromachines**, v. 12, n. 5, p. 519, 2021.

ATAGA, Kenneth I.; ORRINGER, Eugene P. Renal abnormalities in sickle cell disease. **American journal of hematology**, v. 63, n. 4, p. 205-211, 2000.

BANDEIRA, Flavia Miranda Gomes de Constantino et al. Diagnóstico da hemoglobina S: análise comparativa do teste de solubilidade com a eletroforese em pH alcalino e ácido no período neonatal. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, v. 3, p. 265-270, 2003.

BERGER, Elizabeth et al. Sickle cell disease in children: differentiating osteomyelitis from vaso-occlusive crisis. **Archives of pediatrics & adolescent medicine**, v. 163, n. 3, p. 251-255, 2009.

BONANOMI, Maria Teresa Brizzi Chizzotti; LAVEZZO, Marcelo Mendes. Sickle cell retinopathy: diagnosis and treatment. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v. 76, p. 320-327, 2013.

BRANDOW, Amanda M.; ZAPPIA, Katherine J.; STUCKY, Cheryl L. Sickle cell disease: a natural model of acute and chronic pain. **Pain**, v. 158, n. Suppl 1, p. S79, 2017.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde e Secretaria De Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Portaria Conjunta N° 05, de 19 de fevereiro de 2018. Brasília, 2018.

CARDEN, Marcus A.; FASANO, Ross M.; MEIER, Emily Riehm. Not all red cells sickle the same: contributions of the reticulocyte to disease pathology in sickle cell anemia. **Blood reviews**, v. 40, p. 100637, 2020.

CHANG, Alicia K. et al. Genetic modifiers of severity in sickle cell disease. **Clinical hemorheology and microcirculation**, v. 68, n. 2-3, p. 147-164, 2018.

CLARK, B. E.; THEIN, S. L. Molecular diagnosis of haemoglobin disorders. **Clinical & Laboratory Haematology**, v. 26, n. 3, p. 159-176, 2004.

CLINICALTRIALS.GOV. **U. S. National Library of Medicine**. 2021. Disponível em: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=sickle+cell+disease+brazil>. Acesso em: 20 de dezembro de 2021.

COELHO, Andreia et al. Genetic variation in CD 36, HBA, NOS 3 and VCAM 1 is associated with chronic haemolysis level in sickle cell anaemia: a longitudinal study. **European journal of haematology**, v. 92, n. 3, p. 237-243, 2014.

DA SILVA, Neila Caroline Henrique et al. Principais técnicas para o diagnóstico da anemia falciforme: uma revisão de literatura. **Caderno de Graduação-Ciências Biológicas e da Saúde-UNIT-PERNAMBUCO**, v. 3, n. 2, p. 33, 2017.

DARBARI, Deepika S. et al. Markers of severe vaso-occlusive painful episode frequency in children and adolescents with sickle cell anemia. **The Journal of pediatrics**, v. 160, n. 2, p. 286-290, 2012.

DARBARI, Deepika S.; SHEEHAN, Vivien A.; BALLAS, Samir K. The vaso-occlusive pain crisis in sickle cell disease: definition, pathophysiology, and management. **European journal of haematology**, v. 105, n. 3, p. 237-246, 2020.

DBSNP. **National Center for Biotechnology Information**. 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=cd36>. Acesso em: 30 de dezembro de 2021.

DE FIGUEIREDO, Anne Kelly Bezerra et al. Anemia falciforme: abordagem diagnóstica laboratorial. **Revista de Ciências da Saúde Nova Esperança**, v. 12, n. 1, p. 98-105, 2014.

DEBAUN, Michael R.; DERDEYN, Colin P.; MCKINSTRY III, Robert C. Etiology of strokes in children with sickle cell anemia. **Mental retardation and developmental disabilities research reviews**, v. 12, n. 3, p. 192-199, 2006.

DEMIRCI, Selami; UCHIDA, Naoya; TISDALE, John F. Gene therapy for sickle cell disease: An update. **Cytotherapy**, v. 20, n. 7, p. 899-910, 2018.

DI NUZZO, Dayana VP; FONSECA, Silvana F. Anemia falciforme e infecções. **Jornal de Pediatria**, v. 80, p. 347-354, 2004.

DOS SANTOS, Eustáquio Claret et al. Acidente Vascular Cerebral em pacientes portadores de Anemia Falciforme. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 32, p. e958-e958, 2019.

EBERT, Ellen C.; NAGAR, Michael; HAGSPIEL, Klaus D. Gastrointestinal and hepatic complications of sickle cell disease. **Clinical gastroenterology and hepatology**, v. 8, n. 6, p. 483-489, 2010.

EJINDU, Vivian C. et al. Musculoskeletal manifestations of sickle cell disease. **Radiographics**, v. 27, n. 4, p. 1005-1021, 2007.

ELION, Jacques E. et al. Vaso-occlusion in sickle cell anemia: role of interactions between blood cells and endothelium. **Hematol J**, v. 5, n. Suppl 3, p. S195-S198, 2004.

ELSAIED, Maram EA Abdalla et al. Sickle cell retinopathy. A focused review. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 257, n. 7, p. 1353-1364, 2019.

FAROOQ, Sajid; ABU OMAR, Mohannad; SALZMAN, Gary A. Acute chest syndrome in sickle cell disease. **Hospital Practice**, v. 46, n. 3, p. 144-151, 2018.

FDA APPROVES CRIZANLIZUMAB-TMCA FOR SICKLE CELL DISEASE. **U. S. Food & Drug Administration**. 2019. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-crizanlizumab-tmca-sickle-cell-disease>. Acesso em: 19 de dezembro de 2021.

FDA APPROVES DRUG TO TREAT SICKLE CELL DISEASE IN PATIENTS AGED 4 UP TO 11 YEARS. **U. S. Food & Drug Administration**. 2021. Disponível em: <https://www.fda.gov/drugs/news-events-human-drugs/fda-approves-drug-treat-sickle-cell-disease-patients-aged-4-11-years>. Acesso em: 19 de dezembro de 2021.

FERRAZ, Maria Helena C.; MURAO, Mitiko. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 29, p. 218-222, 2007.

GARDNER, Kate; THEIN, Swee Lay. Genetic factors modifying sickle cell disease severity. In: **Sickle Cell Anemia**. Springer, Cham, 2016. p. 371-397.

GARIBYAN, Lilit; AVASHIA, Nidhi. Research techniques made simple: polymerase chain reaction (PCR). **The Journal of investigative dermatology**, v. 133, n. 3, p. e6, 2013.

GRANJA, Paula Dadalti et al. Úlceras de perna em pacientes com anemia falciforme. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 19, 2020.

GROTTO, Helena ZW. Fisiologia e metabolismo do ferro. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 32, p. 08-17, 2010.

GUMIERO, Ana Paula S. et al. Colelitíase no paciente pediátrico portador de doença falciforme. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 25, p. 377-381, 2007.

GUPTA, P. K. et al. Cation exchange high performance liquid chromatography for diagnosis of haemoglobinopathies. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 65, n. 1, p. 33-37, 2009.

HABARA, Alawi; STEINBERG, Martin H. Minireview: Genetic basis of heterogeneity and severity in sickle cell disease. **Experimental Biology and Medicine**, v. 241, n. 7, p. 689-696, 2016.

HARLAN, John M. Introduction: anti-adhesion therapy in sickle cell disease. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 95, n. 2, p. 365-367, 2000.

HIRTZ, Deborah; KIRKHAM, Fenella J. Sickle cell disease and stroke. **Pediatric neurology**, v. 95, p. 34-41, 2019.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. Células do sangue: Eritrócitos. In: JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica: Texto e Atlas**. 12<sup>a</sup>. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. cap. 12, p. 217-232.

KALAI, Miniari et al. The role of rs1984112\_G at CD36 gene in increasing reticulocyte level among sickle cell disease patients. **Hematology**, v. 22, n. 3, p. 178-182, 2017.

KATO, Gregory J. Priapism in sickle-cell disease: a hematologist's perspective. **The Journal of Sexual Medicine**, v. 9, n. 1, p. 70-78, 2012.

KATO, Gregory J. et al. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **The Journal of clinical investigation**, v. 127, n. 3, p. 750-760, 2017.

KATO, Gregory J. et al. Sickle cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, p. 1-22, 2018.

- KAUSHAL, Megha et al. Examination of reticulocytosis among chronically transfused children with sickle cell anemia. **PLoS One**, v. 11, n. 4, p. e0153244, 2016.
- KUBISTA, Mikael et al. The real-time polymerase chain reaction. **Molecular aspects of medicine**, v. 27, n. 2-3, p. 95-125, 2006.
- LE TORIELLEC, Emilie et al. New molecular basis associated with CD36-negative phenotype in the sub-Saharan African population. **Transfusion**, v. 60, n. 11, p. 2482-2488, 2020.
- LEE, Young Kyung et al. Recent progress in laboratory diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathy: a study by the Korean Red Blood Cell Disorder Working Party of the Korean Society of Hematology. **Blood research**, v. 54, n. 1, p. 17-22, 2019.
- LETTRE, Guillaume; BAUER, Daniel E. Fetal haemoglobin in sickle-cell disease: from genetic epidemiology to new therapeutic strategies. **The Lancet**, v. 387, n. 10037, p. 2554-2564, 2016.
- LIMA, Larissa C. et al. Fisiopatologia da doença renal crônica em adultos com doença falciforme. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto (TÍTULO NÃO-CORRENTE)**, v. 14, n. 3, 2015.
- LÓPEZ REVUELTA, K.; RICARD ANDRÉS, M. P. Kidney abnormalities in sickle cell disease. **Nefrología (English Edition)**, v. 31, n. 5, p. 591-601, 2011.
- LOVE-GREGORY, Latisha et al. Common CD36 SNPs reduce protein expression and may contribute to a protective atherogenic profile. **Human molecular genetics**, v. 20, n. 1, p. 193-201, 2011.
- MAGALHÃES, Nathalia Noyma Sampaio et al. Doença Cerebrovascular: Aspectos de uma população com Doença Falciforme. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 3, n. 5, p. 15440-15450, 2020.
- MAKIS, A. C.; HATZIMICHAEL, E. C.; BOURANTAS, K. L. The role of cytokines in sickle cell disease. **Annals of hematology**, v. 79, n. 8, p. 407-413, 2000.
- MATTE, Alessandro et al. New therapeutic options for the treatment of sickle cell disease. **Mediterranean journal of hematology and infectious diseases**, v. 11, n. 1, 2019.
- MEIER, Emily Riehm et al. Early reticulocytosis and anemia are associated with abnormal and conditional transcranial doppler velocities in children with sickle cell anemia. **The Journal of pediatrics**, v. 169, p. 227-231. e1, 2016.
- MENZEL, Stephan; THEIN, Swee Lay. Genetic modifiers of fetal haemoglobin in sickle cell disease. **Molecular diagnosis & therapy**, v. 23, n. 2, p. 235-244, 2019.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE REFORÇA A IMPORTÂNCIA DA DETECÇÃO DA DOENÇA FALCIFORME. **Ministério da saúde**. 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2020/junho/ministerio-da-saude-reforca-a-importancia-da-deteccao-da-doenca-falciforme>. Acesso em: 4 de dezembro de 2021.
- MINNITI, Caterina P. et al. Leg ulcers in sickle cell disease. **American journal of hematology**, v. 85, n. 10, p. 831, 2010.
- MONTEIRO, Ana Carolina Borges et al. Anemia falciforme, uma doença caracterizada pela alteração no formato das hemácias. **Saúde em Foco, Edição nº**, v. 7, 2015.
- NAIK, Rakhi P.; DEREBAIL, Vimal K. The spectrum of sickle hemoglobin-related nephropathy: from sickle cell disease to sickle trait. **Expert review of hematology**, v. 10, n. 12, p. 1087-1094, 2017.
- NARDO-MARINO, Amina; BROUSSE, Valentine; REES, David. Emerging therapies in sickle cell disease. **British journal of haematology**, v. 190, n. 2, p. 149-172, 2020.
- NICULITE, Cristina-Mariana; ENCIU, Ana-Maria; HINESCU, Mihail Eugen. CD 36: Focus on epigenetic and post-transcriptional regulation. **Frontiers in genetics**, v. 10, p. 680, 2019.

- NOVELLI, Enrico M. et al. Plasma thrombospondin-1 is increased during acute sickle cell vaso-occlusive events and associated with acute chest syndrome, hydroxyurea therapy, and lower hemolytic rates. **American journal of hematology**, v. 87, n. 3, p. 326, 2012.
- NOVELLI, Enrico M.; GLADWIN, Mark T. Crises in sickle cell disease. **Chest**, v. 149, n. 4, p. 1082-1093, 2016.
- ODIÈVRE, Marie-Hélène et al. Modulation of erythroid adhesion receptor expression by hydroxyurea in children with sickle cell disease. **Haematologica**, v. 93, n. 4, p. 502-510, 2008.
- OLOWOYEYE, Abiola; OKWUNDU, Charles I. Gene therapy for sickle cell disease. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 11, 2020.
- PATRINOS, George P.; ANTONARAKIS, Stylianos E. Human hemoglobin. In: **Vogel and Motulsky's Human Genetics**. Springer, Berlin, Heidelberg, 2010. p. 365-401.
- PAUL, Rabindra N. et al. Acute chest syndrome: sickle cell disease. **European journal of haematology**, v. 87, n. 3, p. 191-207, 2011.
- PAYÁN-PERNÍA, Salvador et al. Sickle cell nephropathy. Clinical manifestations and new mechanisms involved in kidney injury. **Nefrología (English Edition)**, v. 41, n. 4, p. 373-382, 2021.
- PLATT, Orah S. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. **New England Journal of Medicine**, v. 358, n. 13, p. 1362-1369, 2008.
- REES, David C.; WILLIAMS, Thomas N.; GLADWIN, Mark T. Sickle-cell disease. **The Lancet**, v. 376, n. 9757, p. 2018-2031, 2010.
- SAVITT, Todd L.; GOLDBERG, Morton F. Herrick's 1910 case report of sickle cell anemia: the rest of the story. **Jama**, v. 261, n. 2, p. 266-271, 1989.
- SEVERYNS, M.; GAYET, L. E. Aseptic osteonecrosis of the femoral head in patients with sickle cell anemia. **Morphologie**, v. 105, n. 349, p. 94-101, 2021.
- SICKLE CELL DISEASE. **World Health Organization**. 2021. Disponível em: <https://www.afro.who.int/health-topics/sickle-cell-disease>. Acesso em: 4 de dezembro de 2021.
- SOUZA, Janaina Martins et al. Fisiopatologia da anemia falciforme. **Revista transformar**, v. 8, n. 8, p. 162-178, 2016.
- SOUZA, Rayane Cristina et al. Sickle cell anaemia prevalence among newborns in the Brazilian amazon-savanna transition region. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 9, p. 1638, 2019.
- STEINBERG, Martin H. Overview of sickle cell anemia pathophysiology. In: **Sickle Cell Anemia**. Springer, Cham, 2016. p. 49-73.
- STEINBERG, Martin H. Treating sickle cell anemia: a new era dawns. **American journal of hematology**, v. 95, n. 4, p. 338-342, 2020.
- SUNDD, Prithu; GLADWIN, Mark T.; NOVELLI, Enrico M. Pathophysiology of sickle cell disease. **Annual review of pathology: mechanisms of disease**, v. 14, p. 263-292, 2019.
- SWITZER, Jeffrey A. et al. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. **The Lancet Neurology**, v. 5, n. 6, p. 501-512, 2006.
- TORRES, Lidiane; CONRAN, Nicola. Emerging pharmacotherapeutic approaches for the management of sickle cell disease. **Expert opinion on pharmacotherapy**, v. 20, n. 2, p. 173-186, 2019.

- TRAINA, Fabíola; SAAD, Sara TO. Complicações hepáticas na doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, p. 299-303, 2007.
- TRINH-TRANG-TAN, Marie-Marcelle et al. Intercellular adhesion molecule-4 and CD36 are implicated in the abnormal adhesiveness of sickle cell SAD mouse erythrocytes to endothelium. **Haematologica**, v. 95, n. 5, p. 730, 2010.
- TSITSIKAS, Dimitris A.; BRISTOWE, Jessica; ABUKAR, Jibril. Fat embolism syndrome in sickle cell disease. **Journal of clinical medicine**, v. 9, n. 11, p. 3601, 2020.
- VERDUZCO, Luis A.; NATHAN, David G. Sickle cell disease and stroke. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 114, n. 25, p. 5117-5125, 2009.
- VICARI, Perla; FIGUEIREDO, Maria Stella. Priapismo na doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, p. 275-278, 2007.
- WANDERSEE, Nancy J.; HILLERY, Cheryl A. Red blood cells and the vaso-occlusive process. In: **Sickle Cell Anemia**. Springer, Cham, 2016. p. 75-90.
- WANG, Jingchun; LI, Yongsheng. CD36 tango in cancer: signaling pathways and functions. **Theranostics**, v. 9, n. 17, p. 4893, 2019.
- WARE, Russell E. et al. Sickle cell disease. **The Lancet**, v. 390, n. 10091, p. 311-323, 2017.
- WILLIAMS, Thomas N.; THEIN, Swee Lay. Sickle cell anemia and its phenotypes. **Annual review of genomics and human genetics**, v. 19, p. 113-147, 2018.
- WOLF, Rachel B. et al. Nocturnal enuresis in sickle cell disease. **Expert review of hematology**, v. 7, n. 2, p. 245-254, 2014.
- WONG, ALISON L.; SAKAMOTO, KATHLEEN M.; JOHNSON, ERIC E. Differentiating osteomyelitis from bone infarction in sickle cell disease. **Pediatric emergency care**, v. 17, n. 1, p. 60-63, 2001.
- YUAN, Yue et al. New look at hemoglobin allostery. **Chemical reviews**, v. 115, n. 4, p. 1702-1724, 2015.