AC&T®
Academia de Ciência e Tecnologia

Reação do Estresse Oxidativo em Portadores da Doença Falciforme

Oxidative stress reaction in patients with sickle cell disease

Lucas Hideki Kikuti [1]
Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto- SP [2]

RESUMO
As hemoglobinopatias são doenças patológicas que atingem milhões de pessoas em vários locais do mundo difundidas em todos os continentes. Em primeiro lugar estão as doenças hereditárias como a talassemia e a doença falciforme respectivamente. Em escala mundial estima- se 80 milhões para talassemias e 250 mil portadores de anemia falciforme. As principais causas das doenças falciformes são mutações herdadas de hemoglobina S. As reações fisiológicas oxidantes e antioxidantes são importantes para determinar efeitos de terapia ou danos ao organismo quando herdados homozigotos de hemoglobina S (SS). São utilizados medicamentos para tratamentos de células cancerígenas e compostos metabólicos secundários são utilizados como forma de terapia e a melhora na qualidade de vida dos portadores da doença. Neste artigo discutiremos uma revisão de literatura sobre possíveis efeitos causado pela doença e os meios de terapia utilizados para uma melhora clínica.

Palavras-Chave: Doença Falciforme, Hemoglobinopatias, Fisiologia, Estresse Oxidativo, Terapêutica

ABSTRACT
Hemoglobinopathies are pathological diseases that affect millions of people in various parts of the world, spread across all continents. In the first place are hereditary diseases such as thalassemia and sickle cell disease respectively. Worldwide, 80 million estimated to have thalassemias and 250,000 sufferers of sickle cell anemia. The main causes of sickle cell disease are inherited hemoglobin S mutations. Physiological oxidant and antioxidant reactions are important to determine therapy effects or damage to the organism when inherited hemoglobin S (SS) homozygotes. Drug are used to treat cancer cells and secondary metabolic compounds are used as a form of therapy and improve the quality of life of patients with the disease. In the article we will discuss a literature review on possible effects caused by the disease and the means of therapy used for clinical improvement.

Keywords: Sickle Cell Disease, Hemoglobinopathies, Physiology, Oxidative Stress, Therapeutics

[1] Acadêmico do curso de Pós graduação "*Lato sensu*" da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto - SP. E-mail: lucaskikuti@hotmail.com
[2] AC&T - Instituto de Pesquisas Hematológicas e de cursos de Pós graduação "*Lato sensu*", E-mail: a.c.t@terra.com.br

Objetivo

Este trabalho tem o objetivo de realizar uma revisão de literatura sobre doenças falciformes e seus processos fisiológicos metabólicos relacionados ao estresse oxidativo, afim de identificar e comparar formas terapêuticas para proporcionar melhor qualidade de vida aos portadores da doença e trazer conhecimento sobre os avanços medicinais e científicos.

Introdução

Classificada no grupo de doenças hemolíticas hereditárias a doença falciforme (DF) tem como característica uma mutação em sua cadeia beta globina da hemoglobina (Hb), resultado de uma substituição do aminoácido "HBS, HBB Glu6Val", glutamato é substituído pela valina na sexta posição da cadeia [HEENEY, 2008; FELIX, 2010]. Essa alteração genética pode ser homozigótica de genes SS característica da anemia falciforme, ou heterozigóticas acompanhadas de genes variantes patológicos como SC, SD, talassemias alfa e beta, também incluídas na classificação de DF [FELIX, 2010]. Existem casos da doença onde os indivíduos são assintomáticos, apresentam apenas um gene S, denominados portadores do traço falciforme [SIMÕES, 2010].

Os sintomas clínicos mais comuns incluem anemias, síndrome torácica aguda, crises dolorosas agudas, disfunção pulmonar e renal crônica, acidente vascular encefálico (AVE), entre outros. [SIMOES, 2010; GALIZA, 2003]. As manifestações ocorrem devido aos processos fisiopatológicos de vaso- oclusão e hemólise, levando como consequência a redução da expectativa de vida do portador da DF [ARAUJO, 2015].

O grau de gravidade em relação as combinações fenotípicas não são bem compreendidas, em parte, é possível interpretar e classificar o grau de gravidade através dos parâmetros de concentração de hemoglobina total, concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), tempo de vida dos eritrócitos, entre outros parâmetros importantes [PLATT, 1991; STEINBERG, 1984; BAUM, 1987; PHILLIPS, 1991; POWARDS, 1991]. No entanto, a presença de hemoglobina fetal (HbF) e sua porcentagem pode indicar o grau de gravidade da DF [PLATT, 1994; CHARACHE, 1990].

Cerca de 1% a 20% da fração de HbF em relação a hemoglobina total significa a presença de DF, quando os níveis atingem de 30% a 40% representa provavelmente uma persistência de HbF (HPFH) em adultos como citado no artigo [COSTA, 2002]. Geralmente no período de 3 a 6 meses de vida a porcentagem de HbF é de apenas 5% da hemoglobina total em indivíduos não afetados, e menos de 1% em adultos não

portadores de DF [HEENEY, 2008]. Os eritrócitos tem seu ciclo de vida durante 120 dias, porém na doença falciforme essa sobrevida diminui drasticamente em cerca de 16 a 20 dias [FELIX, 2010].

A mutação acarreta em ciclos de polimerização e despolimerização dos eritrócitos em baixas tensões de oxigênio, é quando moléculas de HbS são adicionados progressivamente resultando na fragilidade de membrana e a aceleração do seu tempo de vida [HANSON, 2011; ANDREWS, 2000; MANUAL, 2001]. O afoiçamento da célula acontece quando a desoxigenação é completa na Hb, porém o processo pode ser revertido com oxigenação contanto que a membrana celular não esteja modificada [MANUAL, 2001]. Na DF o processo fisiológico do ferro heme passa do seu estado ferroso (desoxigenado) para o estado férrico (oxigenado) gerando auto- oxidação da Hb para meta- hemoglobina (MetHb). As alterações estruturais e funcionais dos eritrócitos podem aumentar o curso de MetHb [HERMANN, 2016].

O hidroperóxido (ROOR) por homólise é decomposto em *terc*-butoxila (*t*-BO), um radical que reage com os lipídios de membrana convertendo a Hb em MetHb. A *terc*-butil-hidroperóxido (*t*-BHP) são peróxidos orgânicos utilizados em processos de oxidação rápida de hemoglobina gerando radicais livres consumidos na peroxidação lipídica [HENNEBERG, 2013].

O AAPH (2,2 – azobis- amidinopropano – dihidrocloreto) também é um radical livre presente no meio extracelular, possui sua oxidação mais lenta e atacam regiões aquosas por serem hidrossolúveis. Sua decomposição ocorre em 37° C (Celsius) formando radicais de uma única espécie denominados peroxilas, responsáveis por atacarem lipídeos e proteínas presentes na membrana de eritrócito. Existem dois eventos descobertos sobre este composto, a lipoperoxidação e um evento chamado redistribuição de proteína banda 3 oxidada, processo no qual os eritrócitos recebem características esferocíticas. Os processo citados nos dois parágrafos acima são evidências de que o estresse oxidativo se encontra presente na DF [HENNEBERG, 2013].

Os estudos mais abrangentes sobre EO estão relacionados a produção de energia e substâncias biológicas, fagocitose e vários outros processo fisiológicos celulares. A oxidação é o principal fenômeno característico dessa condição, contendo espécies reativas de oxigênio (ERO) e nitrogênio (ERN), produtores de radicais livres naturais ou por influência de disfunção biológica [BARREIROS, 2006].

Em processos inflamatórios a ação de ERO e ERN são constantes, alguns são mais reativos do que outros, enquanto um pode reagir com proteínas, DNA e lipídios, outros reagem apenas com lipídios, também existem aqueles com propriedades reativas baixas, mas mesmo assim podem causar danos a uma célula [BARREIROS, 2006].

A grande quantidade de radicais livres ativa um sistema eficiente composta por enzimas antioxidantes dando equilíbrio ao organismo, podem ser produzidas as chamadas enzimáticas: glutationa peroxidase (GPx), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD^2); e as não enzimáticas como a glutationa (GSH), histidina, transferrina e ferritina, entre outros [HENNEBERG, 2013; BARREIROS, 2006].

As ERO são produzidas excessivamente sobre a influência de um processo inflamatório e ativação endotelial na anemia falciforme, ocorre uma interação de leucócitos, ERO e endotélio que provoca vasooclusões. É importante ressaltar que a atividade do óxido nítrico pertencente a ERN é baixa, esse fenômeno compromete a adesão endotelial e ativação de plaquetas e leucócitos, provavelmente pelo fato do consumo de radicais livres sua atividade diminui comprometendo a reversão terapêutica em episódios isquêmicos [HENNEBERG, 2013].

O aumento da reatividade de radicais está associada a quantidade de ferro livre causados por hemólise com o peróxido de hidrogênio (reação de Fenton) gerada aproximadamente duas vezes mais em HbS do que em HbA [HENNEBERG, 2013]. A reação tem como principal característica a oxidação e geração de radicais [BARREIROS, 2006]. Alguns estudos mostram que a anemia falciforme gera o dobro de radicais hidroxil, peróxido e superóxido [HENNEBERG, 2013] que se torna fatores importantes para as características da doença e trazer possíveis explicações para os quadros de anemia e vasooclusão.

Casuística e Método

Trata-se de uma revisão de literatura baseada em 20 artigos nacionais e internacionais utilizando as bases de dados Pubmed (National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine), SciELO (Scientific Electronic Library Online) e Google Acadêmico no período de 2021 a 2022. Para a consulta nestes bancos de dados, foram utilizadas as palavras-chave: “Doença Falciforme, Hemoglobinopatias e Estresse Oxidativo”. Os critérios de inclusão foram aqueles artigos com acesso disponível, cujo contexto relacionava-se ao tema deste trabalho.

Resultados

Embora a genética molecular descreva com clareza a fisiopatologia detalhada e compreendida da doença, a direção para uma cura definitiva ainda não é conclusiva. O método de transplante de medula óssea é considerada uma cura, portanto a dificuldade em encontrar irmãos compatíveis de antígeno leucocitário humano (HLA) dificulta uma melhora significativa do quadro. Além das causas de morbidades consideráveis, por exemplo a doença do enxerto contra o hospedeiro mesmo havendo compatibilidade [HEENEY]. Dois fatores podem ser considerados situações graves, fluxo sanguíneo na artéria cerebral média quando se encontra elevada, e a STA quando há sua ocorrência precoce [SIMOES]

Os avanços em terapias alternativas foi se destacando nos últimos anos, como por exemplo a utilização de desmetilantes para a indução farmacológica de HbF. No entanto, a administração era limitada justamente para preservar a segurança e a eficácia sustentada [HEENEY].

A hidroxiuréia por outro lado é vista como um método provisório e eficaz, atuando na hidratação dos eritrócitos, qualidade na reologia, adesividade reduzida, diminuição dos leucócitos e a liberação de óxido nítrico, aumentando os níveis de atividade e melhorando o quadro isquêmico. Classificada como antimetabólico e antineoplásico, induzem uma regeneração eritróide e comprometem seus precursores levando a um aumento de reticulócitos compostos por HbF [HEENEY, HENNEBERG].

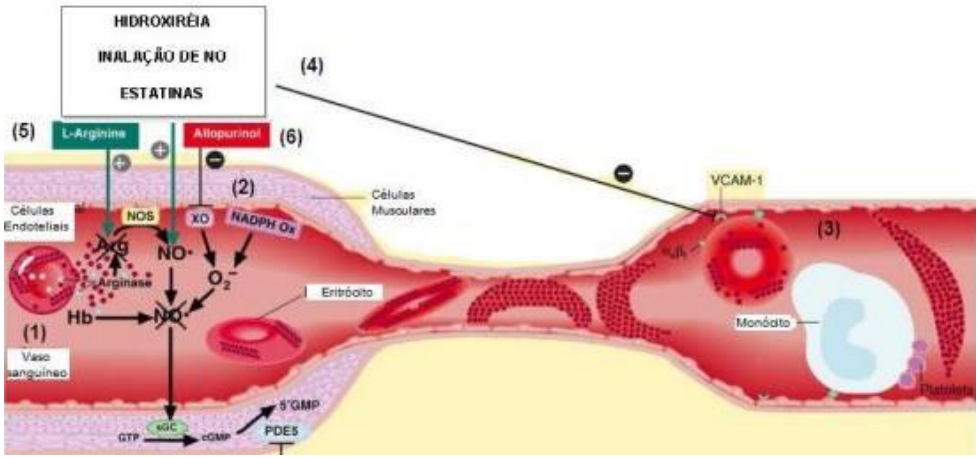

Figura 1. Fisiologia terapêutica da hidroxiureia
Fonte: (MACK; KATO, 2006)
Nota: "A hemólise que ocorre na anemia falciforme libera hemoglobina e arginase dos eritrócitos. A hemoglobina livre consome rapidamente o óxido nitrico e a arginase quebra a arginina, substrato para a produção de óxido nítrico. (2) A xantina oxidase e a NADPH

oxidase estão aumentados na anemia falciforme (3) Sob condições de hipóxia, a polimerização da hemoglobina S resulta em células mais rígidas que impedem o fluxo sanguíneo normal. Como resultado do estado hemolítico, reticulócitos são liberados no sangue periférico, ligando-se ao endotélio via VCAM-1. (4) a hidroxiureia e a inalação do óxido nítrico podem ser doadores de óxido nítrico e podem diminuir a expressão de moléculas de adesão celular. (5) a suplementação de L-arginina pode melhorar a quantidade de substrato para a produção de óxido nítrico (6) O alopurinol inibe a xantina oxidase que controla a produção de íons superóxido, o que diminui os danos celulares" [HENNEBERG]

O fármaco pode ser ideal no tratamento da DF em crianças, pois sua biodisponibilidade é excelente sendo administrado via oral com apenas uma dose ao dia. Os efeitos colaterais são poucos ou nenhum e podem causar toxicidade hematológica porem são transitórias e reversíveis, oferecendo uma ampla gama de efeitos benéficos [HEENEY].

Outros métodos de tratamento são a utilização de flavonoides como agentes protetores em locais de estresse oxidativo, são encontrados em vegetais, frutas, chás e vinhos, atuando como metabólito secundário antioxidantes. Apesar das propriedades antioxidantes elas podem atuar como pró oxidantes dependendo de suas ações redox [HENNEBERG].

A (I-ECA) enzima conversora de angiotensina, e agentes que diminuem a homocisteína plasmática também tem pontos positivos para o tratamento da doença, devido ao aumento de bradicinas e a liberação de óxido nítrico [HENNEBERG].

Acredita- se que a glutationa (GSH) interage com a hemoglobina sendo este um fator importante para marcadores de estresse oxidativo na anemia falciforme, e impede a formação de complexos de polímeros para HbS, além da função de sequestrar radicais livres [HENNEBERG]. Foi verificado que a indução de *t*-BHP interagindo com a GSH e a hemoglobina, resultou em produções significativas de MetHb e radicais com maior susceptibilidade de indivíduos HbS (SS e AS) o aumento de corpos de Heinz, MetHb, hemólise e depleção de GSH. No entanto não houve oxidação aumentada nos dois grupos [HENNEBERG].

Conclusão

A relação entre a DF e o estresse oxidativo em termos fisiopatológicos é muito amplo, um fator que dificulta a terapêutica e a busca por uma cura em que envolva os menores riscos possíveis. O transplante de medula óssea pode ser considerado um diferencial, indicado para uma terapia efetiva da doença. São extensivamente indicadas para o tratamento de talassemias na Itália, mas as informações encontrada sobre a

terapêutica da DF são restritas, motivo pelo qual poucos casos se submeteram ao transplante na literatura.

Referências Bibliográficas

ANDREWS NC. Homeostase do ferro: insights da genética e modelos animais. Nature Reviews Genética. 2000; 1:208-217.

ARAUJO, Olinda Maria Rodrigues. et al. Sobrevida e mortalidade em usuários e não usuários de hidroxiureia com doença falciforme. Rev. Latino-Am. Enfermagem jan.-fev 2015;23(1):67-73

BARREIROS, André L.B.S. *et al*. estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. Quim. Nova, Vol. 29, No. 1, 113-123, 2006

BAUM KF, Dunn DT, Maude GH, et ai. A dolorosa crise da doença falciforme homozigótica. Um estudo dos fatores de risco. Arch Intern Med. 1987; 147(7):1231–1234. [PubMed: 3606281]

CHARACHE S. Hemoglobina fetal, falcização e doença falciforme. Adv Pediatr. 1990; 37:1-31.

COSTA, Vania A. et al. Contribuição para a estimativa da freqüência populacional da Persistência Hereditária da Hemoglobina Fetal no Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 18(5):1469-1471, set-out, 2002.

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

GALIZA, Neto GC, Pitombeira MS. Aspectos moleculares da anemia falciforme. J Bras Patol Med Lab. 2003;39 (1):51-6.

HANSON, M. S.; PIKNOVA, B.; KESZLER, A.; DIERS, A. R.; WANG, X.; GLADWIN, M. T.; HILLERY, C. A.; HOGG, N. Methaemalbumin formation in sickle cell disease: effect on oxidative protein modification and HO-1 induction. British Journal of Haematology. v. 154, p. 502-511, 2011.

HEENEY, M. M.; WARE, R. E. Hydroxyurea for children with sickle cell disease. Pediatric Clinics of North America. v. 55, p. 483–501, 2008.

HENNEBERG, Railson. Estudo do efeito antioxidante de polifenóis em eritrócitos de portadores de hemoglobina S. Curitiba, 2013. p.58-59.

HERMANN PB, Pianovski MA, Henneberg R, Nascimento AJ, Leonart MS. Erythrocyte oxidative stress markers in children with sickle cell disease. J Pediatr (Rio J). 2016;92:394---9.

MACK, A. K.; KATO, G. J. Sickle cell disease and nitric oxide: a paradigm shift? Int J Biochem Cell Biol. v. 38, n.8, p. 1237-43. 2006. MACK, A. K.; KATO, G. J. Sickle cell disease and nitric oxide: a paradigm shift? Int J Biochem Cell Biol. v. 38, n.8, p. 1237-43. 2006.

Manual de Diagnóstico e Tratamento de Doenças Falciformes. Brasília: Anvisa, 2001. 142p.

PHILLIPS G Jr., Coffey B, Tran-Son-Tay R, et al. Relação da gravidade clínica com a reologia eritrocitária na anemia falciforme. Sangue. 1991; 78(10):2735–2739. [PubMed: 1824265]

PLATT OS, Brambilla DJ, Rosse WF, et al. Mortalidade da doença da célula falciforme. Expectativa de vida e fatores de risco para morte precoce. N Engl J Med. 1994; 330(23):1639–1644. [PubMed: 7993409]

Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, et al. Dor na doença falciforme. Taxas e fatores de risco. N Engl J Med. 1991; 325(1):11-16. [PubMed: 1710777]

POWARS DR. Anemia falciforme: haplótipos beta s-gene-cluster como indicadores prognósticos de doenças vitais. alência do órgão. Semina Hematol. 1991; 28(3):202–208. [PubMed: 1887245]

SIMÕES, Belinda P. *et al.* Consenso Brasileiro em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas: Comitê de Hemoglobinopatias. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(Supl. 1):46-53

STEINBERG MH, Rosenstock W, Coleman MB, et al. Efeitos da talassemia e microcitose na gravidade hematológica e vasooclusiva da anemia falciforme. Sangue. 1984; 63(6):1353–1360.