



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
DOUTORADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

INGRID CRISTIANE PEREIRA GOMES

MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PERFIL METABÓLICO
DA MASSA ÓSSEA DE ADULTOS COM ANEMIA
FALCIFORME

ARACAJU/SE

2023

INGRID CRISTIANE PEREIRA GOMES

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PERFIL METABÓLICO
DA MASSA ÓSSEA DE ADULTOS COM ANEMIA
FALCIFORME**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do
grau de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^a Dr.^a Rosana Cipolotti

ARACAJU/SE

2023

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DA SAÚDE – BISAU
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

G633m Gomes, Ingrid Cristiane Pereira
Marcadores inflamatórios e perfil metabólico da massa óssea de
adultos com anemia falciforme / Ingrid Cristiane Pereira Gomes
; orientadora Rosana Cipolotti. – Aracaju, 2023.
75 f. : il.

Tese (doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade
Federal de Sergipe, 2023.

1. Ciências da saúde. 2. Anemia falciforme. 3. Doenças ósseas.
4. Inflamação. 5. Painel Metabólico. I. Cipolotti, Rosana, orient. II.
Título.

CDU 616.155.194



INGRID CRISTIANE PEREIRA GOMES

**MARCADORES INFLAMATÓRIOS E PERFIL METABÓLICO DA MASSA ÓSSEA
DE ADULTOS COM ANEMIA FALCIFORME**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Saúde da Universidade Federal de
Sergipe como requisito parcial à obtenção do
grau de Doutora em Ciências da Saúde.

Aprovada em: 02/06/2023

Orientadora: Prof^a Dr^a. Rosana Cipolotti

1º Examinador: Prof^a Dr^a. Simone Santana Viana

2º Examinador: Prof^a Dr^a. Priscila Lima dos Santos

3º Examinador: Prof. Dr. Lucas Sousa Magalhães

4º Examinador: Prof^a. Dr^a. Lays Gisele Santos Bomfim

ARACAJU/SE

2023

À minha mãe Luzia Cristina, meu exemplo de dedicação e profissionalismo.

Aos meus avós que, assim como minha mãe, foram sempre tão importantes na minha criação.

Aos meus filhos Gabriel Lucas e Rafael Lucas, os maiores presentes que Deus me deu.
Ao meu esposo Eduardo, companheiro de todas as horas.

Aos pacientes, que, mesmo com o sofrimento pelo qual passam, conseguem ser pessoas felizes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus pela minha vida, minha família e por sempre iluminar meus caminhos.

À minha mãe, exemplo de dedicação e profissionalismo, por todo o amor que sempre me deu, pelo apoio incondicional, por sempre me incentivar a não desistir de meus sonhos e por fazer sempre o possível e o impossível para que eu os alcançasse. Mãe, devo tudo à senhora.

Aos meus avós Esmael e Valdemira, por terem cuidado de mim com tanto carinho.

Ao meu tio-pai Beto, pelo apoio que sempre me deu desde a infância.

Ao meu esposo Eduardo, meu amor e companheiro de todas as horas, pelo carinho, amizade, apoio nesses 22 anos juntos.

Agradeço a vocês pela paciência nos momentos de estresse e por terem sempre cuidado de meus filhos com tanto carinho durante as minhas ausências, necessárias para que eu chegasse até aqui.

Aos meus filhos Gabriel Lucas e Rafael Lucas, maiores presentes que Deus me deu. Gabriel nasceu durante o mestrado e Rafael em meio à fase de seleção do doutorado. Vocês são o motivo pelo qual me sinto mais forte para seguir em frente.

À minha orientadora prof^a Dr^a Rosana, por todo o apoio que sempre me deu, desde a época da graduação e mestrado, pelo incentivo, pelas orientações e por ter confiado em minha capacidade. Obrigada por acreditar em mim. Você é na verdade uma amiga, que está sempre ao meu lado na maioria dos momentos mais importantes da minha vida, formatura, nascimento de Gabriel, mestrado e agora doutorado. Obrigada por ter me acolhido como mestranda e doutoranda gestante e com bebês.

À prof^a Dr^a Priscila que, desde a época da seleção do doutorado, sem mesmo nunca ter me conhecido antes, ter me orientado com o projeto, ter viabilizado as dosagens dos marcadores inflamatórios, ter me recebido em sua casa para me auxiliar na submissão de artigo. Obrigada por estar sempre disponível para me ajudar.

À Carol, Ale, Paula e Matheus, que estiveram sempre presentes na fase de coleta de dados, especialmente à amiga Carol, com quem dividi preocupações e alegrias em toda a fase da pesquisa. Obrigada, Carolzinha, pelo apoio e pela torcida sempre.

À equipe do ambulatório de hematologia pediátrica, especialmente à Dr^a Simone, e Dr. Osvaldo pelo apoio nas quartas-feiras. Sua opinião sempre foi bem-vinda e importante para esse estudo.

À equipe da recepção do ambulatório, Grace Kelly e Natália, que sempre estavam a postos para ajudar na abertura de prontuários e na identificação dos pacientes semanalmente. À equipe do laboratório, Bete na fase inicial da coleta, Sheila, Fernanda e Vera no lançamento das solicitações dos exames de laboratório.

À equipe do Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Hospital Universitário da UFS, por todo o apoio nas coletas em meio a uma fase tão difícil, que foi a pandemia. Obrigada Fabrícia, Sérgio e Paulo, por me receberem no laboratório e me ajudarem num ambiente que nunca fez parte da minha rotina. Paulo, você foi essencial, sem você não teríamos conseguido. Sérgio, obrigada por ter possibilitado mantermos as coletas durante as férias de Paulo e ajudado mesmo quando ele estava de volta. À Camila e Lucas, que me socorreram no laboratório quando eu não sabia manusear os materiais.

À Mônica, por todas as idas e vindas ao hospital universitário, todo o apoio e cuidado com o material coletado e enviado para ser processado fora de Sergipe. Obrigada por nossa parceria que vem desde o mestrado. À Neto, por ter recebido as amostras para processamento de hemograma e LDH no terço final das coletas, o que possibilitou que não as interrompêssemos. À equipe do Centro de Imagem do Hospital Universitário, em especial a Beth, que, de forma sempre tão tecnicamente minuciosa e dedicada, possibilitou a realização das densitometrias. À Abrahão, que substituiu Beth nas suas férias e possibilitou mantermos a realização dos exames. À Dr^a Ângela, também especialmente, pois, assim que voltou de sua licença maternidade, laudou de forma tão eficiente e criteriosa todas as densitometrias já feitas e as novas à medida em que eram realizadas. Ao Dr Allan, que possibilitou a realização das densitometrias e a Rodrigo, que realizou os agendamentos no sistema. Às meninas da recepção do centro de imagens, em especial à Helise, que sempre estava a postos para viabilizar os exames, receber os pacientes com tanto carinho e me ajudar no que fosse preciso.

Ao meu ex-aluno, eterno pupilo e amigo Lindemberg, por toda a dedicação na organização e tabulação da imensidão de dados, revisão de literatura e discussão dos dados. Seu TCC foi um piloto dessa nossa conquista e foi um prazer e uma satisfação sem igual ter sido sua orientadora. Obrigada por todo o apoio, Lind. À minha ex-aluna e amiga Vivi, também sempre organizada, pelo apoio à distância na fase da coleta de dados com os pais dos pacientes.

Ao Prof Dr Roberto Jerônimo, por toda a dedicação e paciência comigo. Obrigada pelas várias vezes que me recebeu no DEF para, não somente rodar a análise estatística dos dados, mas me ensinar e me fazer entender as análises. Obrigada por sempre responder minhas mensagens e por toda atenção que sempre me deu, mesmo na fase mais difícil de sua vida. Prof, o senhor é TOP.

À profª Drª Tatiana, que viabilizou as dosagens do TREM no laboratório no DMO, por sempre me acolher, seja na sala do PPCGS, seja na sua casa, para me orientar e fazer excelentes sugestões. Tati, obrigada por todo o apoio, mesmo na fase mais difícil de sua vida e de sua família. Como eu já te disse, sou sua fã.

À equipe da secretaria do PPCGS, Érica e Elizandro, vocês foram essenciais nessa caminhada. Foram inúmeras as vezes em que mandei emails e mensagens com dúvidas que vocês prontamente responderam me orientando, em que corri para a sala de vocês para compartilhar cada submissão e rejeição dos artigos e vocês sempre estavam lá a postos para me animar.

À amiga Lays, que desde o mestrado contribuiu como participante da pesquisa, e ao amigo Lucas, por todo o apoio que sempre me deram presencialmente e à distância tanto na elaboração da tese quanto dos artigos. Obrigada por sempre me acolherem, por tirarem minhas dúvidas, em inúmeros momentos. Lays, obrigada por dedicar seu tempo a dosar o TREM lá no laboratório no DMO, por me receber em sua casa e por todas as vezes em que ficamos discutindo os dados da pesquisa, revendo as estatísticas, vendo a melhor forma dos gráficos. Lucas, obrigada por toda ajuda que me deu, pela paciência com minhas dúvidas, com os detalhes, em vários momentos. Vocês sempre me socorreram prontamente, seja no laboratório, seja na escrita, análise de dados e confecção de gráficos do artigo, *graphical abstract*, tradução de imagens da tese. Enfim, a experiência e o apoio de vocês foram essenciais para eu chegar até aqui. Lays e Lucas, obrigada por tudo.

A todos os amigos e os colegas de turma de doutorado, do grupo de orientandos da Profª Rosana e professores do Núcleo de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Nossa convivência foi um aprendizado. Obrigada pela torcida sempre.

Aos amigos, colegas, funcionários do hospital universitário e aos ex-alunos que participaram do grupo controle e, de maneira especial, aos pais dos pacientes e aos pacientes do ambulatório de hematologia que sempre foram tão solícitos e cooperativos. Poder contribuir com a melhora em sua assistência e de seus filhos é a principal razão desta pesquisa.

À banca de qualificação, professores Tatiana, Simone e Fabrício e à banca da defesa, professores Lucas, Lays, Priscila e Simone, por todas sugestões, essenciais para elaboração da versão final da tese.

Enfim, a todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização desta pesquisa, meu muito obrigada.

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é uma patologia multissistêmica, que se caracteriza por um processo inflamatório crônico e apresenta, dentre diversas complicações., alterações osteometabólicas. O papel da inflamação no envolvimento ósseo na AF ainda é pouco estudado. Esse estudo objetivou avaliar a relação entre marcadores inflamatórios e alterações osteometabólicas em adultos com AF. Foi realizado um estudo transversal, analítico e controlado, com 55 adultos com AF (grupo Hb-SS), em condição clínica estável, fora de crise álgica ou qualquer quadro agudo, com média de idade de 26,5 ($\pm$ 5,2) anos, 60 controles saudáveis (grupo Hb-AA), com idade média de 28 ($\pm$ 4,9) anos e 46 controles com traço falciforme (grupo Hb-AS), com idade média 33,1 ($\pm$ 6,9) anos. Os participantes foram submetidos à aplicação de questionários sobre dados sociodemográficos e clínicos, nível de atividade física, recordatório alimentar de 24h para estimar a ingestão diária de cálcio, avaliação antropométrica, laboratorial, com dosagens de índices hematimétricos, marcadores de hemólise, do metabolismo ósseo e inflamatórios LDH, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α e sTREM-1. Os grupos Hb-SS e Hb-AA também foram submetidos à densitometria óssea. O grupo Hb-SS apresentou maiores níveis de LDH, IL-1 β , IL-6, IL-10 e TNF- α que os outros dois grupos, assim como maiores níveis de fosfatase alcalina e CTX, marcadores de remodelação óssea, além de maior frequência (50%) de insuficiência/deficiência de vitamina D e menor densidade mineral óssea (DMO) na coluna lombar (DMOCL) que o grupo Hb-AA. Observou-se correlação positiva da hemoglobina, do hematócrito e negativa do fósforo sérico com a DMOCL no grupo Hb-SS. Não se observou correlação dos marcadores inflamatórios com a DMOCL. Na análise de regressão linear múltipla, verificou-se que hematócrito e reticulócitos apresentaram relação direta com a DMOCL e, no modelo por grupos de variáveis, relação positiva do hematócrito e negativa do fósforo com DMOCL. Os achados não corroboram a hipótese de que a inflamação é fator determinante para a DMOCL dos indivíduos com AF e reforçam a ideia de que a redução da DMO nessa população deve-se à própria anemia hemolítica que caracteriza a doença.

Palavras-chave: Anemia falciforme. Doenças Ósseas Metabólicas. Inflamação. Citocinas.

ABSTRACT

Sickle cell anaemia (SCA) is a multisystemic disease that involves a chronic inflammatory process and several complications, such as osteometabolic alterations. The role of inflammation in bone involvement in SCA is still poorly studied in the literature. This study aimed to assess the relation between inflammatory markers and osteometabolic alterations with SCA. A cross-sectional, analytical and controlled study was carried out with 55 adults with SCA (Hb-SS group), in stable clinical condition, with mean age of 26.5 (± 5.2) years, 60 healthy controls (Hb-AA group), with mean age of 28 (± 4.9) years and 46 controls with sickle cell trait (Hb-AS group), with mean age of 33.1 (± 6.9) years. Participants underwent questionnaires about sociodemographic and clinical data, level of physical activity, 24h dietary recall to estimate daily calcium intake, anthropometric and laboratory assessment, with measurements of hematimetric indices, markers of hemolysis, bone metabolism and inflammatory LDH, IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α and sTREM-1. Hb-SS and Hb-AA groups also underwent bone densitometry. Hb-SS group had higher levels of LDH, IL-1 β , IL-6, IL-10 and TNF- α than the other two groups, as well as higher levels of alkaline phosphatase and CTX, bone remodeling markers, in addition to higher frequency (50%) of vitamin D insufficiency/deficiency and lower BMD in the lumbar spine (BMDLS) than Hb-AA group. Positive correlation of hemoglobin and hematocrit and negative of phosphorus with BMDLS was seen in Hb-SS group. Correlation between inflammatory markers and BMDLS was not noted. In the multiple linear regression analysis, it was found that hematocrit and reticulocytes showed direct relation with BMDLS and, in the model by groups of variables, a positive relation of hematocrit and negative phosphorus with BMDLS. The findings do not corroborate the hypothesis that inflammation is a determining factor for BMD and reinforce the idea that the reduction in BMD in this population is due to the hemolytic anemia that occurs in SCA.

Keywords: Sickle cell anemia. Bone diseases, Metabolic. Inflammation. Cytokines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Alteração molecular no DNA que promove a formação da HbS..	15
Figura 2: Passos do processo de vaso-oclusão	19
Figura 3: Manutenção do estado de inflamação após a vaso-oclusão.....	20
Figura 4: Estado de inflamação crônica.....	21
Figura 5: Fatores que influenciam a redução da densidade mineral óssea na anemia falciforme	28
Figura 6: Relação dos marcadores inflamatórios com o metabolismo ósseo.....	31
Figura 7: Níveis séricos dos marcadores inflamatórios nos grupos Hb-SS, Hb-AS e Hb-AA.	39
Figura 8: Níveis séricos das razões citocinas inflamatórias e do sTREM-1 /IL-10 nos grupos Hb-SS, Hb-AS e Hb-AA	40
Figura 9: Níveis séricos de marcadores inflamatórios no grupo Hb-SS de acordo com uso da HU.....	41
Figura 10: Correlação dos índices hematimétricos e do metabolismo ósseo com a densidade mineral óssea na coluna lombar de adultos Hb-SS.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Dados clínicos de adultos com anemia falciforme, traço falciforme e controles	38
Tabela 2: Características clínicas de adultos com anemia falciforme e seus controles.....	42
Tabela 3: Índices hematimétricos e marcadores de hemólise de adultos com anemia falciforme e seus controles.....	42
Tabela 4: Variáveis relacionadas ao metabolismo ósseo de adultos com anemia falciforme e seus controles.....	43
Tabela 5: Densidade mineral óssea de adultos com anemia falciforme e seus controles.....	43
Tabela 6: Densidade mineral óssea de adultos com anemia falciforme comparados a seus controles saudáveis em relação ao sexo.....	43
Tabela 7: Correlação de marcadores inflamatórios com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme	45
Tabela 8: Regressão linear múltipla de variáveis clínicas e laboratoriais com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme.....	45
Tabela 9: Regressão linear múltipla de índices hematimétricos e marcadores de hemólise com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme.....	46
Tabela 10: Regressão linear múltipla de variáveis relacionados ao metabolismo ósseo com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme.....	46

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AF: anemia falciforme

AINEs: anti-inflamatórios não esteroidais

CTX: telopeptídeo C-terminal de colágeno tipo I

DEXA: densitometria óssea através da absorção de raios-X de dupla energia

LDH: desidrogenase láctica

DMO: densidade mineral óssea

DMOCL: densidade mineral óssea na coluna lombar

FGF: fator de crescimento de fibroblastos

GAG: Guanina, Adenina, Guanina

GTG: Guanina, Timina, Guanina

Hb: hemoglobina

HbF: hemoglobina fetal

HbS: hemoglobina S

HU: hidroxíureia

ICAM1: molécula de adesão intercelular-1

IL: interleucina

IPAQ: *International Physical Activity Questionnaire*

ISCD: Sociedade Internacional de Densitometria Clínica

NAF: nível de atividade física

NO: óxido nítrico

NOS: óxido nítrico sintetase

OPG: osteoprotegerina

PTH: hormônio da paratireoide

RANK: receptor do ligante do fator nuclear κ -B

RANKL: ativador do receptor do ligante do fator nuclear κ -B

sTREM-1: *Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells* (Forma solúvel do TREM-1)

TLR: receptor *toll-like*

TNF- α : fator de necrose tumoral alfa

TRAP: fosfatase ácida resistente ao tartarato

TREM: *Triggering Receptor Expressed Myeloid Cells*

VCAM1: molécula de adesão vascular-1

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Aspectos gerais e epidemiológicos da anemia falciforme.....	14
2.2	Aspectos fisiopatológicos da anemia falciforme	16
2.2.1	O processo vaso-oclusivo.....	17
2.2.1.1	Hemólise e óxido nítrico	17
2.2.1.2	Vaso-oclusão e inflamação	18
2.3	Tratamento.....	23
2.4	Metabolismo ósseo	24
2.4.1	Células de revestimento ósseo.....	24
2.4.2	Osteoblastos.....	24
2.4.3	Osteócitos.....	25
2.4.4	Osteoclastos	25
2.4.5	Sinalização intercelular e expressão gênica.....	25
2.4.5.1	Osteoblastos e osteócitos	25
2.4.5.2	Osteoclastos	26
2.4.6	Paratormônio	27
2.4.7	Vitamina D	27
2.5	Impacto da anemia falciforme no metabolismo ósseo	28
3	OBJETIVOS	32
3.1	Objetivo geral.....	32
3.2	Objetivos específicos.....	32
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS	33
4.1	Delineamento metodológico	33
4.2	Amostra	33
4.3	Coleta de dados	34
4.3.1	Avaliação antropométrica.....	34
4.3.2	Avaliação laboratorial.....	34
4.3.3	Avaliação densitométrica.....	35
4.3.4	Avaliação do nível de atividade física	36
4.3.5	Avaliação nutricional	36

4.4	Análise de dados.....	36
4.5	Aspectos éticos.....	37
5	RESULTADOS.....	38
6	DISCUSSÃO	47
7	CONCLUSÃO	55
	REFERÊNCIAS.....	56
	APÊNDICE A: QUESTIONÁRIO GERAL DO GRUPO DE PACIENTES	66
	APÊNDICE B: QUESTIONÁRIO GERAL DO GRUPO CONTROLE.	67
	APÊNDICE C: AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA	68
	APÊNDICE D: RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS	69
	APÊNDICE E: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO .	70
	ANEXO A: <i>INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE</i> (IPAQ) – VERSÃO CURTA.....	71
	ARTIGOS PUBLICADOS	72
	ARTIGOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO.....	74

1 INTRODUÇÃO

A anemia falciforme (AF), hemoglobinopatia hereditária mais prevalente no mundo, tem caráter autossômico recessivo e decorre de alteração genética que leva à formação de uma hemoglobina (Hb) alterada, a hemoglobina S (HbS) (SUNDD; GLADWIN; NOVELLI, 2019). É uma patologia multissistêmica, que se caracteriza por um processo inflamatório crônico e apresenta elevada morbidade e mortalidade precoce (CONRAN; BELCHER, 2018; DONG; MCGANN, 2021).

A alteração fisiopatológica primária da AF resulta em inúmeras complicações. Há frequentemente crises vaso-oclusivas, devido à falcização dos eritrócitos, que promovem oclusão microvascular e ativação de leucócitos, plaquetas e células endoteliais (DOMINGOS et al., 2020; SUNDD et al., 2019), além de produção de citocinas inflamatórias, processo que gera dano isquêmico aos tecidos e comprometimento de vários órgãos (CONRAN & BELCHER, 2018; DOMINGOS et al., 2020).

A vaso-oclusão é responsável por vários episódios dolorosos agudos, os quais são a principal causa de hospitalizações em pacientes com AF (CONRAN & BELCHER, 2018). Essas crises manifestam-se espontaneamente ao longo da vida e ocorrem frequentemente nos ossos (GREEN et al., 2015). Além do envolvimento ósseo agudo, como crise algica e osteomielite, há complicações clínicas crônicas, como crescimento prejudicado, infecções crônicas e redução da densidade mineral óssea (DMO) (SARRAI et al., 2007). Aponta-se que inúmeros fatores, como o processo de isquemia-reperusão, liberação de citocinas, desequilíbrio de atividade entre os osteoblastos e osteoclastos, deficiência de vitamina D, hemólise e sobrecarga de ferro, entre outros, podem contribuir para redução da DMO e suas complicações (GIORDANO et al., 2021). Embora a inflamação esteja envolvida na AF e na redução da massa óssea, não foi identificado estudo prévio sobre marcadores inflamatórios e DMO em indivíduos com essa hemoglobinopatia.

Uma vez que adultos com AF tem alcançado maior expectativa de vida nas últimas décadas, que o pico de massa óssea é atingido na idade adulta e que o acometimento ósseo pode levar a maior morbidade devido ao aumento do risco de fratura, associado ao envolvimento da inflamação na fisiopatologia da AF e da osteoporose, esse estudo teve como objetivo investigar a relação entre marcadores inflamatórios e alterações osteometabólicas de adultos com AF.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. ASPECTOS GERAIS E EPIDEMIOLÓGICOS DA ANEMIA FALCIFORME

A doença falciforme (DF), que contempla todo o grupo de anemias hemolíticas de origem hereditária, sejam elas heterozigotas ou homozigotas, é a doença hematológica hereditária mais comum no mundo (NARTEY et al., 2021). Sua forma mais grave, anemia falciforme (AF), foi descrita pela primeira vez em 1910, quando o Dr. James Herrick fez um relato de anemia grave e que, ao analisar o esfregaço de sangue, os eritrócitos possuíam formato de foice (HERRICK, 2001). Em 1949, Linus Pauling descobriu que uma proteína anormal era a causa de uma doença semelhante e realizou a primeira descrição: a HbS (SALINAS CISNEROS; THEIN, 2020).

Posteriormente, descobriu-se que a AF é uma patologia genética, autossômica recessiva, decorrente da mutação pontual no gene da β -globina, que resulta na substituição de uma base nitrogenada no sexto códon desse gene, no braço curto do cromossomo 11 (SUNDD; GLADWIN; NOVELLI, 2019). Assim, a adenina da sequência GAG é trocada por timina, formando a sequência GTG (INUSA et al., 2019; SUNDD; GLADWIN; NOVELLI, 2019), o que leva à substituição do aminoácido ácido glutâmico, que é hidrofílico, por valina, que é hidrofóbica. Forma-se, portanto, um tetrâmero de HbS ($\alpha_2\beta_2^S$), que sofre polimerização dentro das hemácias quando desoxigenadas, devido às interações hidrofóbicas entre suas moléculas (PICCIN et al., 2019) (Figura 1).

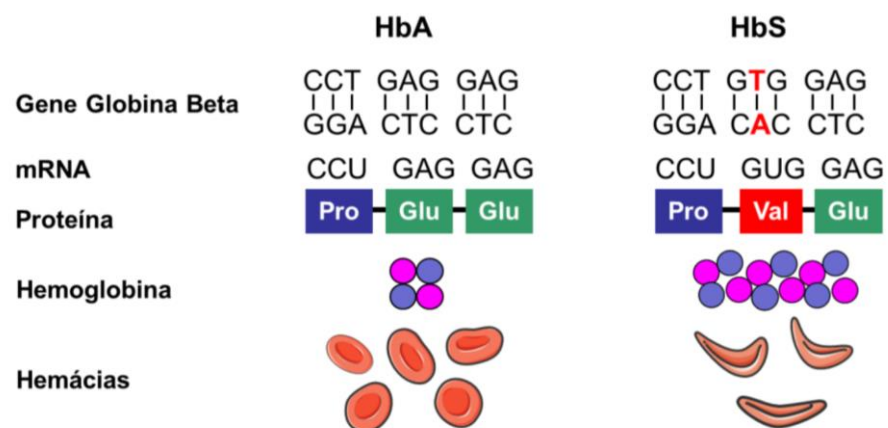


Figura 1: Alteração molecular no DNA que promove a formação da HbS. Adaptado de: Kato *et al*, 2018.

O genótipo heterozigoto (Hb-AS) é denominado traço falciforme e representa uma condição na qual o indivíduo carrega o gene S, podendo transmiti-lo para seus descendentes. O traço falciforme é considerado uma condição benigna, na qual a morbidade e mortalidade são comparáveis à população geral (CONNES et al., 2008). Embora a maioria dos indivíduos com traço falciforme seja assintomática, estudos apontam prováveis complicações para esta condição, como hematúria, necrose papilar renal, hipostenúria, infarto esplênico, rabdomiólise por esforço e morte súbita relacionada ao exercício (NAIK et al., 2018; TSARAS et al., 2009).

A DF acomete, predominantemente, pessoas com ascendência africana, indiana e árabe, com a maioria dos casos ocorrendo na África Subsaariana (INUSA et al., 2019; NARTEY et al., 2021). Supõe-se que a elevada prevalência nesses locais é devido ao fator protetor que a hemoglobinopatia heterozigota garante contra a mortalidade por malária (SARAF et al., 2014).

A migração entre países promoveu a distribuição dos genes da célula falciforme para regiões em que não há elevada prevalência de malária, como Itália e Inglaterra (INUSA et al., 2019; SARAF et al., 2014). Nos Estados Unidos, existem aproximadamente 100.000 indivíduos com DF (HASSELL, 2010). Apesar desse aumento, a taxa de mortalidade pela AF diminuiu nas últimas cinco décadas. Tal redução decorreu do advento dos programas de triagem neonatal, profilaxia de infecções com o uso de penicilina, imunização pneumocócica e a instituição de programas de cuidado que conseguem prevenir e tratar as complicações da doença (BRASIL, 2012; NARTEY et al., 2021; WARE et al., 2017). No mundo, o traço falciforme está presente em aproximadamente 300 milhões de pessoas, com prevalência que varia de 2% a 30% em diversos países (NAIK et al., 2018).

No Brasil, nascem, anualmente, cerca de 3.000 crianças com AF (DA SILVA DE JESUS et al., 2018). Estima-se que 25.000 a 50.000 pessoas tenham AF e que maioria seja das regiões Norte e Nordeste do país (BRASIL, 2018). Como é mais frequente em negros, os quais, em muitos casos, constituem grupos menos favorecidos da sociedade e vivem em regiões periféricas dos grandes centros urbanos, a distância aos centros de referência constitui uma barreira para o acompanhamento integral e redução das complicações (FERNANDES et al., 2015). Além disso, como em outras doenças, o nível socioeconômico e cultural afeta

diretamente a qualidade de vida das pessoas e interfere nos cuidados com a saúde e com a nutrição (DA SILVA DE JESUS et al., 2018).

2.2. ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA ANEMIA FALCIFORME

O evento fundamental da fisiopatologia e das complicações da AF é a polimerização da HbS quando em ambiente sob baixa tensão de oxigênio (SALINAS CISNEROS & THEIN, 2020). Quando isso acontece, os eritrócitos sofrem alteração do citoesqueleto, da bicamada lipídica e das proteínas da sua membrana, levando a uma desidratação e a mudanças na sua conformação, adquirindo o formato de foice (GARCIA et al., 2020). Como bebês e crianças mais novas têm elevados níveis de hemoglobina fetal (HbF), a qual impede essa polimerização, eles têm uma maior proteção contra as crises de falcização. Entretanto, os níveis de HbF reduzem com o avançar da idade até se tornarem insuficientes para inibir a falcização (DONG; MCGANN, 2021).

Falcizações repetidas da HbS reduzem a deformabilidade e a vida útil da hemácia em até 1/6 de uma hemácia normal (SALINAS CISNEROS; THEIN, 2020). Com as alterações estruturais, a célula fica mais densa, adesiva e a membrana torna-se rígida (INUSA et al., 2019). Todas essas mudanças implicam em anemia hemolítica e interações anormais com as células imunes e com o endotélio. Como consequência, há bloqueio do fluxo sanguíneo, principalmente em vasos pequenos, que levam a processos repetidos de hipóxia-reperfusão. Como há intensa apoptose dos eritrócitos, ocorre aumento da eritropoiese, refletindo no aumento da circulação de reticulócitos (FERREIRA et al., 2017).

A justificativa para esse processo é que ocorre exposição de moléculas de adesão que normalmente não são expressas e são capazes de aumentar a adesividade e de ativar a cascata de coagulação (CONRAN; BELCHER, 2018; SUNDD; GLADWIN; NOVELLI, 2019). A consequência é vaso-oclusão, isquemia tecidual, infarto e hemólise (INUSA et al., 2019).

As células irreversivelmente falciformes contribuem para o estado inflamatório crônico da AF em decorrência dos mecanismos hemolíticos e de fenômenos vaso-oclusivos (CONRAN; BELCHER, 2018). Nesse contexto, a doença se caracteriza por lesão crônica progressiva dos órgãos durante o período estacionário, intercalado com episódios de vaso-oclusão, que correspondem a exacerbações da condição pró-inflamatória da doença com a

formação de agregados com eritrócitos falciformes, plaquetas e células imunes (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017; ZHANG et al., 2016).

2.2.1. O processo vaso-oclusivo

A vaso-oclusão compreende um processo que envolve várias etapas e ativação de diversas células através de inúmeros mecanismos, como consequência das anormalidades bioquímicas na célula falciforme, e o ponto-chave é o dano ao sistema vascular decorrente da hemólise.

Para que o processo vaso-oclusivo ocorra geralmente são necessários gatilhos, embora exista, naturalmente, uma suscetibilidade pelo próprio mecanismo fisiopatológico da doença. As principais ameaças são: disfunção imunológica decorrente da asplenia funcional e do aumento do risco de infecção por bactérias encapsuladas; inflamação estéril crônica, que gera maior sensibilidade a patógenos pela suprarregulação das citocinas; diminuição da reserva cardiopulmonar devido à lesão endotelial, da disfunção diastólica e da hipertensão pulmonar; por fim, deterioração renal progressiva, com hiperfiltração glomerular e disfunção tubular (NOVELLI; GLADWIN, 2016).

2.2.1.1. Hemólise e óxido nítrico

Com a ruptura da membrana eritrocitária, ocorre a liberação de polímeros de Hb livre na circulação. A forma livre dessa proteína se degrada nos grupamentos heme e globina. Em condições normais, o heme férrico livre liga-se à hemopexina e posteriormente é degradado no fígado. Já a globina liga-se à haptoglobina e esse complexo é degradado pelos macrófagos (PICCIN et al., 2019). Na AF, como o processo de degradação eritrocitária ocorre de maneira mais exuberante, o excesso de Hb se conjuga com o óxido nítrico (NO) presente nos vasos e se transforma em nitrato inerte, comprometendo a vasodilatação (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017).

O NO é um radical livre sintetizado pela família das enzimas NO sintetase (NOS) durante a conversão da arginina em citrulina. O NO produzido pela NOS endotelial difunde-se para a musculatura lisa adjacente e, através da ação de proteínas quinase, promove o relaxamento da musculatura lisa perivascular (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017). Somado ao processo do NO ser consumido pela Hb durante a ruptura das hemácias, ocorre a

liberação de arginase, enzima responsável por metabolizar a arginina, substrato para a NOS, e por liberar a dimetilarginina assimétrica, um inibidor da NOS (LANDBURG et al., 2010). A consequência de todo o processo é a ativação plaquetária e ativação das proteínas de coagulação (KATO et al., 2018).

2.2.1.2. Vaso-oclusão e inflamação

O processo vaso-oclusivo na AF compreende várias etapas que envolvem interações entre eritrócitos falciformes, leucócitos ativados, células endoteliais, plaquetas e proteínas plasmáticas. A vaso-oclusão recorrente, o processo de isquemia-reperfusão e consequente ativação e lesão das células endoteliais vasculares induzem uma resposta inflamatória crônica no indivíduo com AF, que é propagada por níveis elevados de citocinas inflamatórias, diminuição da biodisponibilidade de NO e estresse oxidativo (CONRAN; FRANCO-PENTEADO; COSTA, 2009).

O grupamento heme da Hb, além de ser tóxico para o endotélio, também é responsável por ativar células do sistema imune. Isso é possível graças à capacidade de sinalização da via inflamassoma e à consequente ativação da imunidade inata, através do receptor do tipo Toll (TLR) 4 e da família de receptores intracitoplasmáticos do tipo NOD (KATO; STEINBERG; GLADWIN, 2017). Ao mesmo tempo, a Hb oxidada também é capaz de ativar a liberação de moléculas de adesão do endotélio, tais como P-selectina, E-selectina, molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM1) e molécula de adesão intercelular-1 (ICAM1) (ZHANG et al., 2016).

Além da Hb oxidada ter potencial para liberar moléculas de adesão, os monócitos exibem fenótipo ativado e contribuem para o processo vaso-oclusivo na AF. Essa ativação ocorre na tentativa de remover micropartículas hidrofóbicas, decorrente da lesão da membrana dos eritrócitos (PICCIN et al., 2019). Esse fenômeno acontece também porque os elevados níveis do fator de crescimento de placenta, um fator de crescimento angiogênico na família do fator de crescimento endotelial, também presente na membrana dos eritrócitos, contribui para ativação dessas células e exposição do fator tecidual (PICCIN et al., 2019; WONGTONG et al., 2015).

As células endoteliais são ativadas por estímulos inflamatórios internos e exógenos, com isso neutrófilos circulantes são recrutados para as vênulas pós-capilares. Tais neutrófilos aderentes interagem com hemácias falciformes circulantes, o que leva à obstrução transitória ou prolongada do fluxo sanguíneo venular. Essa obstrução aumenta o tempo de trânsito das

hemácias, gera isquemia, aumenta a falcização de hemácias e promove ainda mais recrutamento de neutrófilos e interações heterotípicas. Além disso, viu-se que neutrófilos envelhecidos representam um neutrófilo excessivamente ativo sob condições inflamatórias (Figura 2).

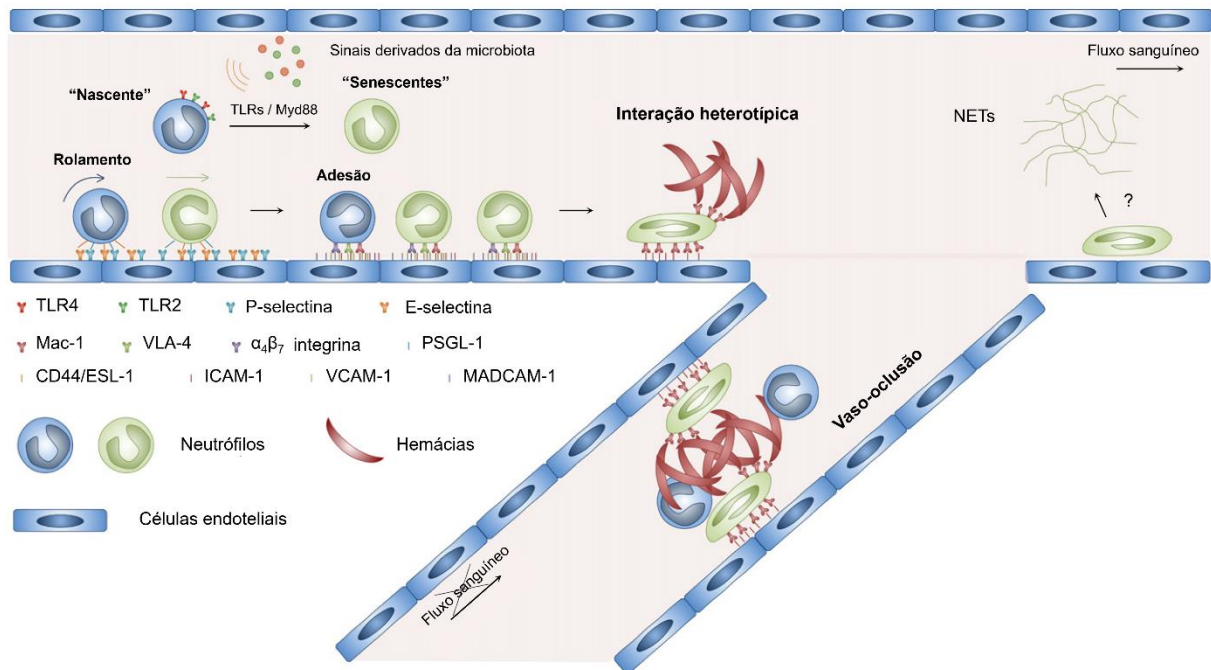


Figura 2: Passos do processo de vaso-oclusão. Adaptado de: Zhang et al. (2016).

A ativação das células inflamatórias e de suas vias de sinalização implica na produção e secreção de inúmeras moléculas que perpetuam o estado inflamatório, como quimiocinas, eicosanóides, citocinas e fatores de crescimento (CONRAN; BELCHER, 2018). A consequente ativação do fator de transcrição NF- κ B das células endoteliais promove maior expressão de moléculas de adesão (P-selectina, E-selectina, ICAM-1, VCAM-1) e de interleucina (IL) 1 α (IL-1 α), IL-1 β , IL-6, IL-8, inibidor do ativador de plasminogênio, entre outros (CONRAN; BELCHER, 2018; ZHANG et al., 2016). Algumas das citocinas estimulam suas sínteses mutuamente. Como há lesão celular, há ativação de linfócitos. Essas células contribuem com a liberação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) como consequência precoce dos processos de isquemia-reperfusão. Isso gera um círculo vicioso, pois essa molécula é capaz de ativar mais linfócitos e células endoteliais (CONRAN; BELCHER, 2018). Esse processo corrobora para a adesão celular de neutrófilos, os quais contribuem com a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-1 β (WONGTONG et al., 2015) (Figura 3).

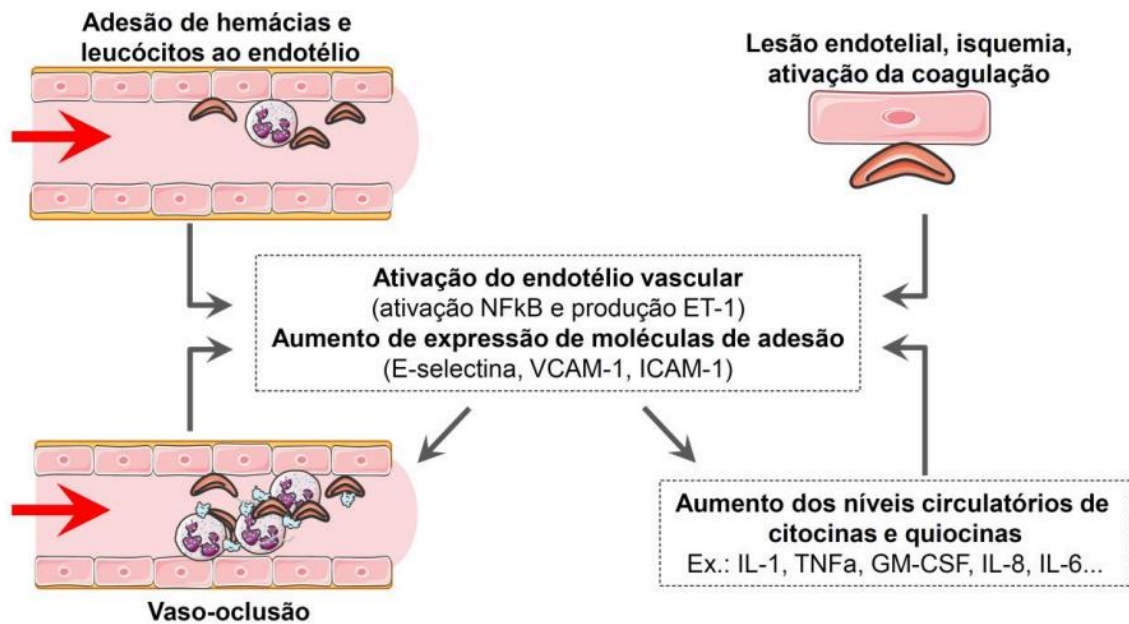


Figura 3: Manutenção do estado de inflamação após a vaso-oclusão. Adaptado de Conran *et al*, 2009.

Outras moléculas também estão presentes na condução da inflamação. Em decorrência da ativação do inflamossoma, há elevados níveis de IL-1 e de IL-18. A primeira estimula a ativação de leucócitos e de células endoteliais, enquanto a segunda contribui com a vasculopatia por estimular a proliferação de células musculares lisas, bem como estimula a produção de outras citocinas (CONRAN; BELCHER, 2018). A IL-6 está aumentada, porém ela atua em uma via de mão dupla: ao mesmo tempo em que é uma proteína que marca a fase aguda de um processo inflamatório, é capaz de suprarregular a IL-10, que tem caráter anti-inflamatório (CONRAN; BELCHER, 2018).

As IL-1 β , IL-6, IL-8, e TNF- α apresentam níveis elevados tanto na crise vaso-oclusiva quanto no período estável (NADER; ROMANA; CONNES, 2020; QARI; DIER; MOUSA, 2012; VONA et al., 2021). Como sempre o organismo tenta manter o equilíbrio, existe uma tentativa de conter o processo inflamatório e um dos mecanismos é através da suprarregulação da IL-10. Produzida principalmente pelos macrófagos, linfócitos T e B, células natural-killer e monócitos, essa citocina tenta impedir a produção das citocinas pró-inflamatórias (CONRAN; BELCHER, 2018) (Figura 4).

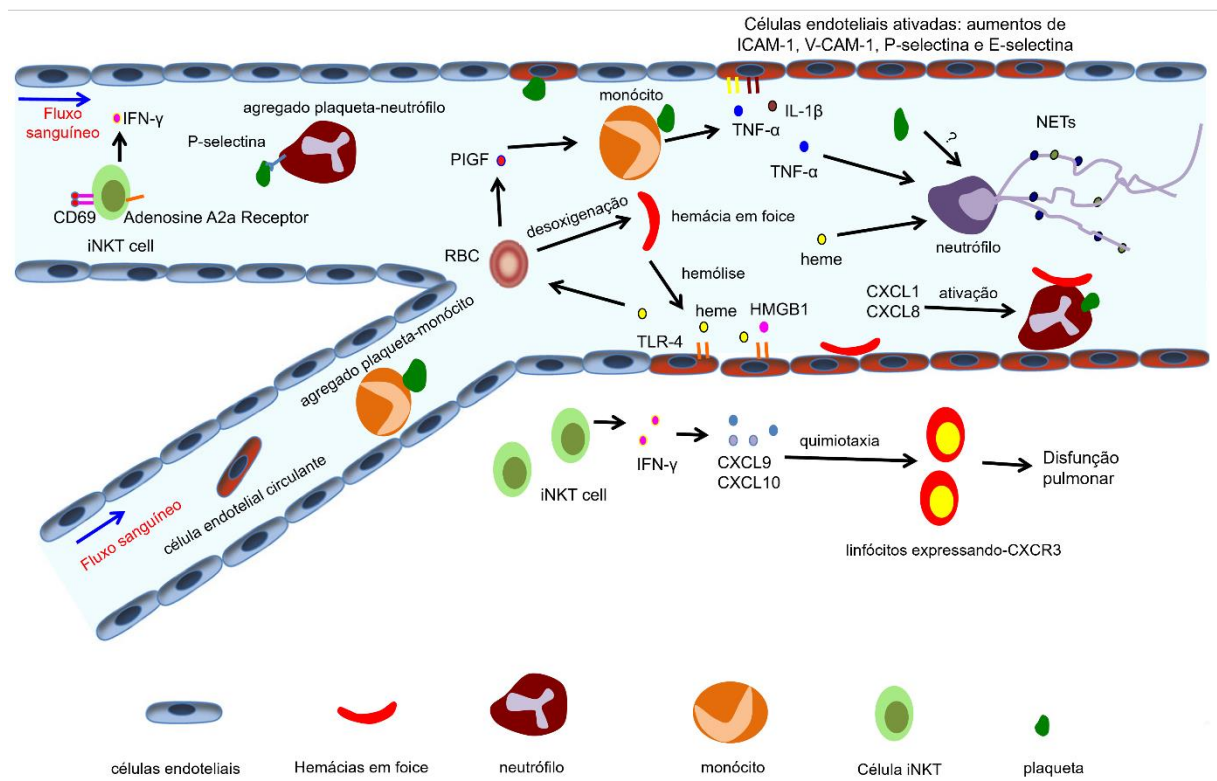


Figura 4: Estado de inflamação crônica. Adaptado de: Zhang *et al.* (2016).

A produção de citocinas pró-inflamatórias em monócitos e em neutrófilos pode também ser promovida pela sinergia entre receptores de ativação expressos em células mieloides tipo 1 (*Triggering Receptor Expressed Myeloid Cells*, TREM-1) e receptores toll-like (TRLs), relacionados à imunidade inata (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000; GIBOT *et al.*, 2004; RADSACK *et al.*, 2004).

Os receptores TREM, identificados por Bouchon, Dietrich e Colonna (2000), são uma família de receptores de superfície celular que pertencem à superfamília de imunoglobulinas e são expressos principalmente em células mieloides, como neutrófilos, subtipos de monócitos e macrófagos (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000), além de megacariócitos, plaquetas, células endoteliais e queratinócitos (JOLLY *et al.*, 2017; SHARIF; KNAPP, 2008). Tais receptores são considerados importantes moduladores da resposta imune, amplificando-a, através da atuação sinérgica com os TRLs na produção de mediadores inflamatórios. Sua via de sinalização resulta na ativação do fator nuclear κB e na expressão de genes inflamatórios, assim como na degranulação, produção de radicais livres de oxigênio (ROS) e citocinas (BOUCHON; DIETRICH; COLONNA, 2000).

Já foram descritas as seguintes classes de proteínas na família do TREM: TREM-1, TREM-2, TREM-3 (em camundongo), TLT-1 (TREM like transcript 1) e TLT-2 (TREM like transcript 2), estes dois últimos em camundongos e em humanos (KLESNEY-TAIT et al., 2006; PANDUPUSPITASARI et al., 2016), sendo o TREM-1 o mais elucidado.

O TREM-1 pode atuar como receptores de reconhecimento padrão (PRR) com capacidade similar aos TLRs através de reconhecimento de padrões moleculares. Os TLRs identificam os patógenos e ativam as células da imunidade inata a fim de eliminá-los e moldar a resposta imune adaptativa (BOUCHON et al., 2000). Em monócitos, a ativação do TREM-1 propicia aumento da fagocitose, produção de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-8, um quimiotático potente para neutrófilos, além das citocinas TNF- α e IL-1 β (BOUCHON et al., 2000; TESSARZ & CERWENKA, 2008). Em neutrófilos, sua ativação, além de levar ao aumento da fagocitose e degranulação de enzimas, relaciona-se à produção de ROS e produção de citocinas inflamatórias e quimiocinas, como IL-8 (BOUCHON et al., 2001). Revisão prévia, além de apontar a produção de outras citocinas e quimiocinas além de IL-1 β , IL-8 e TNF- α , como IL-2, IL-6 por exemplo, evidenciou uma redução da produção de IL-10 (ARTS et al., 2013), o que aponta papel pró-inflamatório do TREM-1.

O RNAm do TREM-1 tem uma variante que codifica uma proteína com perda de uma região transmembrana, resultando em um receptor secretado na forma solúvel (sTREM-1) (MAHDY et al., 2006), o qual também pode se originar da clivagem proteolítica do TREM-1 de superfície, através da ação de metaloproteinases (GÓMEZ-PIÑA et al., 2007). Aponta-se que sTREM-1 regula negativamente a sinalização TREM-1 de membrana através da neutralização de seus ligantes (KLESNEY-TAIT et al., 2006). O sTREM-1 pode ser detectado em fluídos corporais, como soro, derrame pleural, expectoração e urina, durante infecção ou inflamação (CAO; GU; ZHANG, 2017). Estudos apontam que seus níveis séricos elevados indicam quadro infeccioso e patologias inflamatórias não-infecciosas, como por exemplo sepse, pneumonia, meningite bacteriana e artrite reumatoide (GIBOT et al., 2004; GÓMEZ-PIÑA et al., 2007; OKU et al., 2013), inclusive sugere-se que o sTREM-1 pode ser utilizado como um biomarcador indireto de inflamação sistêmica (DETERMANN et al., 2009). Apesar de a AF ser uma patologia de caráter inflamatório, até o momento não há registro de estudos sobre o TREM-1 nos indivíduos com AF. Estudo prévio evidenciou que o bloqueio do TREM-1 reduz o processo vaso-oclusivo em modelo experimental animal e sugeriu papel do sTREM-1 como biomarcador da evolução da doença falciforme (THARAUX et al., 2021).

2.3. TRATAMENTO

Existem vários medicamentos que tentam controlar a doença em diversos aspectos. Por muitos anos, a hidroxiureia (HU), principal droga utilizada até hoje, foi a única droga disponível para modificar o curso da doença. Todavia, atualmente, existem outras terapias medicamentosas com a recente aprovação da *Food and Drug Administration*, como L-glutamina, crizanlizumab e voxelotor (RAI; ATAGA, 2020). Cada um tem uma função diferente.

A principal ação da HU é a capacidade de aumentar os níveis de HbF células falciformes. O mecanismo exato pelo qual consegue tal efeito não é totalmente compreendido, mas sabe-se que ela inibe a ribonucleotídeo redutase, o que evita a formação de desorribonucleotídeos. Isso implica na parada da fase S de replicação de todas as células, induzindo, dessa forma, a eritropoiese e o aumento da produção de HbF (ADEWOYIN, 2015). Além disso, ela reduz a deformabilidade dos eritrócitos e a hemólise, melhora a hidratação celular, limita a interação das células falciforme com o endotélio vascular, atua como doadora de NO e reduz os níveis de reticulócitos, leucócitos e de plaquetas (ADEWOYIN, 2015; RAI; ATAGA, 2020), sendo a supressão medular listada como um dos possíveis efeitos colaterais.

A HU está indicada para indivíduos com eletroforese de hemoglobina compatível com o diagnóstico de DF: Hb SS, SC, SD ou SBetaTal, idade igual ou maior que dois anos, possibilidade de comparecer às reavaliações periódicas; beta-HCG sérico negativo para mulheres em idade reprodutiva; ter apresentado pelo menos uma das complicações abaixo nos últimos 12 meses: três ou mais episódios de crises vaso-oclusivas com necessidade de atendimento médico; dois episódios de síndrome torácica aguda (definida como dor torácica aguda com infiltrado pulmonar novo, febre de 37,5°C ou superior, taquipneia, sibilos pulmonares ou tosse); um episódio de priapismo grave ou priapismo recorrente; necrose isquêmica óssea; insuficiência renal; proteinúria de 24 h maior ou igual a 1 g; anemia grave e persistente (Hb menor que 6 g/dL em três dosagens no período de 3 meses); desidrogenase láctica (LDH) elevada duas vezes acima do limite superior nas crianças ou adolescentes e acima de três vezes do limite superior no adulto; alterações no ecodoppler transcraniano acima de 160 e até 200 cm/s; retinopatia proliferativa; ou quaisquer outras situações em que haja comprovação de lesão crônica de órgão (BRASIL, 2018).

2.4. METABOLISMO ÓSSEO

O esqueleto, além de fornecer suporte mecânico para estatura e locomoção, armazena a medula óssea, fornece proteção para órgãos vitais e é fonte de vários minerais, como cálcio, fosfato e magnésio. Também é fonte de moléculas orgânicas, tais como fibras de colágeno (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; HAN et al., 2018). O osso, apesar de parecer ser um tecido inerte e sem mudanças, é um órgão altamente dinâmico. Ele é remodelado em ciclos constantes de forma assíncrona em todo o esqueleto (SIMS; VRAHNAS, 2014). Esse processo sempre ocorre na mesma sequência: remodelação seguida por produção da matriz óssea (SIMS; VRAHNAS, 2014). Entretanto, quando ocorre remodelação óssea, há uma tendência de redução da massa óssea.

O osso é um tecido conjuntivo composto por quatro tipos de células: osteoblastos, osteoclastos, osteócitos e células de revestimento ósseo (FLORENCIO-SILVA et al., 2015). A formação, proliferação e atividade das células ósseas são controladas por fatores sistêmicos e locais. Dessa forma, uma rede intrincada de citocinas e de fatores de crescimento atuam e controlam de forma autócrina/parácrina a homeostase óssea, além de hormônios sistêmicos, como o paratormônio (PTH), esteroides sexuais e glicocorticoides (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

2.4.1 Células de revestimento ósseo

As células de revestimento ósseo consistem em osteoblastos em um estado quiescente. Essas células parecem impedir a interação direta dos osteoclastos com a matriz óssea, impedindo que ocorra o processo de reabsorção óssea quando esta não deve ocorrer. Participam também do processo de diferenciação dos osteoclastos ao produzir osteoprotegerina (OPG) e ativador do receptor do ligante do fator nuclear κ -B (RANKL) (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

2.4.2 Osteoblastos

Os osteoblastos originam-se de células-tronco mesenquimais e são responsáveis pela produção e secreção de componentes da matriz óssea, regulando o depósito de hidroxiapatita, que é o componente mineral do osso (PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019). A transição de progenitores de osteoblastos para chegar na fase de células maduras é caracterizada pela ativação de fatores de transcrição, além da atuação de proteínas, como fator de crescimento

de fibroblastos (FGF) (PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019). A fase de pré-osteoclastos é marcada pela produção da fosfatase alcalina. Na transição de pré-osteoblasto para célula madura ocorre a secreção de proteínas que irão compor a matriz extracelular – osteocalcina, colágeno tipo I e sialoproteína óssea I/II (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019).

2.4.3 Osteócitos

Os osteócitos são originados a partir dos osteoblastos e mecanismos genéticos e moleculares modulam essa diferenciação (DALLAS; BONEWALD, 2010). O osteócito é responsável por integrar os sinais hormonais e mecânicos na regulação da massa óssea. Ele regula a função dos osteoblastos e osteoclastos, pois percebe os estímulos mecânicos, controla as respostas adaptativas à carga mecânica e é um alvo para as ações do PTH (DALLAS; PRIDEAUX; BONEWALD, 2013).

Os osteócitos também apresentam função endócrina por meio da produção de fatores circulantes, como o FGF derivado de osso 23 (FGF23), que é capaz de manter a homeostase do fósforo, ao inibir a produção da 1,25-diidroxivitamina D3 e a reabsorção renal desse ânion, além de suprimir a síntese do PTH (MIZOKAMI; KAWAKUBO-YASUKOCHI; HIRATA, 2017).

2.4.4 Osteoclastos

Os osteoclastos são originados a partir de células-tronco hematopoiéticas, mais especificamente de células mononucleares, e são responsáveis pela reabsorção óssea (FLORENCIO-SILVA et al., 2015; PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019). São capazes de produzir e secretar enzimas na superfície óssea, com o objetivo de dissolver proteínas e minerais, como a hidroxiapatita. O ambiente ácido dessas lacunas é capaz de ativar proteinases para degradar e renovar a matriz extracelular (HAN et al., 2018).

2.4.5 Sinalização intercelular e expressão gênica

2.4.5.1 Osteoblastos e osteócitos

As células ósseas são reguladas através de sinalizações promovidas por meio da liberação de ligantes extracelulares e a consequente ativação dos seus receptores. Nesse contexto, após uma sinalização nos receptores transmembranares, ocorre uma cascata de

sinalização intracelular, o que leva à translocação do núcleo por moléculas citoplasmáticas para promover a expressão gênica adequada (BELLIDO, 2014).

A sinalização induzida por Wnt, molécula de sinalização extracelular, pode ativar famílias de receptores transmembranares (PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019; SCHULTE, 2015). A OPG, que neutraliza o RANKL e os seus efeitos de diferenciação dos osteoclastos, é um dos genes-alvo dessa via de sinalização, após ativação do Wnt16 (HAN et al., 2018b; PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019). Para contrabalancear a sinalização conduzida pela Wnt, há moléculas que inibem a diferenciação e função dos osteoblastos e, consequentemente, promovem redução da massa óssea (PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019).

Os fatores de crescimento semelhante à insulina I e II induzem a proliferação e diferenciação dos osteoblastos, bem como recrutam seus precursores para a superfície recém-erodida pelos osteoclastos (YAKAR et al., 2018). Outra molécula de sinalização é o peptídeo relacionado ao hormônio da paratireoide, que regula a apoptose e a proliferação osteoblástica (PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019).

Além do FGF 23 já citado, há também o FGF 2 e 18, que promovem diferenciação celular e o FGF21, que diminui a superfície de contato dessas células e reduz a massa óssea (CHAROENPHANDHU et al., 2017; PLOTKIN; BRUZZANITI, 2019).

2.4.5.2 Osteoclastos

Assim como as outras células, os osteoclastos possuem uma rede molecular de sinalizações que controlam a sua expressão gênica em resposta a sinalizações externas. A sinalização do receptor RANK através do seu ligante RANKL, produzido por osteoblastos e osteócitos, promove efeitos pró-osteoclastos. Assim, ocorre formação, fusão, ativação e sobrevivência dessas células. Em contrapartida, a OPG inibe a diferenciação dos precursores dos osteoblastos (HAN et al., 2018).

A esclerostina, expressa pelos osteócitos, é capaz de inibir a atividade dos osteoblastos e de estimular a osteoclastogênese de maneira dependente do RANKL (HAN et al., 2018b). Ela também promove a osteólise osteocítica, processo no qual os osteócitos liberam enzimas, como anidrase carbônica 2, catepsina K e a expressão da fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), cuja suprarregulação implica reabsorção óssea (KOGAWA et al., 2013).

Uma forma de avaliar a renovação óssea é através de marcadores de formação e de reabsorção óssea. Os mais comumente utilizados são o pro-peptídeo de extensão de colágeno

tipo I N-terminal (PINP), a fosfatase alcalina óssea e a osteocalcina para avaliar a formação óssea. Já para avaliar a reabsorção óssea, os mais usados são o telopeptídeo C-terminal de colágeno tipo I (CTX), telopeptídeo N-terminal I colágeno (NTX) e o TRAP5b. O CTX, apesar de variar durante o dia, é um bom marcador e reflete a ação osteoclástica (LORENTZON et al., 2019).

2.4.6 Paratormônio

O PTH, que é fundamental para a manutenção da homeostase do cálcio e do fósforo, atua no osso através de inúmeros mecanismos para exercer profunda influência em seu metabolismo (SILVA; BILEZIKIAN, 2015). Um dos mecanismos que esse hormônio consegue controlar os níveis séricos de cálcio é através de estímulo direto em seus receptores nos osteócitos e osteoblastos e, de maneira indireta, nos osteoclastos, através da sinalização imposta pelas duas primeiras células, já que esta última não apresenta esses receptores (SILVA; BILEZIKIAN, 2015; WEIN; KRONENBERG, 2018). Nesse cenário, assim como o PTH pode induzir a reabsorção óssea, ele também pode induzir a sua formação. O resultado final dependerá da dose e da periodicidade do sinal. Logo, baixas doses em intervalos intermitentes promovem anabolismo, enquanto a exposição contínua promove efeitos catabólicos, como é o caso do hiperparatireoidismo primário. Estudos mostram que, mesmo em indivíduos assintomáticos com hiperparatireoidismo primário, tanto o osso trabecular quanto o cortical são afetados (SILVERBERG et al., 2014).

2.4.7 Vitamina D

A vitamina D [25 (OH)D] tem ação controversa no metabolismo ósseo. Existem inúmeras teorias que tentam justificar como ela atua, porém os estudos *in vitro* são divergentes do *in vivo*. *In vitro*, ela estimula a formação de osteoclastos e isso justificaria o aumento da reabsorção óssea. Entretanto, *in vivo*, quando é feita a suplementação dessa vitamina, ocorre elevação da densidade mineral óssea (DMO) (TAKAHASHI; UDAGAWA; SUDA, 2014).

Todos os estudos *in vivo* apresentam teorias convergentes. Eles apontam supressão final da atividade do RANKL. Alguns apontam que há influência nos progenitores osteoblásticos com supressão da expressão dessa molécula (TAKAHASHI; UDAGAWA; SUDA, 2014). Outros destacam que a exposição de longo prazo pode influenciar no controle endócrino do cálcio, que suprime a expressão do RANKL em osteoblastos (LIEBEN et al.,

2012). Estudos adicionais, portanto, são necessários para comprovar a real atividade da vitamina D e como ela aumenta a DMO.

2.5 IMPACTO DA ANEMIA FALCIFORME NO METABOLISMO ÓSSEO

O impacto da AF na DMO é consequência de um compilado de alterações metabólicas. Essa perda óssea ocorre independente dos fatores de risco típicos da população, como idade, sexo e menopausa, mas por hiperplasia compensatória da medula, vaso-oclusão, deficiência de vitamina D, elevados níveis de citocinas inflamatórias que levam ao desequilíbrio RANK/RANKL/OPG, entre outros (GIORDANO et al., 2021) (Figura 5).



Figura 5: Fatores que influenciam a redução da densidade mineral óssea na anemia falciforme. Adaptado de Giordano et al (2021).

Alguns estudos relatam prevalência de até 72% de baixa DMO em adultos jovens com AF (BALDANZI et al., 2011; GARADAH et al., 2015; MILLER et al., 2006). A redução da massa óssea costuma ser assintomática, todavia está associada ao risco aumentado de fraturas, ao colapso vertebral e à deformidade óssea. A consequência de todas essas alterações é a intensa dor óssea e necessidade de analgesia por longo tempo, suporte mecânico e intervenções cirúrgicas (GARADAH et al., 2015; GIORDANO et al., 2021). Fenotipicamente, as alterações observadas no osso de indivíduos com AF são semelhantes às do osso

osteoporótico. É por esse motivo que se convencionou em utilizar a densitometria óssea através da absorção de raios-X de dupla energia (DEXA) como método para análise da DMO em indivíduos com AF (MILLER et al., 2006).

Além da falcização dos eritrócitos dentro da microvasculatura, mecanismo básico que leva ao fenômeno da vaso-oclusão, outros fatores contribuem para a semelhança do osso falciforme ao osso osteoporótico. A vaso-oclusão, *per si*, leva à hipóxia local do tecido ósseo, comprometendo o recrutamento de osteoblastos. Outrossim, leva à ativação do fator induzível por hipóxia, que induz a transcrição de eritropoietina, a qual estimula a ativação dos precursores de osteoclastos e consequente osteoclastogênese, levando à perda óssea (HIRAM-BAB et al., 2015). A anemia crônica e grave leva à hiperplasia compensatória da medula com intenção de intensificar a eritropoiese. Isso resulta na diminuição da rede trabecular e posterior deterioração óssea, levando à redução da massa óssea (BALDANZI et al., 2011).

A vitamina D é vital para a regulação de vários processos fisiológicos, como proliferação celular, diferenciação e apoptose, metabolismo do cálcio e do *turnover* ósseo (HAN et al., 2018). Estudos apontaram alta prevalência de deficiência de vitamina D em indivíduos com DF e que tal alteração está associada ao hiperparatireoidismo secundário, bem como elevação dos marcadores de reabsorção óssea e história de fratura (ARLET et al., 2013; MARTYRES et al., 2016; NOLAN et al., 2015).

Várias características específicas dos indivíduos com AF corroboram e justificam tal status sorológico de vitamina D. São indivíduos que tendem a ter pele escura e menor exposição ao sol, impedindo a síntese de vitamina D a partir da exposição solar, pois possuem menor absorção de radiação ultravioleta B (NOLAN et al., 2015; SAMSON et al., 2018). A taxa metabólica basal dessa população também é elevada, refletindo maiores demandas nutricionais para sustentar a constante produção de eritrócitos e compensar a redução de sua sobrevivência devido à hemólise (GOODMAN et al., 2010). Além disso, eles também têm redução do apetite e diminuição da absorção de micronutrientes por conta de danos inflamatórios à mucosa intestinal (SAMSON et al., 2018). Também há elevada prevalência de disfunção renal, que pode impedir a conversão da vitamina D em sua forma ativa (NOLAN et al., 2015).

A sobrecarga de ferro, decorrente dos regimes de hemotransfusão, pode contribuir para a redução da massa óssea (GIORDANO et al., 2021). A deposição desse metal na medula óssea leva a um processo de inflamação crônica e ao desequilíbrio da atividade dos osteoclastos e osteoblastos, com intensa atividade do primeiro e redução da atividade do segundo, gerando

anormalidades ósseas. A hemossiderose, caracterizada pelo acúmulo excessivo de ferro nos tecidos, também interfere indiretamente no metabolismo ósseo. Isso acontece porque esta acomete os órgãos sexuais, gerando hipogonadismo, com consequente redução dos esteroides sexuais, os quais também atuam no controle da DMO (BALLAS et al., 2012). O estrogênio, por exemplo, interage com o sistema RANK/RANKL/OPG e diminui a reabsorção óssea (NOH; YANG; JUNG, 2020).

Os osteoclastos e as células imunológicas são muito semelhantes, pois possuem os mesmos progenitores na medula óssea, portanto compartilham receptores comuns para a sinalização intercelular. Osteoclastos e macrófagos têm a mesma origem e, por isso, algumas citocinas, que são responsáveis por mediar reações imunológicas, são capazes de atuar nas células responsáveis pela remodelação óssea e acelerar esse processo (ZUPAN; JERAS; MARC, 2013). Como o processo é regulado local e sistemicamente, percebeu-se que citocinas inflamatórias, como a IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-11, IL-17 e TNF- α , as quais também estão elevadas na AF, têm efeito significativo na remodelação óssea, conduzindo o sistema principalmente na direção da reabsorção pelas suas ações osteoclastogênicas (AL-DAGHRI et al., 2014; EPSLEY et al., 2021; LORENTZON et al., 2019) (Figura 6).

O TNF- α , assim como a IL-1, são responsáveis por atrair monócitos e por estimular a atividade dos osteoclastos maduros. A IL-1, que por si só já é capaz de induzir a formação de osteoclastos, também induz a síntese de prostaglandina E2, potencializando esse mesmo papel (EPSLEY et al., 2021). Tais citocinas atuam no sistema RANK/RANKL/OPG das seguintes formas: promovem a produção de RANKL através dos precursores de osteoblastos e por osteoblastos maduros; aumentam a expressão de RANK em precursores de osteoclastos, aumentando a sua sensibilidade ao RANK e interrompem a diferenciação de osteoblastos e diminui os níveis de OPG produção (EPSLEY et al., 2021). As outras interleucinas também contribuem para codificar o receptor de calcitonina, β 3 integrina, catepsina K e TRAP (LORENTZON et al., 2019). Todas essas relações moleculares convergem para um contexto de intensa reabsorção óssea (Figura 6).

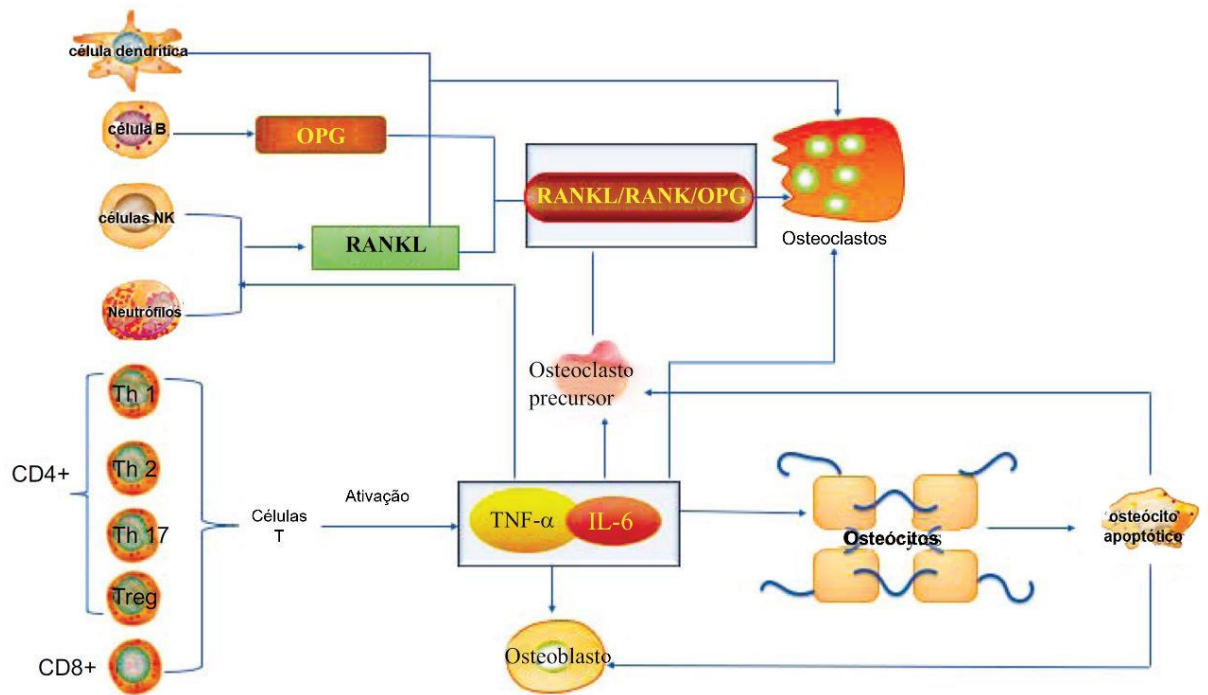


Figura 6: Relação dos marcadores inflamatórios com o metabolismo ósseo. Adaptado de: Wang; He, 2020.

Ao contrário dessas moléculas, existem outras que são capazes de contrabalancear esse processo de intensa reabsorção óssea. IFN- β , IL-4, IL-10, IL-13, IL-18 e IL-33 são chamadas de anti-osteoclastogênicas por terem papel comprovado de sua ação contrária à atividade dos osteoclastos. Elas atuam de maneira diferente, porém com o mesmo propósito: não estimular as células responsáveis pela reabsorção. Sendo assim, estimulam a produção de OPG, reduzem o RANKL, estimulam a apoptose dos osteoclastos, entre outros (LORENTZON et al., 2019; YANG; YANG, 2019).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a relação entre marcadores inflamatórios e alterações osteometabólicas em adultos com AF.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar os níveis séricos de marcadores inflamatórios em indivíduos com AF;
- Comparar os níveis de marcadores inflamatórios em indivíduos com AF aos dos controles com e sem traço falciforme;
- Analisar o efeito do uso de hidroxureia nos marcadores inflamatórios dos pacientes com AF;
- Avaliar perfil clínico e laboratorial relacionado a índices hematimétricos, de hemólise, do metabolismo ósseo e DMO de indivíduos com AF;
- Correlacionar características clínicas, índices hematimétricos, marcadores de hemólise, do metabolismo ósseo e inflamatórios com a DMO dos indivíduos com AF.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 DELINEAMENTO METODOLÓGICO

Trata-se de um estudo transversal, analítico e controlado que envolveu pacientes com AF acompanhados no serviço de Hematologia do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, centro universitário de referência regional em Aracaju, capital de Sergipe, no nordeste do Brasil.

4.2 AMOSTRA

A amostra do estudo foi selecionada por amostragem intencional não probabilística, por conveniência, durante as consultas ambulatoriais de rotina. A população do estudo foi constituída por pacientes com AF (Grupo Hb-SS) com 19 anos ou mais, confirmada por eletroforese de hemoglobina, em condição clínica estável, ou seja, sem quadro álgico ou infeccioso nas quatro semanas antecedentes à coleta sanguínea.

Foram utilizados como critérios de exclusão:

- Gestante ou lactante;
- Hemotransusão no último mês antecedente à coleta;
- Apresentar distúrbio prévio que curse com redução de massa óssea, como hipogonadismo, hiperparatireoidismo (na avaliação osteometabólica)
- Ter patologia crônica, como doenças renal e hepática ou que curse com distúrbio de má absorção;
- Doença autoimune ou de cunho inflamatório, como obesidade ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$);
- Uso de esteroides e/ou anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs) nos últimos sete dias;
- Quadro infeccioso nos últimos 30 dias.

Indivíduos saudáveis, acadêmicos, médicos residentes e colaboradores do hospital pareados para idade e gênero compuseram o grupo controle (Grupo Hb-AA) e foram submetidos à eletroforese de hemoglobina para confirmar ausência de qualquer hemoglobinopatia ou traço falciforme, sendo alocados para um terceiro grupo aqueles em que se verificou a presença do gene S em heterozigose.

O grupo de indivíduos com traço falciforme (Hb-AS) foi composto por pais de crianças com AF acompanhadas no ambulatório, e, em sua menor parte, aqueles que, para compor o grupo controle, descobriu-se ter traço falciforme. Os pais recrutados já haviam sido previamente submetidos à eletroforese de hemoglobina, que confirmava a presença da HbS em heterozigose. Os critérios de exclusão aplicados ao grupo Hb-SS também foram aplicados aos demais grupos.

A coleta de dados ocorreu entre os meses de março de 2019 a julho de 2021, com pausa entre março e novembro de 2020, em virtude da pandemia provocada pelo SARS-CoV-2.

4.3 COLETA DE DADOS

Os participantes inicialmente foram avaliados através de instrumento de coleta estruturado (APÊNDICES A e B), constando os seguintes dados: nome, idade, gênero, patologias crônicas associadas, medicamentos em uso, incluindo, no caso dos pacientes, tempo de uso e dose de hidroxiureia, além de histórico de internação, de hemotransfusão, fratura ou osteonecrose prévias. Em seguida eles foram submetidos à coleta sanguínea para a dosagem de biomarcadores, recordatório alimentar de 24h, questionário para estimar o nível de atividade física (NAF). Os indivíduos dos grupos Hb-SS e Hb-AA submetidos à avaliação da DMO através de densitometria óssea.

4.3.1 Avaliação antropométrica

Todos os pacientes foram inicialmente avaliados quanto aos dados antropométricos (peso e estatura), aferidos através de balança digital (Tanita BF-679®) e estadiômetro vertical (Tonelli®), conforme técnica padronizada. Em seguida, foram calculados seus índices de massa corpórea através da fórmula $IMC = \text{peso}/(\text{altura})^2$, expresso em kg/m^2 (APÊNDICE C).

4.3.2 Avaliação laboratorial

Foi realizada coleta de 15mL de sangue periférico após 12h de jejum. A avaliação dos índices hematimétricos e bioquímicos foi realizada no Laboratório Central do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe. Parte do soro centrifugado foi armazenado em *ependorfs* em temperatura inferior a -70°C até processamento das citocinas inflamatórias

no Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular do Hospital Universitário da mesma instituição.

O hemograma foi medido através de método automatizado. O cálcio sérico e a albumina foram verificados pelo método colorimétrico; o cálcio iônico através de eletrodo seletivo; o magnésio através do clorofozano III; o fósforo e a LDH através do método cinético ultravioleta otimizado; e a fosfatase alcalina pelo método cinético. Para fins de análise laboratorial, os valores de referência utilizados em nosso laboratório foram: cálcio sérico de 8,5 a 10,5mg/dL; cálcio ionizável de 4,6 a 5,4mg/dL; magnésio de 1,7 a 2,5mg/dL; fósforo de 2,5 a 5,6mg/dL; albumina de 3,5 a 4,8g/dL; fosfatase alcalina de 65 a 300U/L.

A 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] e o PTH foram dosados através da quimioluminescência. Foram considerados como desejáveis valores de 25(OH)D acima de 20 ng/mL para o grupo controle e acima de 30 ng/mL para o grupo de pacientes; valores acima de 100 ng/dL foram considerados como risco de toxicidade e hipercalemia²³. O hiperparatireoidismo foi definido em nosso laboratório como uma concentração sérica de PTH > 88 pg/mL. O marcador de reabsorção telopeptídeo C-terminal do colágeno (CTX) foi dosado através de eletroquimioluminescência. Para fins de análise, foram considerados normais quando o nível sérico era inferior a 0,58 ng/mL em homens e inferior a 0,57 ng/mL em mulheres.

Os marcadores inflamatórios interleucinas 1 β , 6, 8, 10 e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) foram quantificados por meio de técnica Luminex 200, usando os kits comerciais Human custom ProcartaPlex 5-Plex de acordo com as instruções e protocolo do fabricante e expresso em pg/mL. A aquisição de dados com os níveis das moléculas foi feita através do software MILLIPLEX® Analyst 5.1. A determinação das concentrações de TREM-1 solúvel (sTREM-1) foi realizada por um kit específico de ensaio imunoenzimático (ELISA) (DuoSet-Human TREM-1, R&D Systems, Minneapolis, USA) conforme protocolo recomendado pelo fabricante no Laboratório de Biologia e Imunologia do Câncer e Leishmania da Universidade Federal de Sergipe.

4.3.3 Avaliação densitométrica

A avaliação da densidade mineral óssea (DMO) foi realizada através da densitometria óssea de coluna lombar (L1-L4), colo do fêmur e fêmur total direito, através da absorciometria de raios-X de dupla energia (DEXA) pelo densitômetro *Hologic Horizon®* no Centro de Imagem do hospital em questão. Em pacientes com história de osteonecrose ou

prótese, o quadril contralateral foi avaliado. No caso daqueles com alguma vértebra afetada por alteração estrutural, foram avaliadas apenas três delas. Os participantes que tiveram escores $Z \leq -2$ desvios-padrão foram classificados como baixa DMO para idade, conforme decisão oficial de 2019 da Sociedade Internacional para Densitometria Clínica (ISCD)⁵⁰.

4.3.4 Avaliação do nível de atividade física

Para análise do NAF, foi utilizado o *International Physical Activity Questionnaire* (IPAQ) – versão curta (ANEXO A). Os indivíduos foram categorizados em grupos:

- Baixo NAF, aquele que realiza menos que 150 minutos de atividade física por semana.
- Ativo: aquele que realiza 150 minutos ou mais de atividade física por semana.

4.3.5 Avaliação nutricional

A ingestão diária de cálcio foi calculada através da análise de recordatório alimentar de 24h aplicado por nutricionista (APÊNDICE D). A recomendação nutricional proposta para ingestão diária desse mineral para indivíduos saudáveis, de 19 a 50 anos, é de 1000mg, tanto para homens quanto para mulheres (IOM, 2011). Portanto, o valor mínimo considerado adequado foi este valor para ambos os grupos pelo fato de não existirem recomendações específicas para pessoas com AF.

4.4 ANÁLISE DE DADOS

A análise de normalidade dos dados relacionados aos marcadores inflamatórios foi realizada por meio do teste D'Agostino-Pearson. Para comparações de variação entre os grupos, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn para diferenças específicas entre os grupos. GraphPad Prism 8.0 foi usado para avaliar os valores de citocinas. Para análise da densidade mineral óssea e demais variáveis clínicas e laboratoriais, a comparação entre os grupos Hb-SS e Hb-AA foi feita pelo teste T para amostras independentes. A correlação entre a DMO e demais variáveis foi averiguada a partir do coeficiente de correlação de Pearson. Foi utilizado o software Jamovi for Windows, versão 2.0.0 para essas análises. As diferenças foram consideradas significativas se $p < 0,05$.

Para a verificação das relações e influências das variáveis identificadas no modelo e a DMO na coluna lombar, foi utilizada a regressão linear múltipla, pelo método Stepwise, para a verificação das variáveis que isoladamente, ou em conjuntos, explicam a DMO na coluna

lombar. Foi utilizado o Software SPSS for Windows versão 25.0 para esta análise, com nível de significância de 5%.

4.5 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal de Sergipe (CEP HU/UFS), através do parecer número 2.897.835, visando atender às recomendações da resolução número 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Participaram do estudo os indivíduos que manifestaram sua anuência através da apreciação e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE E).

5 RESULTADOS

Foram avaliados 55 pacientes do grupo Hb-SS, com média de idade de 26,5 ($\pm$ 5,2) anos, sendo 29 mulheres (52,7%). O grupo Hb-AS foi composto por 46 indivíduos com média de idade de 33,1 ($\pm$ 6,9) anos, sendo 32 (69,6%) mulheres e o grupo Hb-AA foi composto por 60 indivíduos previamente hígidos, com idade média de 28 ($\pm$ 4,9) anos, sendo 31 mulheres (51,6%). Dos 55 pacientes, 32 (58,2%) utilizavam a hidroxiureia regularmente, conforme prescrição médica, 9 (16,4%) utilizavam de forma irregular, ou seja, de forma não contínua por exemplo, e 14 (25,4%) não a utilizavam, pois não tinham indicação clínica para tal. Em relação aos índices antropométricos, grupo Hb-SS apresentou peso, altura e IMC menores que os grupos Hb-AS e Hb-AA (Tabela 1).

Tabela 1: Dados clínicos e demográficos de adultos com anemia falciforme, traço falciforme e controles

Variável	Grupo Hb-SS		Grupo Hb-AS		Grupo Hb-AA	
	N (%)	Média (DP)	N (%)	Média (DP)	N (%)	Média (DP)
Sexo						
Feminino	29 (52,7)		32 (69,6)		30 (50,0)	
Idade		26,5 (5,2) [°]		33,1 (6,9)		28 (4,9) [°]
Peso (Kg)		56,6 (8,2)*, °		66,3 (9,9)		68,9 (11,8)
Altura (cm)		164,4 (8,0)*		164,9 (8,0)*		169,0 (8,8)
IMC (kg/m ²)		20,8 (2,5)*, °		24,4 (3,3)		23,9 (2,7)
Uso da hidroxiureia						
Regular	32 (58,2)					
Irregular	9 (16,4)					
Sem indicação	14 (25,4)					

IMC: índice de massa corpórea; Hb: hemoglobina; DP: desvio-padrão; * Diferente do grupo Hb-AA; ° Diferente do grupo Hb-AS

Foram observadas diferenças entre os três grupos quanto à maioria dos marcadores inflamatórios, exceto para sTREM-1. Os níveis de LDH (Figura 7A), IL-1 β (Figura 7B), IL-6 (Figura 7C), IL-10 (Figura 7E) e TNF- α (Figura 7F) foram maiores no grupo Hb-SS do que no outros. O grupo Hb-SS apresentou níveis de IL-8 mais baixos do que o grupo Hb-AS (Figura 7D). Comparando os grupos Hb-AA e Hb-AS, este último apresentou níveis mais baixos de LDH e IL-1 β (Figura 7A e 7B).

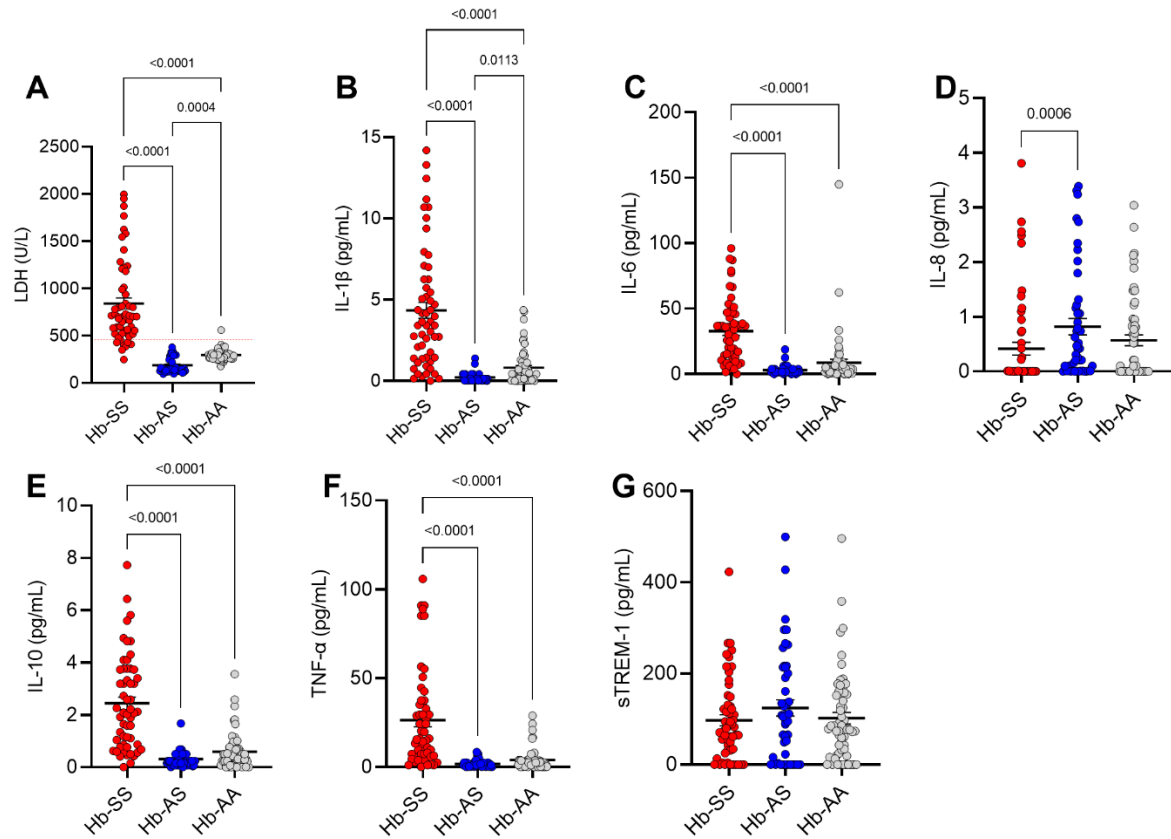


Figura 7: Níveis séricos dos marcadores inflamatórios LDH (7A), IL-1 β (7B), IL-6 (7C), IL-8 (7D), IL-10 (7E), TNF- α (7F) e sTREM-1 (7G) nos grupos Hb-SS (vermelho), Hb-AS (azul) e Hb-AA (cinza). Os pontos representam cada paciente incluído na análise e as linhas representam a média mais o erro padrão da média. As diferenças foram avaliadas usando o pós-teste de Kruskal-Wallis e Dunn.

A fim de estimar quantitativamente a relação entre os níveis das citocinas pró-inflamatórias e da moduladora e verificar um possível perfil de supressão, foram avaliadas as razões de citocinas e sTREM-1 para IL-10 dos três grupos. Observou-se manutenção do padrão anterior de citocinas IL-1 β (Figura 8A), IL-6 (Figura 8B) e TNF- α (Figura 8C). Quanto à relação IL-8/IL-10, houve média menor no grupo Hb-SS do que nos demais e maior no grupo Hb-AS do que no Hb-AA (Figura 8D). A relação sTREM-1/IL-10 foi menor no grupo Hb-SS (Figura 8E).

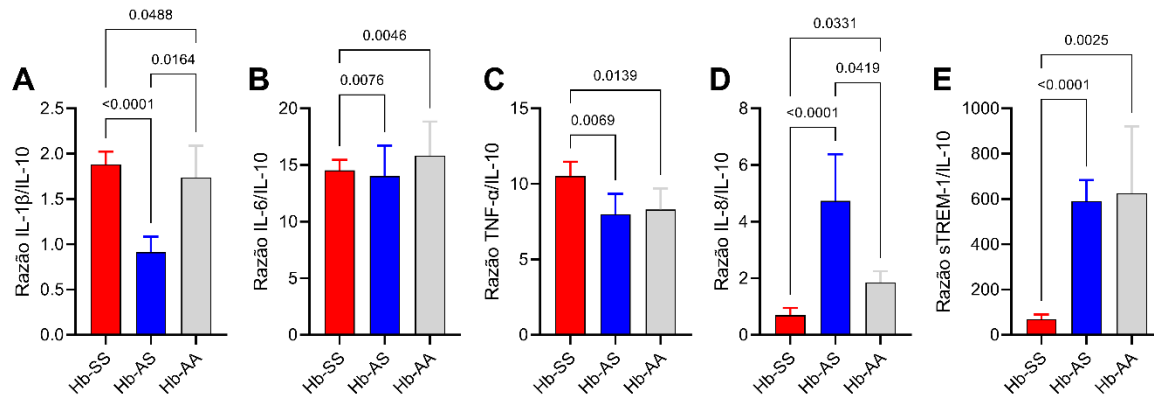


Figura 8. Níveis séricos das razões citocinas inflamatórias/IL-10 IL-1 β /IL-10 (2A), IL-6/IL-10 (2B), TNF- α /IL-10 (2C), IL-8/ IL-10 (2D), sTREM-1/IL-10 (2E) nos grupos Hb-SS (vermelho), Hb-AS (azul) e Hb-AA (cinza). As barras e as linhas superiores representam a média mais o erro padrão da média. As diferenças foram testadas usando os testes de Kruskal-Wallis e Dunn.

A partir da análise dos três grupos, foi verificada a influência da HU nos níveis dos marcadores inflamatórios dentro do grupo Hb-SS de acordo com seu uso. Somente se observou diferença entre os grupos quanto à LDH, cujos níveis foram maiores no grupo com uso irregular da HU (N=9) em comparação ao grupo que a utilizava regularmente (N=32). Não houve diferença do LDH entre os grupos com terapia regular e sem indicação de terapia com HU (N=14) (Figura 9A).

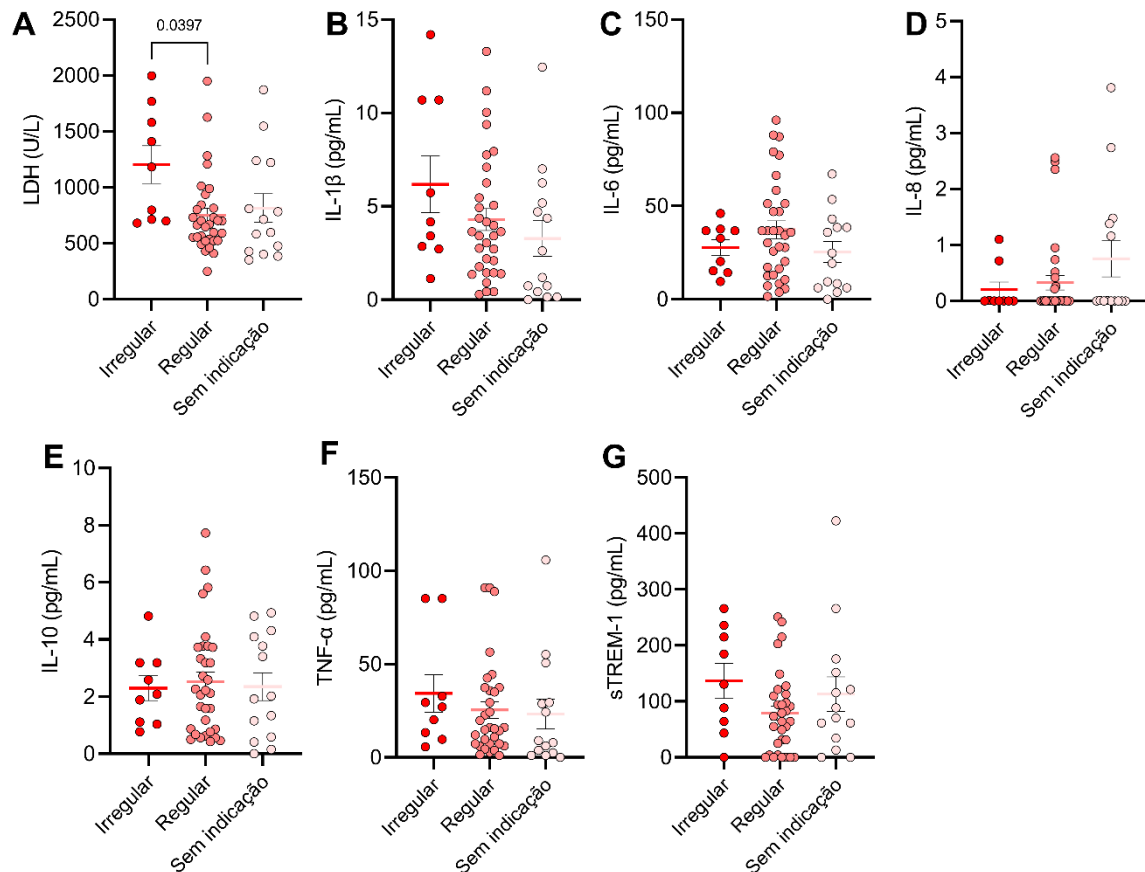


Figura 9: Níveis séricos dos marcadores inflamatórios LDH (9A), IL-1 β (9B), IL-6 (9C), IL-8 (9D), IL-10 (9E), TNF- α (9F) no grupo Hb-SS de acordo com o uso de hidroxiureia. Os pontos representam cada paciente incluído na análise. As diferenças foram avaliadas usando o pós-teste de Kruskal-Wallis e Dunn.

A partir da evidência de que o grupo Hb-AS não possuía um perfil inflamatório intermediário entre os indivíduos Hb-SS e Hb-A, seguiu-se na verificação da prevalência de baixa massa óssea dos adultos com AF e na influência dos marcadores inflamatórios nessa densidade mineral óssea. Nesta etapa, foi excluído um indivíduo de cada grupo, por alteração laboratorial que indicava investigação para causa secundária de massa óssea alterada, totalizando 54 indivíduos Hb-SS e 59 Hb-AA. Todos os participantes apresentavam estágio puberal compatível com fase adulta e não apresentavam hipogonadismo.

Quanto à avaliação nutricional, embora não se tenha verificado diferença da ingestão de cálcio entre os grupos, observou-se que ambos os grupos apresentavam uma ingestão de cálcio diária menor que a preconizada pela DRI. Na avaliação do NAF, ao considerar o total em minutos de atividade física na semana, não se observou diferença entre os grupos e predominaram, em ambos, indivíduos ativos (61,12% do grupo Hb-SS e 74,58% do

grupo Hb-AA), com maior proporção de indivíduos com baixo NAF no grupo Hb-SS (Tabela 2). A média da idade da menarca das mulheres Hb-SS foi menor que as Hb-AA ($p < 0,001$), sendo as médias $\pm$ desvio padrão, respectivamente, 14,78 ($\pm 2,03$) anos e 12,07 ($\pm 1,56$) anos.

Tabela 2: Características clínicas de adultos com anemia falciforme e seus controles

Variável	Grupo Hb-SS	Grupo Hb-AA	p
	Média (DP)	Média (DP)	
Idade	26,57 (5,21)	28,03 (4,99)	0,131
Ingestão de cálcio (mg)	600,02 (504,64)	496,44 (293,10)	0,182
NAF (min/semana)	629,57 (762,50)	580,90 (518,26)	0,690

* - $p < 0,05$; NAF: nível de atividade física

Na avaliação dos índices hematimétricos e marcadores de hemólise, observou-se diferença significativa em todos os índices entre os grupos (Tabela 3).

Tabela 3: Índices hematimétricos e marcadores de hemólise de adultos com anemia falciforme e seus controles

Variável	Grupo Hb-SS	Grupo Hb-AA	p
	Média (DP)	Média (DP)	
Hemoglobina (g/dL)	8,98 (1,44)	14,50 (1,56)	<0,001*
Hematrócito (%)	26,27 (4,28)	43,90 (4,39)	<0,001*
Reticulócitos (%)	11,57 (5,18)	1,39 (0,38)	<0,001*
Leucócitos (mm ³)	10406(4286)	6440 (1605)	<0,001*
Plaquetas (/uL)	387235 (143520)	236652 (60700)	<0,001*
Bilirrubina indireta (mg/dL)	2,62 (2,26)	0,55 (0,25)	<0,001*
LDH (u/L)	894,04 (437,47)	295,45 (56,61)	<0,001*
Ferritina (ng/mL)	610,63 (877,39)	121,02 (112,55)	<0,001*

* - $p < 0,05$; LDH: desidrogenase láctica

Quanto ao metabolismo ósseo, os indivíduos Hb-SS apresentaram maiores níveis de fósforo, fosfatase alcalina e CTX que os Hb-AA. Com relação ao nível de 25(OH)D, não se observou diferença entre os grupos (Tabela 4). Dentro do grupo Hb-SS, 42,6% (23) tinham insuficiência e 7,4% (4) deficiência de vitamina D, enquanto do grupo Hb-AA, 8,5 % (5) apresentaram insuficiência de vitamina D.

Tabela 4: Variáveis relacionadas ao metabolismo ósseo de adultos com anemia falciforme e seus controles

Variável	Grupo Hb-SS	Grupo Hb-AA	p
	Média (DP)	Média (DP)	
Cálcio (mg/dL)	9,56 (0,53)	9,71 (0,47)	0,104
Cálcio iônico (mg/dL)	4,47 (0,87)	4,79 (0,22)	0,007*
Fósforo (mg/dL)	4,20 (0,67)	3,82 (0,48)	<0,001*
Magnésio (mg/dL)	2,25 (0,16)	2,25 (0,14)	0,942
Albumina (g/L)	4,37 (0,56)	4,40 (0,21)	0,658
Fosfatase alcalina (u/L)	268,47 (184,90)	183,83 (45,17)	<0,001*
Paratormônio (pg/mL)	40,27 (22,43)	43,11 (19,18)	0,472
CTX (ng/mL)	0,60 (0,35)	0,47 (0,22)	0,021*
25(OH)D (ng/mL)	31,46 (9,66)	29,09 (7,89)	0,156

* - p < 0,05; CTX: telopeptídeo C-terminal de colágeno tipo I; 25(OH)D: vitamina D

Ao comparar a DMO entre os dois grupos, evidenciou-se menor média da DMO em coluna lombar no grupo Hb-SS, sem diferença nos demais sítios (TABELA 5). Na análise da massa óssea, verificou-se maior prevalência de baixa massa óssea para a idade nos indivíduos Hb-SS, 57,41% (31/54) em relação aos Hb-AA, 21,05% (12/57).

Tabela 5: Densidade mineral óssea de adultos com anemia falciforme e seus controles

DMO (g/cm ²)	Grupo Hb-SS	Grupo Hb-AA	p
	Média (DP)	Média (DP)	
Coluna lombar	0,904 (0,22)	1,010 (0,12)	0,002*
Colo do fêmur	0,809 (0,17)	0,838 (0,12)	0,299
Fêmur total	0,894 (0,17)	0,925 (0,11)	0,280

* - p < 0,05; DMO: densidade mineral óssea

Avaliando-se a DMO em relação ao sexo, identificou-se que as mulheres Hb-SS tinham menor DMO que as mulheres Hb-AA somente na coluna lombar (Tabela 6).

Tabela 6: Densidade mineral óssea de adultos com anemia falciforme comparados a seus controles saudáveis em relação ao sexo

Sexo	DMO (g/cm ²)	Grupo Hb-SS	Grupo Hb-AA	p
		Média (DP)	Média (DP)	
Masculino	Coluna lombar (g/cm ²)	0,900 (0,21)	0,996 (0,13)	0,051
	Colo do fêmur (g/cm ²)	0,869 (0,19)	0,874 (0,13)	0,912
	Fêmur total (g/cm ²)	0,929 (0,19)	0,959 (0,12)	0,489
Feminino	Coluna lombar (g/cm ²)	0,907 (0,23)	1,023 (0,02)	0,017*
	Colo do fêmur (g/cm ²)	0,758 (0,13)	0,803 (0,11)	0,148
	Fêmur total (g/cm ²)	0,865 (0,15)	0,91 (0,10)	0,438

* - p < 0,05; DMO: densidade mineral óssea

Não se observou diferença quanto à DMO na coluna lombar (DMOCL) dentro do grupo Hb-SS de acordo com uso da HU. Não se observou correlação entre DMOCL e variáveis clínicas no grupo Hb-SS. Observou-se correlação positiva com hemoglobina (Figura 10A) e hematócrito (Figura 10B) e negativa com contagem de leucócitos (Figura 10C) e fósforo sérico (Figura 10D).

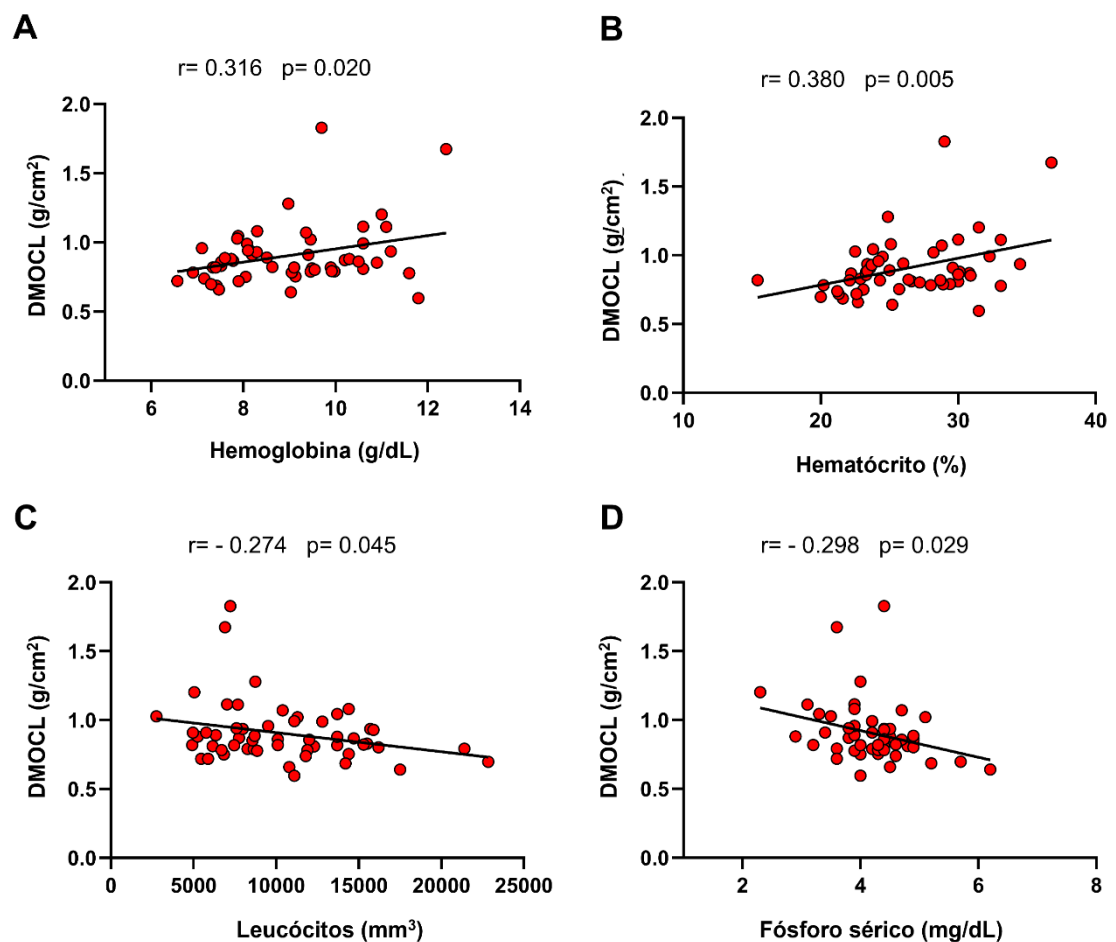


FIGURA 10: Correlação dos índices hematimétricos e do metabolismo ósseo com a densidade mineral óssea na coluna lombar (DMOCL) de adultos Hb-SS. Análises de correlação de Pearson entre DMOCL versus A) hemoglobina, B) hematócrito, C) leucócitos e D) fósforo sérico.

* r- coeficiente de correlação de Pearson; * $p < 0,05$.

Ao se avaliar a relação dos marcadores inflamatórios com a DMOCL dentro do grupo Hb-SS, não se observou correlação entre eles (Tabela 7).

Tabela 7: Correlação de marcadores inflamatórios com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme

Marcador Inflamatório	Grupo Hb-SS	
	Coluna lombar (g/cm ²)	
	r**	p
LDH (u/L)	-0,204	0,139
IL-1 β (pg/mL)	0,007	0,962
IL-6 (pg/mL)	-0,117	0,401
IL-8 (pg/mL)	0,121	0,382
TNF- α (pg/mL)	0,019	0,890
IL-10 (pg/mL)	-0,111	0,423
sTREM-1 (pg/mL)	-0,100	0,473

* - $p < 0,05$; **r - coeficiente de correlação de Pearson; LDH: desidrogenase láctica; IL: interleucina; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; sTREM-1: forma solúvel do TREM-1

Ao se verificar, através de regressão linear múltipla, pelo método Stepwise, a relação e influência das variáveis relacionadas às características clínicas, hematimétricas, relacionadas à hemólise, ao metabolismo ósseo e à inflamação, identificadas no modelo, com a DMOCL dos indivíduos Hb-SS, observou-se que somente o hematócrito e os reticulócitos apresentaram relação direta com a DMO (Tabela 8).

Tabela 8: Regressão linear múltipla de variáveis clínicas e laboratoriais com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme

Grupo	Modelo	Coeficiente padronizado		
		β	t	p
Hb-SS	1 (Constante)		1,316	0,195
	Hematócrito	0,401	2,805	0,008*
	2 (Constante)		2,089	0,043
	Hematócrito	0,372	2,697	0,010*
	Reticulócitos	-0,292	-2,113	0,041*

β : coeficiente padronizado; t: Teste t; * $p < 0,05$

No modelo de análise por grupos conceituais, ou seja, variáveis clínicas, relacionadas aos índices hematimétricos, marcadores de hemólise, variáveis relacionadas ao metabolismo ósseo e marcadores inflamatórios, identificou-se somente relação direta do hematócrito (Tabela 9) e negativa do fósforo (Tabela 10) com a DMOCL.

Tabela 9: Regressão linear múltipla de índices hematimétricos e marcadores de hemólise com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme

Grupo	Modelo	Coeficiente padronizado		
		β	t	p
Hb-SS	1 (Constante)		1,694	0,097
	Hematócrito	0,384	2,851	0,006*

β : coeficiente padronizado; t: Teste t; *p<0.05

Tabela 10: Regressão linear múltipla de variáveis relacionados ao metabolismo ósseo com a densidade mineral óssea da coluna lombar de adultos com anemia falciforme

Grupo	Modelo	Coeficiente padronizado		
		β	t	p
Hb-SS	1 (Constante)		6,903	<,001
	Fósforo sérico	-0,299	-2,169	0,035*

β : coeficiente padronizado; t: Teste t; *p<0.05

6 DISCUSSÃO

Esse estudo teve como propósito investigar a relação entre marcadores inflamatórios e alterações osteometabólicas em adultos com AF. Sabe-se que a expectativa de vida na AF aumentou nas últimas décadas e que a inflamação faz parte da sua fisiopatologia, assim como está envolvida no processo de remodelação óssea, porém, não foi identificado estudo prévio que avaliou a relação entre marcadores inflamatórios e DMO em adultos com AF.

Inicialmente foram avaliados níveis de biomarcadores inflamatórios em grupos de adultos Hb-SS e controles tanto Hb-AS quanto Hb-AA, comparação não realizada previamente na literatura. Embora se saiba que diversos biomarcadores inflamatórios estão envolvidos na fisiopatologia da AF, seus níveis em indivíduos com traço falciforme, os quais são candidatos a doadores de medula óssea de parentes com AF, é algo que ainda não foi elucidado.

No presente estudo, o grupo Hb-SS apresentou índices antropométricos menores que os demais. Coorte prévia do nosso grupo de pesquisa evidenciou que, apesar de os pacientes com AF apresentarem comprometimento do desenvolvimento puberal e do crescimento em comparação a controles saudáveis, alcançam, ainda que tardiamente, uma estatura compatível com a deles na idade adulta, o que não aconteceu com o peso e IMC (GOMES et al., 2017).

A avaliação dos marcadores inflamatórios nos grupos estudados mostrou que os indivíduos Hb-SS tinham níveis mais elevados de LHD, um marcador de hemólise, o que reflete a fisiopatologia da doença. Os indivíduos Hb-AS tiveram os menores níveis de LDH dentre todos, o que corrobora a sua condição assintomática, além de afastar a ocorrência de dano tecidual a ela vinculado.

O grupo Hb-SS também apresentou níveis mais elevados das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α e do anti-inflamatório IL-10 do que o grupo Hb-AA, o que é apontado na literatura. Assim como no presente estudo, Qari e colaboradores (2012) observaram que a IL-1 β seguia o mesmo padrão do TNF- α , com níveis mais elevados em indivíduos Hb-SS do que em Hb-AA, bem como em indivíduos Hb-SS estáveis em relação àqueles em crise. A evidência de citocinas pró-inflamatórias mais elevadas em indivíduos Hb-SS estáveis do que naqueles em crise (AWOJODU et al., 2014; PITANGA et al., 2016) corrobora tanto os resultados do presente estudo, que envolveu indivíduos Hb-SS em quadro clínico estável, quanto o fato de a AF ser uma patologia marcada por um perfil de moléculas inflamatórias, independentemente das condições clínicas do indivíduo. O resultado atual

também é apoiado por evidências do papel das células falciformes na manutenção do estado inflamatório na AF (PITANGA et al., 2016), através da produção de micropartículas durante a reticulocitose, que podem induzir a produção de TNF- α , IL-1 β e IL-6 (AWOJODU et al., 2014). O comportamento da IL-1 β no grupo Hb-AS foi semelhante ao da LDH, sendo o menor entre os três grupos. Estudos anteriores não observaram diferenças nos níveis de IL-1 β entre indivíduos Hb-AS e Hb-AA (DIAW M et al., 2015; SKINNER et al., 2018).

O comportamento da IL-6, cujos níveis foram mais elevados no grupo Hb-SS, foi semelhante ao da IL-1 β . Estudos anteriores com adultos Hb-SS já haviam mostrado níveis mais elevados de IL-6 nessa população (ALAGBE et al., 2018; ANN LIEBERT et al., 1995; BANDEIRA et al., 2014; PIERROT-GALLO et al., 2015). IL-6 está fortemente presente em indivíduos Hb-SS em crise vaso-oclusiva (KEIKHAEI et al., 2013; PATHARE et al., 2004; QARI; DIER; MOUSA, 2012). Também é considerada uma miocina anti-inflamatória por sua capacidade de inibir o TNF- α e regular positivamente a citocina anti-inflamatória IL-10 (XING et al., 1998), o que explica seus altos níveis nesses indivíduos em condição estável. Não houve diferença entre os níveis de IL-6 entre os grupos Hb-AS e Hb-AA, achado apoiado pela literatura (SKINNER et al., 2018; TRIPETTE et al., 2010).

Esse estudo detectou níveis mais elevados de TNF- α em indivíduos Hb-SS do que nos outros. A literatura destaca consistentemente os níveis circulantes de TNF- α neste grupo (KEIKHAEI et al., 2013; LANARO et al., 2009; QARI; DIER; MOUSA, 2012). Estudos avaliaram biomarcadores inflamatórios nessa população, tanto em estado estacionário quanto em crise, e em controles saudáveis, e observaram níveis mais elevados de TNF- α em indivíduos Hb-SS em comparação com Hb-AA, assim como em indivíduos Hb-SS em estado estável em relação aos em crise, o que corrobora os achados atuais e a presença de inflamação crônica na AF (QARI; DIER; MOUSA, 2012; SILVA-JUNIOR AL et al., 2021). O TNF- α apresentou comportamento semelhante à IL-6 no grupo Hb-AS, sendo menor que no grupo Hb-SS e comparável ao grupo Hb-AA, conforme demonstrado por estudos anteriores (AUFRADET et al., 2010; SKINNER et al., 2018). Os níveis mais baixos das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α em indivíduos Hb-AS quando comparados aos indivíduos Hb-SS (QARI; DIER; MOUSA, 2012; SILVA-JUNIOR AL et al., 2021), aliados à semelhança de seus níveis com os de indivíduos Hb-AA (QARI; DIER; MOUSA, 2012; SILVA-JUNIOR AL et al., 2021) indicam a ausência de um perfil inflamatório intermediário em indivíduos com traço falciforme.

A IL-8 foi a única que não apresentou diferença entre indivíduos Hb-SS e Hb-AA, o que difere de achados anteriores (ABDUL-HUSSEIN; AL-MAMMORI; HASSAN, 2021;

ALAGBE et al., 2018; QARI; DIER; MOUSA, 2012). Estudo com indivíduos saudáveis mostrou, *in vitro*, inibição da produção de IL-8, induzida pelo heme em culturas pré-estimuladas com IL-27 e IL-37, citocinas anti-inflamatórias (ALAGBE et al., 2018). Embora IL-17 e IL-37 não tenham sido dosadas nesse estudo, seu papel na AF e sua possível influência na produção de IL-8 poderia ser uma provável explicação para encontrar seus níveis reduzidos na amostra estudada. A semelhança dos níveis de IL-8 entre os grupos Hb-AS e Hb-AA condiz com achados da literatura (AUFRADET et al., 2010; SKINNER et al., 2018).

Quanto aos níveis de sTREM-1, não houve diferença entre os grupos. O TREM-1 é uma molécula ligada à resposta inflamatória (ARTS et al., 2013) e apresenta níveis mais elevados em infecções ou patologias inflamatórias não infecciosas (BOMFIM et al., 2017, 2022; DA SILVA-NETO et al., 2021; GÓMEZ-PIÑA et al., 2007; OKU et al., 2013). Estudo prévio de patente que evidenciou sTREM-1 elevado em modelo animal com crise vaso-oclusiva (THARAUX et al., 2021) corrobora os achados do presente estudo. O achado de níveis semelhantes desse marcador entre os grupos avaliados pode ser devido ao fato de os pacientes estarem em estado estacionário, fora de um estado de doença aguda.

Os níveis de IL-10 foram maiores no grupo Hb-SS em relação aos demais, assim como já evidenciado previamente, tanto em indivíduos em crise (QARI; DIER; MOUSA, 2012) quanto em condição estável comparados a controles (MUSA et al., 2010; QARI; DIER; MOUSA, 2012). Embora o padrão de citocinas anti-inflamatórias na AF na literatura seja divergente (LANARO et al., 2009; SARRAY et al., 2015), o achado atual em relação à IL-10 pode ser devido ao fato dessa interleucina ter papel anti-inflamatório e seu aumento pode sugerir um mecanismo compensatório na tentativa de regular negativamente a resposta inflamatória crônica em que vive o indivíduo com AF. Níveis de IL-10 nos indivíduos Hb-AS menores do que nos Hb-SS juntamente com níveis semelhantes no grupo Hb-AA corroboram a ideia de que os indivíduos com traço falciforme não apresentam um estado inflamatório crônico.

Com base nesses resultados, foi realizada uma análise da relação entre citocinas inflamatórias e IL-10 para estimar um perfil de supressão. Observou-se que, nos indivíduos Hb-SS em condição estável, as proporções de IL-1 β , IL-6 e TNF- α seguiram o mesmo padrão dos níveis dessas citocinas nos grupos, apresentando menor influência de IL-10 nessas citocinas, enquanto as razões de IL-8 e sTREM-1, que estão relacionadas, respectivamente, ao recrutamento e ativação de neutrófilos, mostraram um perfil mais suprimido por IL-10. Assim, poderíamos hipotetizar que em indivíduos com Hb-SS em estado estacionário o papel dos

neutrófilos no processo inflamatório crônico seja menos intenso e que esse estado inflamatório seja mediado principalmente por IL-1 β , IL-6 e TNF- α .

Ao se comparar os níveis de marcadores inflamatórios dentre os indivíduos Hb-SS de acordo com uso da HU, houve diferença apenas em relação ao LDH, cujos níveis foram maiores no grupo Hb-SS com uso irregular de HU do que no grupo que a utilizava regularmente. Estudo anterior com indivíduos Hb-SS mostrou níveis mais baixos de LDH naqueles que estavam em terapia com HU em comparação com aqueles que não estavam (MODESTE et al., 2018). A HU induz a síntese de HbF e aumenta o volume das hemácias, reduzindo assim a probabilidade de polimerização da HbS (CARDEN; LITTLE, 2019), o que, consequentemente, reduz a hemólise e níveis de LDH. Embora a terapia com HU relaciona-se à redução da inflamação, há alguns estudos que divergem quanto ao seu uso influenciar ou não os níveis de alguns marcadores inflamatórios (CONNES et al., 2021; GUARDA et al., 2019; LANARO et al., 2009; ZAHRAN et al., 2020). Os dados conflitantes na literatura podem se dever a fatores como dose de HU, tempo de uso e diferentes métodos com sensibilidade variada de detecção dos mediadores inflamatórios. A indicação da terapia com HU segue alguns critérios clínicos e laboratoriais que configuram maior gravidade, e o achado de níveis comparáveis de marcadores, incluindo LDH, entre o grupo em uso regular e o grupo sem indicação de HU mostra seu benefício no tratamento da AF. O fato de as diferenças terem sido detectadas apenas em relação ao LDH entre os grupos de uso regular e irregular de HU e não nos demais marcadores pode ser devido ao fato de o LDH ser um marcador de hemólise e ao tamanho da amostra dos subgrupos.

Após se evidenciar que o grupo Hb-AS não possuía um perfil inflamatório intermediário entre os indivíduos Hb-SS e Hb-AA, seguiu-se a avaliação da DMO dos adultos Hb-SS e a influência de variáveis nesse desfecho. Apesar de a AF ser uma patologia que se caracteriza por processo inflamatório crônico e na qual se evidencia redução de massa óssea, não há na literatura estudos que avaliaram a relação entre marcadores inflamatórios e DMO nessa população. O presente estudo é, portanto, pioneiro nessa investigação.

A ingestão diária de cálcio foi semelhante entre os grupos, ambos abaixo da DRI. Sugere-se que o estado nutricional inadequado de indivíduos com AF pode ser atribuído à perda de apetite devido às manifestações clínicas da doença (PELLS et al., 2005) e limitações socioeconômicas (DA SILVA DE JESUS et al., 2018), o que também pode afetar sua antropometria e saúde óssea.

Apesar de não se ter observado diferença entre os grupos quanto ao NAF, houve maior frequência de NAF baixo no grupo Hb-SS. A mensuração do nível de atividade física nessa população, especialmente em adultos, é ainda pouco explorada. Estudo mostrou menor NAF moderado e vigoroso em crianças com AF em comparação a controles, assim como menor equivalente metabólico e gasto energético total (NIVALDO MELO et al., 2018) . Acredita-se que isso se deva à indisposição, fadiga, complicações ortopédicas (SEGAVA et al., 2013), condições que muitas vezes acometem também adultos com AF.

A diferença entre nos índices hematimétricos e marcadores de hemólise dos grupos reflete a fisiopatologia da doença. Menores níveis de Hb, hematócrito e maiores de reticulócitos, LDH e bilirrubina indireta devem-se à hemólise que ocorre na AF (CARDEN; FASANO; MEIER, 2019; MEINDERTS et al., 2019; MIKOBİ et al., 2015; WONGTONG et al., 2015; ZHANG et al., 2016). A leucocitose decorre do próprio processo inflamatório. A diferença quanto aos níveis de ferritina deve-se às transfusões que costumam ser comuns na terapia da AF. Seu nível se correlaciona com o número de transfusões e o teor de ferro hepático (FELD et al., 2015).

O presente estudo evidenciou menor nível de cálcio iônico e maiores níveis de fósforo sérico, fosfatase alcalina e CTX nos indivíduos com AF. Achados relacionados ao fósforo sérico e fosfatase alcalina também já haviam sido descritos na AF anteriormente (ELSHAL et al., 2012; NOURAIE et al., 2011). Níveis mais elevados de fósforo sérico nesses indivíduos devem-se a um aumento na reabsorção tubular renal de fósforo. Níveis semelhantes de cálcio sérico e 25 (OH) D entre os grupos reafirmam achados anteriores (ADAMS-GRAVES et al., 2014). Níveis mais elevados de fosfatase alcalina e CTX, marcadores de formação e reabsorção óssea, respectivamente, no grupo Hb-SS podem relacionar-se ao maior *turnover* ósseo desses indivíduos (FUNG et al., 2008). Embora o nível de Ca sérico não diferiu entre os grupos, o Ca iônico, a forma livre e biologicamente ativa do cálcio que reflete 50% do cálcio extracelular, foi menor no grupo Hb-SS. Esse achado pode sinalizar uma possível correlação entre essa fração de cálcio e a massa óssea nessa população.

Apesar dos níveis semelhantes de 25(OH)D entre os grupos, houve maior proporção de insuficiência e deficiência de vitamina D em adultos Hb-SS, condições destacadas na literatura (ARLET et al., 2013; NOLAN et al., 2015). Aponta-se esses indivíduos tendem a ter mais fatores de risco para deficiência de vitamina D, como cor de pele mais escura, exposição solar limitada e disfunção renal (HAN et al., 2018) e essa condição pode estar relacionada à

diminuição da DMO e aumento do risco de fratura (ARLET et al., 2013; SADAT-ALI et al., 2011).

O estudo mostrou frequência de baixa massa óssea em adultos com AF de 53,19%. Estudos anteriores avaliaram a DMO de indivíduos com DF e AF e mostraram proporção entre 58% e 86,6% (GARADAH et al., 2015; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). Tais estudos, além de envolverem outras hemoglobinopatias além da AF, avaliaram a DMO com base no T-score e, conseqüentemente, os termos osteopenia e osteoporose foram usados na presença de baixa massa óssea, dependendo do seu grau. O diagnóstico de osteoporose é dado para mulheres na pós-menopausa ou homens com 50 anos ou mais que apresentam pelo menos 2,5 desvios-padrão abaixo do pico de massa óssea (escore $T \leq -2,5$). Quando esse indivíduo apresenta escore T menor ou igual que -1 (≤ -1) e maior que -2,5 ($> -2,5$), ele se enquadra no diagnóstico de osteopenia, preferivelmente denominado baixa massa óssea (NOH; YANG; JUNG, 2020). Para mulheres que estejam no período antes da menopausa e homens com menos de 50 anos, a ISCD recomenda utilizar o escore Z. Esse parâmetro é semelhante ao escore T, porém em vez de comparar a DMO do paciente com a média de adultos jovens do mesmo sexo e etnia, ela é comparada com a média esperada para os pares da mesma faixa etária, mesmo sexo, e etnia. Neste caso, um escore Z menor ou igual que -2 (≤ -2) é classificado como DMO abaixo da faixa esperada para a idade e maior que -2 (> -2), como dentro da faixa esperada para a idade (ISCD, 2019). O presente estudo adotou as recomendações da ISCD, portanto, o Z-escore foi o parâmetro utilizado para classificar a massa óssea em normal ou baixa para a idade, visto que a amostra foi composta por adultos jovens. A utilização de score diferente na avaliação da massa óssea, associado à inclusão de outras hemoglobinopatias em estudos prévios, pode justificar as variações de frequência entre o estudo atual e a literatura.

Houve diferença entre as médias de DMO dos grupos apenas na coluna lombar, sítio esquelético com maior proporção de baixa massa óssea no grupo Hb-SS, achado apontado na literatura (GHALEB et al., 2019; MILLER et al., 2006; SARRAI et al., 2007). O acometimento da DMOCL pode ser explicado pelo fato de a anemia crônica sobrecarregar a medula óssea, com aumento da eritropoiese, levando à sua hiperplasia, destruição e redução da rede óssea trabecular (SARRAI et al., 2007). Na comparação das DMOs entre os grupos, ao se levar em consideração o sexo, as mulheres Hb-SS apresentarem menor DMOCL que as do grupo Hb-AA em coluna lombar, o que pode ser dever ao atraso puberal que apresentaram, com menor pico de massa óssea, hipótese corroborada por estudo prévio (CHAPELON et al., 2009).

A correlação positiva da hemoglobina e do hematócrito com a DMOCL sustenta achados prévios (KHARROUBI et al., 2020) e corrobora a teoria de que quanto mais intensa a anemia, mais hiperplasia medular e menor rede óssea. A correlação negativa da DMOCL com os leucócitos também corrobora a ideia de que, quanto maior a atividade da AF, menor a massa óssea. A correlação negativa do fósforo e a ausência de correlação do cálcio sérico e CTX com a DMOCL assemelham-se a estudo prévio (ELSHAL et al., 2012).

Nesse estudo não se observou correlação entre a DMO de adultos Hb-SS e marcadores inflamatórios, embora a literatura aponte o papel dos marcadores inflamatórios, elevados no grupo Hb-SS estudado, na remodelação óssea, com a ação osteoclastogênica das citocinas pró-inflamatórias IL-1, IL-6 e TNF α e anti-osteoclastogênica da IL-10, citocina anti-inflamatória (MCLEAN, 2009). Estudo mostrou que marcadores de remodelação óssea estão elevados na DF, como a fosfatase ácida tartarato-resistente, enzima produzida especificamente pelos osteoclastos, cujos níveis associaram-se às concentrações de IL-6 (NOURAIE et al., 2011). Tal achado sinalizou um possível papel da IL-6 no processo de reabsorção óssea, através da indução do RANKL (STEEVE et al., 2004).

A relação entre hematócrito e reticulócitos e DMOCL no grupo Hb-SS encontrada na análise de regressão linear múltipla reforça a influência direta da anemia hemolítica em sua massa óssea, devido à hiperplasia medular, decorrente do aumento da eritropoiese, com consequente redução da rede óssea. O achado da influência negativa do fósforo na DMO pode remeter ao hipercatabolismo presente na AF, sugerindo, também, a ideia de que a redução da DMO esteja ligada à maior atividade da doença.

Como a amostra avaliada faz parte de um grupo de pacientes acompanhados em serviço de referência em hematologia no Estado de Sergipe, o fato de esses pacientes serem bem assistidos, de a maioria que tem indicação da terapêutica com HU fazer uso regular da medicação, pode ter sido algo que influenciou resultados encontrados nesses adultos em período estacionário da AF.

Esse estudo contou com algumas limitações. Foi um estudo unicêntrico, que envolveu uma amostra de conveniência de pacientes, que na maior parte residem em outros municípios e apresentam com dificuldades socioeconômicas, que muitas vezes os impossibilitavam de comparecer às consultas ambulatoriais de rotina; houve falta de insumos para dosagens de exames, principalmente hormonais, o que gerou uma demanda de processamento do material coletado para laboratório terceirizado; as dificuldades da coleta, desde espaço físico até liberação para funcionário para coleta e liberação para cadastramento e

coleta de exames que se relacionavam à pesquisa num fluxo direcionado e, por fim, a pandemia do SARS-CoV-2, a qual gerou suspensão da coleta de dados por um longo período de nove meses.

7 CONCLUSÃO

A evidência não confirmada, na amostra estudada, de um perfil inflamatório intermediário do grupo Hb-AS em relação aos demais aponta para a inexistência de condição inflamatória crônica nestes indivíduos. Tal fato configura um ponto positivo quanto à terapêutica da AF, pois, o transplante de medula óssea é considerado o único método de tratamento capaz de curar a AF e o indivíduo Hb-AS é candidato a doador.

O achado de níveis semelhantes de marcadores inflamatórios entre os indivíduos Hb-SS que não tinham indicação de utilizar HU e aqueles que a utilizavam de forma regular apoia a importância da terapia com HU para melhor controle da AF.

Embora a baixa massa óssea tenha fisiopatologia multifatorial e a inflamação esteja envolvida na fisiopatologia da AF, não houve evidência de relação entre marcadores inflamatórios e DMOCL, o que não corrobora a hipótese de que a inflamação é fator determinante para a DMO nessa população. Além disso, os achados mostram a influência do hematócrito e dos reticulócitos na DMOCL, sítio mais acometido, de adultos com AF e reforçam a ideia de que o acometimento ósseo, com redução da massa óssea nessa população, deve-se à própria anemia hemolítica que caracteriza a doença. Tais achados reforçam a necessidade de atenção à saúde óssea no acompanhamento desses indivíduos, bem como a redução de fatores que possam afetar sua DMO, devido ao risco aumentado de fraturas, colapso vertebral e deformidade óssea.

REFERÊNCIAS

- ABDUL-HUSSEIN, H. K.; AL-MAMMORI, H. S.; HASSAN, M. K. Evaluation of the expression of red blood cell CD36, interleukin-6 and interleukin-8 in sickle cell anemia pediatric patients. **Cytokine**, v. 143, 1 jul. 2021.
- ADAMS-GRAVES, P. et al. Bone mineral density patterns in vitamin D deficient african american men with sickle cell disease. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 347, n. 4, p. 262–266, abr. 2014.
- ADEWOYIN, A. S. Management of sickle cell disease: A review for physician education in Nigeria (Sub-Saharan Africa). **Anemia**, v. 2015; 2015:791498.
- ALAGBE, A. E. et al. Interleukin-27 and interleukin-37 are elevated in sickle cell anemia patients and inhibit in vitro secretion of interleukin-8 in neutrophils and monocytes. **Cytokine**, v. 107, p. 85–92, 1 jul. 2018.
- AL-DAGHRI, N. et al. Inflammatory and bone turnover markers in relation to PTH and vitamin D status among saudi postmenopausal women with and without osteoporosis. **Int J Clin Exp Me**, v. 7, n. 9, p. 2812–2819, 2014.
- ANN LIEBERT, M. et al. Serum Interleukin-6 Levels in the Steady State of Sickle Cell Disease. **Journal of interferon and cytokine research**, v. 15, n. 12, p. 1061-4, dec. 1995.
- ARLET, J. B. et al. Relationship between vitamin D deficiency and bone fragility in sickle cell disease: A cohort study of 56 adults. **Bone**, v. 52, n. 1, p. 206–211, jan. 2013.
- ARTS, R. J. W. et al. TREM-1_ intracellular signaling pathways and interaction with pattern recognition receptors. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 93, p. 209–215, 2013.
- AUFRADET, E. et al. Habitual physical activity and endothelial activation in sickle cell trait carriers. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 11, p. 1987–1994, nov. 2010.
- AWOJODU, A. O. et al. Acid sphingomyelinase is activated in sickle cell erythrocytes and contributes to inflammatory microparticle generation in SCD. **Blood**, v. 124, n. 12, p. 1941–1950, 2014.
- BALDANZI, G. et al. Low bone mass density is associated with hemolysis in Brazilian patients with sickle cell disease. **Clinics**, v. 66, n. 5, p. 801–805, 2011.
- BALLAS, S. K. et al. Beyond the definitions of the phenotypic complications of sickle cell disease: An update on management. **The Scientific World Journal**, v. 2012; 2012:949535.
- BANDEIRA, I. C. J. et al. Chronic inflammatory state in sickle cell anemia patients is associated with HBB*S haplotype. **Cytokine**, v. 65, n. 2, p. 217–221, 2014.
- BELLIDO, T. Osteocyte-driven bone remodeling. **Calcified Tissue International**, v. 94, n. 1, p. 25-34, jan. 2014.

BOMFIM, L. G. S. et al. Leishmania infantum induces the release of sTREM-1 in visceral leishmaniasis. **Frontiers in Microbiology**, v. 8:2265, nov. 2017.

BOMFIM, L. G. S. et al. TREM-1 Expression on the Surface of Neutrophils in Patients With Visceral Leishmaniasis Is Associated With Immunopathogenesis. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12:863986, mar. 2022.

BOUCHON, A. et al. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic sho. **Nature**, v. 410, n. 6832, p. 1103–1107, 2001.

BOUCHON, A.; DIETRICH, J.; COLONNA, M. Cutting Edge: Inflammatory Responses Can Be Triggered by TREM-1, a Novel Receptor Expressed on Neutrophils and Monocytes. **The Journal of Immunology**, v. 164, n. 10, p. 4991–4995, 15 maio 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Doença falciforme: condutas básicas para tratamento**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2012. Disponível em https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doenca_falciforme_condutas_basicas.pdf. Acesso em: 10 fev. 2023.

BRASIL, Ministério da Saúde. BRASIL, Ministério da Saúde. **Doença falciforme: condutas básicas para tratamento**. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2018/doenca-falciforme-pcdt.pdf/view>. Acesso em: 10 fev. 2023.

CARDEN, M. A.; FASANO, R. M.; MEIER, E. R. Not all red cells sickle the same: contributions of the reticulocyte to disease pathology in sickle cell anemia. **Blood Reviews**, v. 40, 2020.

CARDEN, M. A.; LITTLE, J. **Emerging disease-modifying therapies for sickle cell disease**. **Haematologica**, v. 104, n. 9; p. 1710-1719, ago. 2019.

CHAPELON, E. et al. Osteopenia and vitamin D deficiency in children with sickle cell disease. **European journal of haematology**, v. 83, n. 6, p. 572–8, 1 dez. 2009.

CHAROENPHANDHU, N. et al. Fibroblast growth factor-21 restores insulin sensitivity but induces aberrant bone microstructure in obese insulin-resistant rats. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 35, n. 2, p. 142–149, 1 mar. 2017.

CONNES, P. et al. Physiological Responses of Sickle Cell Trait Carriers during Exercise. **Sports Med.**, v. 38, n. 11, p. 931–46, 2008.

CONNES, P. et al. Oxidative stress, inflammation, blood rheology, and microcirculation in adults with sickle cell disease: Effects of hydroxyurea treatment and impact of sickle cell syndrome. **European Journal of Haematology**, v. 106, n. 6, p. 800–807, 1 jun. 2021.

CONRAN, N.; BELCHER, J. D. Inflammation in sickle cell disease. **Clinical hemorheology and microcirculation**, v. 68, n. 2–3, p. 263–299, 2018.

CONRAN, N.; FRANCO-PENTEADO, C. F.; COSTA, F. F. Newer aspects of the pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. **Hemoglobin**, v. 33, n. 1, p. 1-16, 2009.

DA SILVA DE JESUS, A. C. et al. Socioeconomic and nutritional characteristics of children and adolescents with sickle cell anemia: A systematic review. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 36, n. 4, p. 491–499, 1 out. 2018.

DA SILVA-NETO, P. V et al. sTREM-1 Predicts Disease Severity and Mortality in COVID-19 Patients: Involvement of Peripheral Blood Leukocytes and MMP-8 Activity. **Viruses**, v. 13, n. 12, p. 2521, dec. 15.

DALLAS, S. L.; BONEWALD, L. F. Dynamics of the transition from osteoblast to osteocyte. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1192, p. 437-43, mar. 2010.

DALLAS, S. L.; PRIDEAUX, M.; BONEWALD, L. F. The osteocyte: An endocrine cell . . . and more. **Endocrine Reviews**, v. 34, n. 5, p. 658-90, oct. 2013.

DETERMANN, R. M. et al. sTREM-1 is a potential useful biomarker for exclusion of ongoing infection in patients with secondary peritonitis. **Cytokine**, v. 46, n. 1, p. 36–42, abr. 2009.

DIAM M et al. Sickle Cell Trait Worsens Oxidative Stress, Abnormal Blood Rheology, and Vascular Dysfunction in Type 2 Diabetes. **DIABETES CARE**, v. 38, n. 11, p. 2120–2127, 2015.

DOMINGOS, I. F. et al. High levels of proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8 are associated with a poor clinical outcome in sickle cell anemia. **Annals of Hematology**, v. 99, n. 5, p. 947–953, maio 2020.

DONG, M.; MCGANN, P. T. Changing the Clinical Paradigm of Hydroxyurea Treatment for Sickle Cell Anemia Through Precision Medicine. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 109, n. 1, p. :73-81, jan. 2021.

ELSHAL, M. F. et al. The association of bone mineral density and parathyroid hormone with serum magnesium in adult patients with sickle-cell anaemia. **Archives of Medical Science**, v. 8, n. 2, p. 270–276, maio 2012.

EPSLEY, S. et al. The Effect of Inflammation on Bone. **Frontiers in Physiology**, v. 11:511799, jan. 2021.

FELD, J. J. et al. Liver injury is associated with mortality in sickle cell disease. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, v. 42, n. 7, p. 912–921, 2015.

FERNANDES, T. A. A. DE M. et al. Socioeconomic and demographic characteristics of sickle cell disease patients from a low-income region of northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 3, p. 172–177, maio 2015.

FERREIRA, C. E. S. et al. Consensus – reference ranges of vitamin D [25(OH)D] from the Brazilian medical societies. Brazilian Society of Clinical Pathology/Laboratory Medicine

(SBPC/ML) and Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 53, n. 6, p. 377–381, 1 nov. 2017.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. **BioMed Research International**, v. 2015, 2015:421746.

FUNG, E. B. et al. Markers of bone turnover are associated with growth and development in young subjects with sickle cell anemia. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 50, n. 3, p. 620–623, mar. 2008.

GARADAH, T. S. et al. Predictors of abnormal bone mass density in adult patients with homozygous sickle-cell disease. **Clinical Medicine Insights: Endocrinology and Diabetes**, v. 8, p. 35–40, 13 mar. 2015.

GARCIA, N. P. et al. Sickle cell anemia patients display an intricate cellular and serum biomarker network highlighted by TCD4+CD69+ lymphocytes, IL-17/mIP-1 β , IL-12/vegf, and IL-10/IP-10 axis. **Journal of Immunology Research**, 2020, 2020: 4585704.

GHALEB, R. M. et al. Low bone mineral density in Saudi adult patients with sickle cell disease: myth or fact? **International Journal of Clinical Rheumatology**, v. 14, n. 2, p. 53–58, 2019.

GIBOT, S. et al. Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells and the Diagnosis of Pneumonia. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 5, p. 451–8, jan. 2004.

GIBOT, S. et al. A soluble form of the triggering receptor expressed on myeloid cells-1 modulates the inflammatory response in murine sepsis. **Journal of Experimental Medicine**, v. 200, n. 11, p. 1419–1426, 2004.

GIORDANO, P. et al. Mechanisms of Bone Impairment in Sickle Bone Disease. **Public Health**, v. 18, p. 1832, 2021.

GOMES, I. C. P. et al. Growth and puberty in a prospective cohort of patients with sickle-cell anaemia: An assessment over ten years. **Journal of Human Growth and Development**, v. 27, n. 1, p. 91–98, 2017.

GÓMEZ-PIÑA, V. et al. Metalloproteinases Shed TREM-1 Ectodomain from Lipopolysaccharide-Stimulated Human Monocytes. **The Journal of Immunology**, v. 179, n. 6, p. 4065–4073, 15 set. 2007.

GOODMAN, B. M. et al. Prevalence of Vitamin D Deficiency in Adults With Sickle Cell Disease. **Journal of the National Medical Association**, v. 102, n. 4, p. 332–335, 2010.

GREEN, M. et al. Microarchitectural and mechanical characterization of the sickle bone. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 48, p. 220–228, ago. 2015.

GUARDA, C. C. et al. Hydroxyurea alters circulating monocyte subsets and dampens its inflammatory potential in sickle cell anemia patients. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 14829, 2019.

HAN, J. et al. Risk factors for vitamin D deficiency in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 181, n. 6, p. 828–835, jun. 2018.

HAN, Y. et al. Paracrine and endocrine actions of bone - The functions of secretory proteins from osteoblasts, osteocytes, and osteoclasts. **Bone Research**, v. 24, n. 6, p. 16, maio 2018.

HASSELL, K. L. Population Estimates of Sickle Cell Disease in the U.S. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 38, n. 4, p. S512-21, abr. 2010.

HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 74, n. 3, p. 179–184, 2001.

HIRAM-BAB, S. et al. Erythropoietin directly stimulates osteoclast precursors and induces bone loss. **FASEB Journal**, v. 29, n. 5, p. 1890–1900, maio 2015.

INUSA, B. P. D. et al. Sickle cell disease—genetics, pathophysiology, clinical presentation and treatment. **International Journal of Neonatal Screening**, v. 5, n. 2, p. 20, maio 2019.

INSTITUTE OF MEDICINE (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. **Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D**. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011.

ISCD. **The International Society for Clinical Densitometry. 2019 official positions -adult..** Disponível em: <https://iscd.org/learn/official-positions/adult-positions>. Acesso em: 10 fev. 2023.

JOLLY, L. et al. Triggering receptor expressed on myeloid cells-1: A new player in platelet aggregation. **Thrombosis and Haemostasis**, v. 117, n. 9, p. 1772–1781, 2017.

KATAGIRI, T.; WATABE, T. Bone morphogenetic proteins. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 8, n. 6, 1 jun. 2016.

KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, p. 18010, mar. 2018.

KATO, G. J.; STEINBERG, M. H.; GLADWIN, M. T. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 3, p. 750–760, mar. 2017.

KEIKHAEI, B. et al. Altered levels of pro-inflammatory cytokines in sickle cell disease patients during vaso-occlusive crises and the steady state condition. **European Cytokine Network**, v. 24, n. 1, p. 45–52, mar. 2013.

KHARROUBI, A. et al. Bone mineral density among Palestinian patients suffering from hemoglobinopathy disorders. **Archives of Osteoporosis**, v. 15, n. 181, 2020.

KLESNEY-TAIT, J. et al. The TREM receptor family and signal integration. **Nature Immunology**, v. 7, n. 12, p. 1266–73, dez. 2006.

KOGAWA, M. et al. Sclerostin regulates release of bone mineral by osteocytes by induction of carbonic anhydrase 2. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 28, n. 12, p. 2436–2448, dez. 2013.

LANARO, C. et al. Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 85, n. 2, p. 235–242, 1 fev. 2009.

LANDBURG, P. P. et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in sickle cell disease are related to the hemolytic phenotype. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 44, n. 4, p. 229–232, abr. 2010.

LIEBEN, L. et al. Normocalcemia is maintained in mice under conditions of calcium malabsorption by vitamin D-induced inhibition of bone mineralization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 5, p. 1803–1815, maio 2012.

LORENTZON, M. et al. Algorithm for the Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in the Diagnosis, Assessment and Follow-Up of Treatment for Osteoporosis. **Advances in Therapy**, v. 36, p. 2811–2824, 2019.

MAHDY, A. M. et al. Production of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells by lipopolysaccharide-stimulated human neutrophils involves de novo protein synthesis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 13, n. 4, p. 492–495, abr. 2006.

MARTYRES, D. J. et al. Nutrient Insufficiencies/Deficiencies in Children With Sickle Cell Disease and Its Association With Increased Disease Severity. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 63, n. 6, p. 1060–1064, jun. 2016.

MCLEAN, R. R. Proinflammatory Cytokines and Osteoporosis. **Current Osteoporosis Reports**, v. 7, p. 134–139, 2009.

MEINDERTS, S. M. et al. Identification of genetic biomarkers for alloimmunization in sickle cell disease. **Sons Ltd British Journal of Haematology**, v. 186, p. 887–899, 2019.

MIKOBI, T. M. et al. Correlation between the Lactate Dehydrogenase Levels with Laboratory Variables in the Clinical Severity of Sickle Cell Anemia in Congolese Patients. **Plos One**, n. 10, v. 5, p. e0123568, maio 2015.

MILLER, R. G. et al. High prevalence and correlates of low bone mineral density in young adults with sickle cell disease. **American Journal of Hematology**, v. 81, n. 4, p. 236–241, abr. 2006.

MIZOKAMI, A.; KAWAKUBO-YASUKOCHI, T.; HIRATA, M. Osteocalcin and its endocrine functions. **Biochemical Pharmacology**, v. 15, n. 132, p.1-8, maio 2017.

MODESTE, S. C. et al. Sickle Cell Anemia Patients in Use of Hydroxyurea: Association between Polymorphisms in Genes Encoding Metabolizing Drug Enzymes and Laboratory Parameters. **Disease Markers**, v. 2018, p.6105691, jan. 2018.

MUSA, B. O. P. et al. Pattern of serum cytokine expression and T-Cell subsets in sickle cell disease patients in vaso-occlusive crisis. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 17, n. 4, p. 602–608, abr. 2010.

NADER, E.; ROMANA, M.; CONNES, P. The Red Blood Cell—Inflammation Vicious Circle in Sickle Cell Disease. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p.454, mar. 2020.

NAIK, R. P. et al. Clinical outcomes associated with sickle cell trait: A systematic review. **Annals of Internal Medicine**, v. 169, n. 9, p. 619-627, nov. 2018.

NARTEY, E. B. et al. Nutritional perspectives on sickle cell disease in Africa: a systematic review. **BMC Nutrition**, v. 7, n. 1, 1 dez. 2021.

NIVALDO MELO, H. I. et al. Objectively measured physical activity levels and sedentary time in children and adolescents with sickle cell anemia. **Plos One**, v. 13, n. 12, p. e0208916, dez. 2018.

NOH, J. Y.; YANG, Y.; JUNG, H. Molecular mechanisms and emerging therapeutics for osteoporosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 20, p. 7623, out. 2020.
NOLAN, V. G. et al. Prevalence of Vitamin D deficiency in sickle cell disease: A systematic review. **PLoS ONE**, v. 10, n. 3, p. e0119908, mar. 2015.

NOURAIE, M. et al. Predictors of osteoclast activity in patients with sickle cell disease. **Haematologica**, v. 96, n. 8, p. 1092–1098, ago. 2011.

NOVELLI, E. M.; GLADWIN, M. T. Crises in sickle cell disease. **Chest**, v. 149, n. 4, p. 1082-93, abr. 2016.

OKU, R. et al. Differential pattern of cell-surface and soluble TREM-1 between sepsis and SIRS. **Cytokine**, v. 61, n. 1, p. 112–117, jan. 2013.

PANDUPUSPITASARI, N. S. et al. Novel attributions of TREMs in immunity. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 20, p. 47–54, 2016.

PATHARE, A. et al. Cytokine profile of sickle cell disease in Oman. **American Journal of Hematology**, v. 77, n. 4, p. 323–328, dez. 2004.

PELLS, J. J. et al. Moderate Chronic Pain, Weight and Dietary Intake in African-American Adult Patients with Sickle Cell Disease cell disease. **Journal of the National Medical Association**, v. 97, n. 12, p.1622-9, dez. 2005.

PICCIN, A. et al. Insight into the complex pathophysiology of sickle cell anaemia and possible treatment. **European Journal of Haematology**, v. 102, n. 4, p. 319-330, abr. 2019.

PIERROT-GALLO, B. S. et al. Haptoglobin gene polymorphisms and interleukin-6 and -8 levels in patients with sickle cell anemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 5, p. 329–335, set. 2015.

PITANGA, T. N. et al. Sick cell red cells as danger signals on proinflammatory gene expression, leukotriene B₄ and interleukin-1 beta production in peripheral blood mononuclear cell. **Cytokine**, v. 83, p. 75–84, jul. 2016.

PLOTKIN, L. I.; BRUZZANITI, A. Molecular signaling in bone cells: Regulation of cell differentiation and survival. Em: **Advances in Protein Chemistry and Structural Biology**. [s.l.] Academic Press Inc., 2019. v. 116p. 237–281.

QARI, M. H.; DIER, U.; MOUSA, S. A. Biomarkers of inflammation, growth factor, and coagulation activation in patients with sickle cell disease. **Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 18, n. 2, p. 195–200, mar. 2012.

RADSAK, M. P. et al. Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 in Neutrophil Inflammatory Responses: Differential Regulation of Activation and Survival. **The Journal of Immunology**, v. 172, n. 8, p. 4956–4963, abr. 2004.

RAI, P.; ATAGA, K. I. Drug Therapies for the Management of Sickle Cell Disease. **F1000Research**, v. 9: F1000 Faculty Rev-592, jun. 2020.

RODRIGUES FILHO, E. DE A. et al. Relation between body composition and bone mineral density in young undergraduate students with different nutritional status. **Einstein (Sao Paulo, Brazil)**, v. 14, n. 1, p. 12–17, jan. 2016.

SADAT-ALI, M. et al. Vitamin D level among patients with sickle cell anemia and its influence on bone mass. **American journal of hematology**, v. 86, n. 6, p. 506–7, jun. 2011.

SALINAS CISNEROS, G.; THEIN, S. L. Recent Advances in the Treatment of Sickle Cell Disease. **Frontiers in Physiology**, v. 11, p. 435, maio 2020.

SAMSON, K. L. I. et al. Prevalence of vitamin D deficiency varies widely by season in Canadian children and adolescents with sickle cell disease. **Journal of Clinical Medicine**, v. 7, n. 2, 2018.

SARAF, S. L. et al. Differences in the clinical and genotypic presentation of sickle cell disease around the world. **Paediatric respiratory reviews**, v. 15, n. 1, p. 4–12, 2014.

SARRAI, M. et al. Bone mass density in adults with sickle cell disease. **British Journal of Haematology**, v. 136, n. 4, p. 666–672, fev. 2007.

SARRAY, S. et al. Serum IL-6, IL-10, and TNF α levels in pediatric sickle cell disease patients during vasoocclusive crisis and steady state condition. **Cytokine**, v. 72, n. 1, p. 43–47, mar. 2015.

SCHULTE, G. Frizzleds and WNT/ β -catenin signaling - The black box of ligand-receptor selectivity, complex stoichiometry and activation kinetics. **European Journal of Pharmacology**, v. 763, p. 191–195, set. 2015.

SEGAVA, N. B. et al. Caracterização do uso de atividades físicas em crianças e adolescentes com anemia falciforme. **Rev Ter Ocup**, v. 24, n. 3, p. 242–249, 2013.

SHARIF, O.; KNAPP, S. From expression to signaling: Roles of TREM-1 and TREM-2 in innate immunity and bacterial infection. **Immunobiology**, v. 213, n. 9-10, p. 701-13, nov. 2008.

SILVA, B. C.; BILEZIKIAN, J. P. Parathyroid hormone: Anabolic and catabolic actions on the skeleton. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 22, p.41-50, jun. 2015.

SILVA-JUNIOR AL et al. Immunological Hallmarks of Inflammatory Status in Vaso-Occlusive Crisis of Sickle Cell Anemia Patients. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 559925, mar. 2021.

SILVERBERG, S. J. et al. Current issues in the presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: Proceedings of the fourth International Workshop. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 99, n. 10, p. 3580-94, out. 2014.

SIMS, N. A.; VRAHNAS, C. Regulation of cortical and trabecular bone mass by communication between osteoblasts, osteocytes and osteoclasts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 99, n. 10, p. 3580-94, nov. 2014.

SKINNER, S. C. et al. Increased prevalence of type 2 diabetes-related complications in combined type 2 diabetes and sickle cell trait. **Diabetes Care**, v. 41, n. 12, p. 2595–2602, dez. 2018.

STEEVE, K. T. et al. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: Interrelations in bone resorption pathophysiology. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 15, n. (1), p. 49-60, fev. 2004.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 14, p. 263-292, 2019.

TAKAHASHI, N.; UDAGAWA, N.; SUDA, T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. **Bonekey Reports**, v. 3, p. 495, fev. 2014.

TESSARZ, A. S.; CERWENKA, A. The TREM-1/DAP12 pathway. **Immunology Letters**, v. 116, n. 2, p. 111-6, mar. 2008.

THARAUX, PIERRE-LOUIS; LENOIR, OLIVIA; MINTZ, THOMAS. **Trem-1 inhibitors for the treatment of vaso-occlusions and tissue injuries in patients suffering from sickle cell disease**. Depositante: PIERRE-LOUIS THARAUX. WO2021/105137A1. Depósito: 03 jun. 2021.

TRIPETTE, J. et al. Patterns of exercise-related inflammatory response in sickle cell trait carriers. **British Journal of Sports Medicine**, v. 44, n. 4, p. 232–237, mar. 2010.

TSARAS, G. et al. Complications Associated with Sickle Cell Trait: A Brief Narrative Review. **American Journal of Medicine**, v. 122, n. 6, p. 507-12, jun. 2009.

VONA, R. et al. Sickle cell disease: Role of oxidative stress and antioxidant therapy. **Antioxidants (Basel)**, v. 10, n. 2, p. 296, fev. 2021.

WARE, R. E. et al. Sickle cell disease. **The Lancet**, v 390, n. 10091, p. 311-323, jul. 2017.

WEIN, M. N.; KRONENBERG, H. M. Regulation of bone remodeling by parathyroid hormone. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 8, p. a031237, ago. 2018.

WONGTONG, N. et al. Monocytosis is associated with hemolysis in sickle cell disease. **Hematology (United Kingdom)**, v. 20, n. 10, p. 593–597, dez. 2015.

XING, Z. et al. IL-6 Is an Antiinflammatory Cytokine Required for Controlling Local or Systemic Acute Inflammatory Responses. **Journal of Clinical Investigation**, v. 101, n. 2, p. 311-20, jan. 1998.

YAKAR, S. et al. Insulin-like growth factors: actions on the skeleton. **Journal of Molecular Endocrinology**, v. 61, n. 1, p. T115-T137, jul. 2018.

YANG, D. H.; YANG, M. Y. The role of macrophage in the pathogenesis of osteoporosis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 9, p. 2093, abr. 2019.

ZAHRAN, A. M. et al. Effect of Hydroxyurea Treatment on the Inflammatory Markers Among Children With Sickle Cell Disease. **Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis**, v. 26, p. 1076029619895111, jan-dez. 2020.

ZHANG, D. et al. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. **Blood**, v. 127, n. 7, p. 801-9, fev. 2016.

ZUPAN, J.; JERAS, M.; MARC, J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts. **Biochemia Medica (Zagreb)**, v. 23, n. 1, p. 43-63, 2013.

APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO GERAL DO GRUPO DE PACIENTES

Data da observação: _____

Nome: _____

Nº registro: _____ Data de nascimento: _____ Idade: _____

Gênero: () Feminino () Masculino Raça: _____ Telefone: _____

Endereço: _____

Escolaridade: _____

Surgimento dos caracteres sexuais secundários:

Idade: _____ Sequência: _____

Possui alguma patologia crônica (Diabetes, obesidade, hipertensão, dislipidemia p ex)?

() Sim () Não Se sim, qual (quais)?

Possui alguma doença autoimune (Tireoidite de Hashimoto, doença de Graves, lupus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, Síndrome de Sjögren, doença de Crohn, doença celíaca, lupus, DM1, psoríase, vitiligo, rosácea, púrpura trombocitopênica idiopática-(PTI), hepatite autoimune, Síndrome de Guillain-Barré, granulomatose de Wegener, vasculites, miastenia gravis, doença celíaca – enteropatia por glúten, esclerodermia, doença de Behçet, anemia hemolítica autoimune, cirrose biliar primária, espondilite anquilosante, doença de Addison, síndrome antifosfolipídica autoimune, dermatite herpetiforme, febre familiar do Mediterrâneo, glomerulonefrite por IGA, glomerulonefrite membranosa, síndrome de Goodpasture, síndrome miastênica de Lambert-Eaton, oftalmia simpática, penfigóide bolhoso, políendocrinopatias, púrpura autoimune, doença de Reiter, tireoidite autoimune, retocolite ulcerativa, síndrome de Churg-Strauss, sarcoidose, Síndrome de Vog-Koyanagi-Harada, alopecia areata, p ex.)?

() Sim () Não Se sim, qual (quais)?

Última internação: _____

Última hemotransfusão: _____

História de fratura prévia: () Sim () Não Se sim, qual sítio e idade? _____

História de osteonecrose prévia? () Sim () Não

Uso de hidroxiureia 500mg: () Sim () Não

Tempo de uso: _____

Dose: _____

Medicamentos em uso (se mulher, lembrar de registrar e identificar anticoncepcional):

Para o sexo feminino:

Idade da menarca: _____

Data da última menstruação: ____/____/____

Gestação e paridade: G ____ P ____ A ____

APÊNDICE B – QUESTIONÁRIO GERAL DO GRUPO CONTROLE

Data da observação: _____

Nome: _____

Nº registro: _____ Data de nascimento: _____ Idade: _____

Gênero: () Feminino () Masculino Raça: _____ Telefone: _____

Endereço: _____

Escolaridade: _____

Surgimento dos caracteres sexuais secundários:

Idade: _____ Sequência: _____

Possui alguma patologia crônica (Diabetes, obesidade, hipertensão, dislipidemia p ex)?

() Sim () Não Se sim, qual (quais)?

Possui alguma doença autoimune (Tireoidite de Hashimoto, doença de Graves, lupus, artrite reumatoide, esclerose múltipla, Síndrome de Sjögren, doença de Crohn, doença celíaca, lupus, DM1, psoríase, vitiligo, rosácea, púrpura trombocitopênica idiopática-(PTI), hepatite autoimune, Síndrome de Guillain-Barré, granulomatose de Wegener, vasculites, miastenia gravis, doença celíaca – enteropatia por glúten, esclerodermia, doença de Behçet, anemia hemolítica autoimune, cirrose biliar primária, espondilite anquilosante, doença de Addison, síndrome antifosfolípídica autoimune, dermatite herpetiforme, febre familiar do Mediterrâneo, glomerulonefrite por IGA, glomerulonefrite membranosa, síndrome de Goodpasture, síndrome miastênica de Lambert-Eaton, oftalmia simpática, penfigóide bolhoso poliendocrinopatias, púrpura autoimune, doença de Reiter, tireoidite autoimune, retocolite ulcerativa, síndrome de Churg-Strauss, sarcoidose, Síndrome de Vog-Koyanagi-Harada, alopecia areata, p ex.)?

() Sim () Não Se sim, qual (quais)?

Última internação: _____

Última hemotransfusão: _____

História de fratura prévia: () Sim () Não Se sim, qual sítio e idade? _____

História de osteonecrose prévia? () Sim () Não

Medicamentos em uso (se mulher, lembrar de registrar e identificar anticoncepcional):

Para o sexo feminino:

Idade da menarca: _____

Data da última menstruação: ____/____/____

Gestação e paridade: G____P____A____

APÊNDICE C – AVALIAÇÃO ANTROPOMÉTRICA

NOME _____

DATA _____ REGISTRO _____

Peso: _____ Estatura: _____ IMC: _____

% de gordura: _____ % de água: _____

Circunferência da Cintura (dois dedos acima do umbigo): _____

Circunferência do Pulso: _____

Circunferência do Pescoço: _____

Circunferência do Braço: _____

Circunferência do Quadril: _____

Pressão arterial: _____

APÊNDICE E – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Nós, alunos e professores do curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Sergipe, convidamos-te a participar da pesquisa: “Disfunção endotelial e alterações do metabolismo lipídico e ósseo na anemia falciforme”, a realizar-se no Ambulatório de Hematologia Pediátrica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Sergipe, que tem como objetivo avaliar a relação entre marcadores de inflamação e alterações do metabolismo lipídico e ósseo em adolescentes e adultos com anemia falciforme.

Para facilitar o nosso estudo, nós lhe pedimos para responder algumas perguntas, como: nome, idade, endereço, bem como sobre seu estado de saúde. O único incômodo será a punção de veia para coleta de sangue e a realização do exame de imagem densitometria óssea.

Nós nos comprometemos a lhe informar os resultados dos exames e orientar você sobre o significado dos achados, além de mantermos sigilo e confidencialidade sobre a sua participação nesse estudo.

Caso o senhor (a) não queira participar da pesquisa, saiba que isso não alterará o tratamento que vem sendo feito aqui no ambulatório de Hematologia HU-UFS, no entanto a sua participação é muito importante para nosso estudo, pois estará contribuindo para a evolução dos conhecimentos sobre a anemia falciforme e ajudando a todos os pacientes do serviço. A sua participação é voluntária e você poderá interrompê-la a qualquer momento, sem nenhum prejuízo para você.

Em caso de dúvida entre em contato conosco no local, dias e horários em que os atendimentos são realizados.

Diante do que foi dito, confirmo a minha participação.

Assinatura do participante (participante maior de 18 anos) ou assinatura do responsável (participante menor que 18 anos).

Aracaju, ____ de _____ de _____.

Os investigadores principais, Dra Rosana Cipolotti (79 9981-1238) e Dra Ingrid Cristiane Pereira Gomes (79 9971-1437), comprometem-se a conduzir todas as atividades deste estudo de acordo com os termos do presente Consentimento Livre e Esclarecido.

Pesquisador responsável

Aracaju, ____/____/____

ANEXO A: INTERNATIONAL PHYSICAL ACTIVITY QUESTIONNAIRE (IPAQ) – VERSÃO CURTA

NOME _____ DATA _____ REGISTRO _____

As perguntas estão relacionadas ao tempo que você gasta fazendo atividade física na ÚLTIMA semana. As perguntas incluem as atividades que você faz no trabalho, para ir de um lugar a outro, por lazer, por esporte, por exercício ou como parte das suas atividades em casa ou no jardim. Para responder as questões lembre que:

- Atividades físicas VIGOROSAS são aquelas que precisam de um grande esforço físico e que fazem respirar MUITO mais forte que o normal.
- Atividades físicas MODERADAS são aquelas que precisam de algum esforço físico e que fazem respirar UM POUCO mais forte que o normal.

Para responder as perguntas pense somente nas atividades que você realiza por pelo menos 10 minutos contínuos de cada vez.

1a. Em quantos dias da última semana você CAMINHOU por pelo menos 10 minutos contínuos em casa ou no trabalho, como forma de transporte para ir de um lugar para outro, por lazer, por prazer ou como forma de exercício?

Dias _____ por SEMANA () Nenhum

1b. Nos dias em que você caminhou por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou caminhando por dia?

Horas: _____ Minutos: _____

2a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades MODERADAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo pedalar leve na bicicleta, nadar, dançar, fazer ginástica aeróbica leve, jogar vôlei recreativo, carregar pesos leves, fazer serviços domésticos na casa, no quintal ou no jardim como varrer, aspirar, cuidar do jardim, ou qualquer atividade que fez aumentar moderadamente sua respiração ou batimentos do coração (POR FAVOR NÃO INCLUA CAMINHADA)

Dias _____ por SEMANA () Nenhum

2b. Nos dias em que você fez essas atividades moderadas por pelo menos 10 minutos contínuos, quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

Horas: _____ Minutos: _____

3a. Em quantos dias da última semana, você realizou atividades VIGOROSAS por pelo menos 10 minutos contínuos, como por exemplo correr, fazer ginástica aeróbica, jogar futebol, pedalar rápido na bicicleta, jogar basquete, fazer serviços domésticos pesados em casa, no quintal ou cavoucar no jardim, carregar pesos elevados ou qualquer atividade que fez aumentar MUITO sua respiração ou batimentos do coração.

Dias _____ por SEMANA () Nenhum

3b. Nos dias em que você fez essas atividades vigorosas por pelo menos 10 minutos contínuos quanto tempo no total você gastou fazendo essas atividades por dia?

Horas: _____ Minutos: _____

Estas últimas questões são sobre o tempo que você permanece sentado todo dia, no trabalho, na escola ou faculdade, em casa e durante seu tempo livre. Isto inclui o tempo sentado estudando, sentado enquanto descansa, fazendo lição de casa visitando um amigo, lendo, sentado ou deitado assistindo TV. Não inclua o tempo gasto sentando durante o transporte em ônibus, trem, metrô ou carro.

4a. Quanto tempo no total você gasta sentado durante um dia de semana?

Horas: _____ Minutos: _____

4b. Quanto tempo no total você gasta sentado durante em um dia de final de semana? Horas: _____ Minutos: _____

ARTIGO PUBLICADO

Received: 21 March 2023 | Revised: 4 May 2023 | Accepted: 5 May 2023

DOI: 10.1002/jha2.712

SHORT REPORT

eJHaem



Levels of inflammatory markers are differentially expressed in sickle cell anemia and sickle cell trait

Ingrid Cristiane Pereira Gomes^{1,2,3} | Lucas Sousa Magalhães^{1,4,5} |
 Lays Gisele Santos Bomfim¹ | Priscila Lima dos Santos^{1,4,6} |
 Roberto Jerônimo dos Santos Silva⁷ | Maria Carollyne Passos Cruz^{1,8} |
 Lindemberg Costa de Albuquerque³ | Victoria Haydée Deusdedith Neves³ |
 Paula Gabriella Pereira Rosa de Oliveira⁸ | Alessandro Freire Carvalho⁹ |
 Lucas Oliveira Silva² | Matheus Todt Aragão¹ | Tatiana Rodrigues Moura^{1,10,5} |
 Rosana Cipolotti^{1,2}

¹Health Sciences Graduate Program, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brazil²Department of Medicine, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brazil³Department of Medicine, Tiradentes University, Aracaju, Sergipe, Brazil⁴Laboratory of Molecular Biology and Immunology, Federal University of Sergipe, Aracaju, Sergipe, Brazil⁵Sector of Parasitology and Pathology, Biological and Health Sciences Institute, Federal University of Alagoas, Maceió, Alagoas, Brazil⁶Department of Health Education, Federal University of Sergipe, Lagarto, Sergipe, Brazil⁷Department of Physical Education, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brazil, São Cristóvão, Sergipe, Brazil⁸Department of Nutrition, Federal University of Sergipe, Lagarto, Sergipe, Brazil⁹Department of Nutrition, Tiradentes University, Aracaju, Sergipe, Brazil¹⁰Department of Morphology, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brazil

Correspondence

Ingrid Cristiane Pereira Gomes, Health
 Sciences Graduate Program, Federal
 University of Sergipe, Aracaju, SE, Brazil.
 Email: ingridcpg@yahoo.com.br

Funding information

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal
 de Nível Superior (CAPES) - Brazil of Education

Abstract

Although sickle cell anemia (SCA) is related to inflammation, the profile of inflammatory markers in sickle cell trait (SCT) is poorly studied. This is a cross-sectional study of inflammatory biomarkers carried out involving adults with SCA in steady state, SCT and controls. The SCA group had higher levels of lactate dehydrogenase, IL-1 β , IL-6, IL-10, and tumor necrosis factor alpha than the others, while the SCT group had similar levels to control group. In addition, SCA group had lower IL-8/IL-10 and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1/IL-10 ratios. These findings indicate that individuals with SCT do not have a chronic inflammatory profile and reinforce that cytokines are involved in the maintenance of the inflammatory state in SCA.

KEYWORDS

adults, cytokines, inflammation, sickle cell anemia, sickle cell trait

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2023 The Authors. eJHaem published by British Society for Haematology and John Wiley & Sons Ltd.

ARTIGO PUBLICADO

(CC BY 4.0) | ISSN 2525-3409 | DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i9.32144>**Nutritional profile and its relationship with severity markers in adults with sickle cell anemia**

Perfil nutricional e sua relação com marcadores de gravidade em adultos com anemia falciforme

Perfil nutricional y su relación con marcadores de gravedad en adultos con anemia falciforme

Received: 06/25/2022 | Reviewed: 06/04/2022 | Accepted: 07/11/2022 | Published: 07/18/2022

Ingrid Cristiane Pereira GomesORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9328-8581>

Federal University of Sergipe, Brazil

E-mail: ingridcp@fapesp.br**Mariana Amaral Carvalho**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7194-627X>

Tiradentes University, Brazil

E-mail: maria-amaral@hotmail.com**Maria Carollyne Passos Cruz**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8596-1951>

Federal University of Sergipe, Brazil

E-mail: nutrinutricionista@outlook.com**João Pedro Costa Machado Teles**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3775-1436>

Tiradentes University, Brazil

E-mail: jptele31@outlook.com**Paula Gabriella Pereira Rosa de Oliveira**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8275-5612>

Federal University of Sergipe, Brazil

E-mail: paulgabriella13@hotmail.com**Lindemberg Costa de Albuquerque**ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8391-4029>

Tiradentes University, Brazil

E-mail: lcosta95_@gmail.com**Gabriela Maria Araújo Costa**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9620-4160>

Tiradentes University, Brazil

E-mail: gabrielacosta449@gmail.com**Alessandro Freire Carvalho**ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1311-2688>

Tiradentes University, Brazil

E-mail: alessandrofreire_19@hotmail.com**Rosana Cipolotti**ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9070-2302>

Federal University of Sergipe, Brazil

E-mail: rosanaci@yahoo.com**Abstract**

Objective: To assess the nutritional profile and its relationship with the severity markers in adults with sickle cell anemia (SCA). **Methodology:** This is a cross-sectional, analytical study with 55 adults with SCA and 60 members of the control group. Sociodemographic, nutritional and laboratory data, as well as physical activity level were collected between March 2019 and June 2020. Mann-Whitney tests were used to compare groups and the Spearman correlation coefficient to test the relationship between variables. **Results:** The SCA group presented lower weight, height and body mass index. In addition, there was a positive correlation of hemoglobin and hematocrit with food intake and a negative correlation with platelets in this group. **Conclusion:** In light of the studied link between food intake and blood count, the importance of adequate nutritional support as part of the therapeutic management of individuals with SCA becomes evident, which impacts their prognosis.

Keywords: Sickle cell disease; Dietary intake; Anthropometry; Hemolysis; Adults.

Resumo

Objetivos: Avaliar o perfil nutricional e a sua relação com marcadores de gravidade de adultos com anemia falciforme (AF). **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal, analítico com 55 adultos com AF e 60 controles. Dados sociodemográficos, nutricionais, laboratoriais e nível de atividade física foram coletados entre março de 2019 e junho

ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

British Journal of Haematology



FACTORS ASSOCIATED WITH LOW BONE MASS IN ADULTS WITH SICKLE CELL ANEMIA

Journal:	British Journal of Haematology
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Paper
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Gomes, Ingrid Cristiane; Federal University of Sergipe, Health Sciences Postgraduate Program Bomfim, Lays Gisele; Federal University of Sergipe, University Hospital of Lagarto Silva, Roberto Jerônimo ; Federal University of Sergipe, Department of Physical Education dos Santos, Priscila ; Federal University of Sergipe, Department of Health Education de Albuquerque, Lindemberg ; Tiradentes University, Department of Medicine Cruz, Maria Carollyne ; Federal University of Sergipe, Health Sciences Graduate Program Aragao, Matheus; Federal University of Sergipe, Health Sciences Graduate Program de Santana, Kleber Cristian ; Federal University of Alagoas, Department of Medicine Bomfim, Felipe ; Tiradentes University, Department of Medicine dos Santos, Paulo Herlan ; Federal University of Sergipe, Laboratory of Molecular Biology and Immunology dos Santos, Sérgio ; Federal University of Sergipe, Laboratory of Patology de Oliveira, Paula Gabriella ; Federal University of Sergipe, Department of Nutrition Carvalho, Alessandro ; Tiradentes University, Department of Nutrition Rosana, Cipolotti; Universidade Federal de Sergipe, Medicina
Key Words:	SICKLE CELL ANAEMIA, BONE MINERAL DENSITY, HAEMOLYTIC ANAEMIA, INFLAMMATION, CYTOKINES

SCHOLARONE™
Manuscripts

ARTIGO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO

Plasmatology

LIPID PROFILE, NUTRITIONAL STATUS AND SEVERITY BIOMARKERS IN ADULTS WITH SICKLE CELL ANEMIA

Journal:	Plasmatology
Manuscript ID	BDX-23-0006
Manuscript Type:	Original Research Article
Date Submitted by the Author:	26-Mar-2023
Complete List of Authors:	Gomes, Ingrid; Federal University of Sergipe Teles, João ; Tiradentes University Coelho, Anny ; Tiradentes University, Cruz, Maria ; Federal University of Sergipe de Albuquerque, Lindemberg ; Tiradentes University Carvalho, Mariana; Tiradentes University dos Santos , Paulo ; Federal University of Sergipe dos Santos , Sérgio ; Federal University of Sergipe Cipolotti, Rosana ; Federal University of Sergipe
Keywords:	SICKLE CELL ANEMIA, NUTRITIONAL STATUS, HDL-CHOLESTEROL, TRIGLYCERIDES, HEMOLYSIS, ADULTS, DISEASE SEVERITY
Abstract:	Background: Lipid alterations has been described in sickle cell anemia (SCA), but their association with the disease severity is not fully understood and their correlation with the nutritional status of this population has not been widely studied. Objectives: This study aimed to assess the lipid profile and its relation with the nutritional status, including anthropometric characteristics and daily macronutrient intake, and with the severity biomarkers in of adults with SCA in steady state. Design and Method: This is a cross-sectional, analytical study with 55 adults with SCA and 60 members of the control group. Sociodemographic, anthropometric, nutritional and laboratory data were collected between March 2019 and June 2020. Mann-Whitney test was used to compare groups and Spearman's correlation coefficient was used to test the relation between variables. Results: The SCA group presented higher calories, proteins and carbohydrates intake, lower levels of HDL-Cholesterol (HDL-c) and higher TG/HDL-c ratio than the control. HDL-c showed positive correlation with hemoglobin (Hb) and hematocrit (HcT) and negative correlation with indirect bilirubin and lactate dehydrogenase (LDH). The TG/HDL-c ratio was positively linked with reticulocytes count, LDH and leukocytes count and negatively linked with Hb. Conclusions: The study findings showed hypocholesterolemia in SCA and