



V Simpósio Brasileiro de
Doença Falciforme
e outras
Hemoglobinopatias

Encontro Pan-americano
para Doença Falciforme
OPAS / OMS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José do Rio Preto

Estresse oxidativo em portadores de anemia falciforme: perfil leucocitário e relação com o uso de medicação específica.

**BELINI-JÚNIOR, E.; ZAMARO, P. J. A.; TORRES, L. S.; SILVA, D. G. H.;
CANÇADO, R. D.; BONINI-DOMINGOS, C. R.**

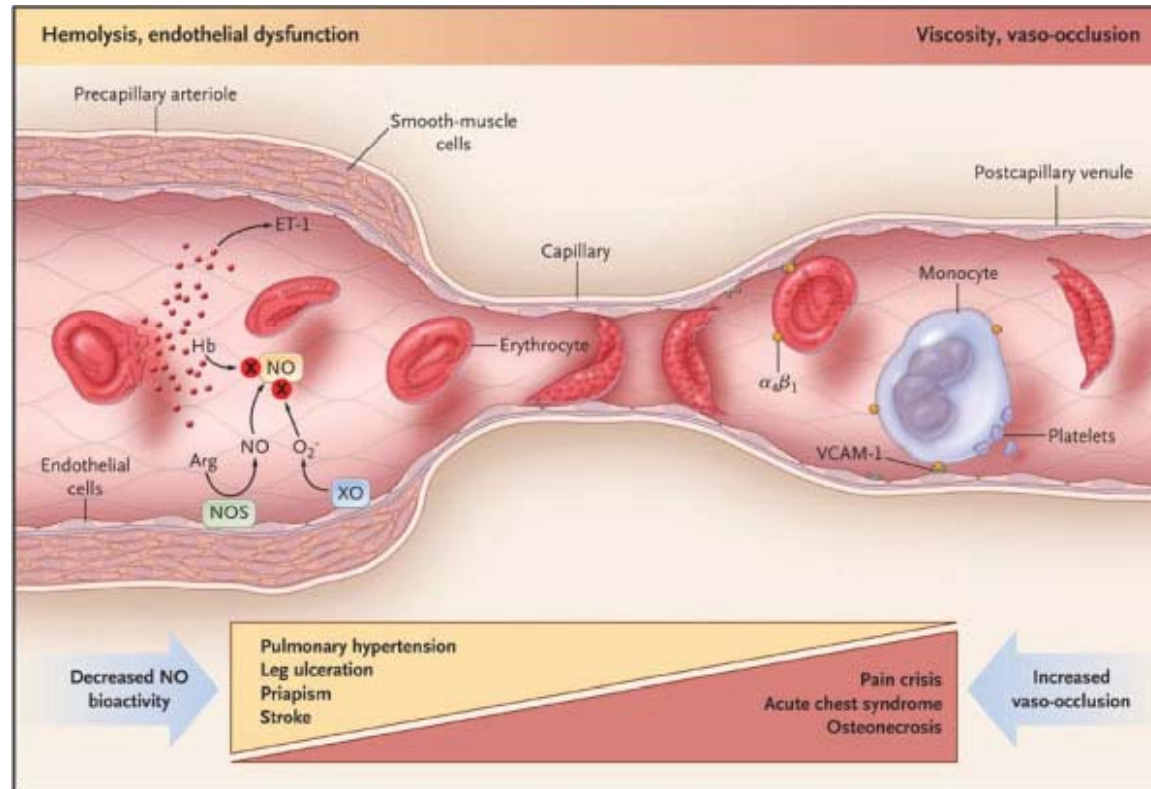
Edis Belini Junior



**Belo Horizonte - MG
2009**



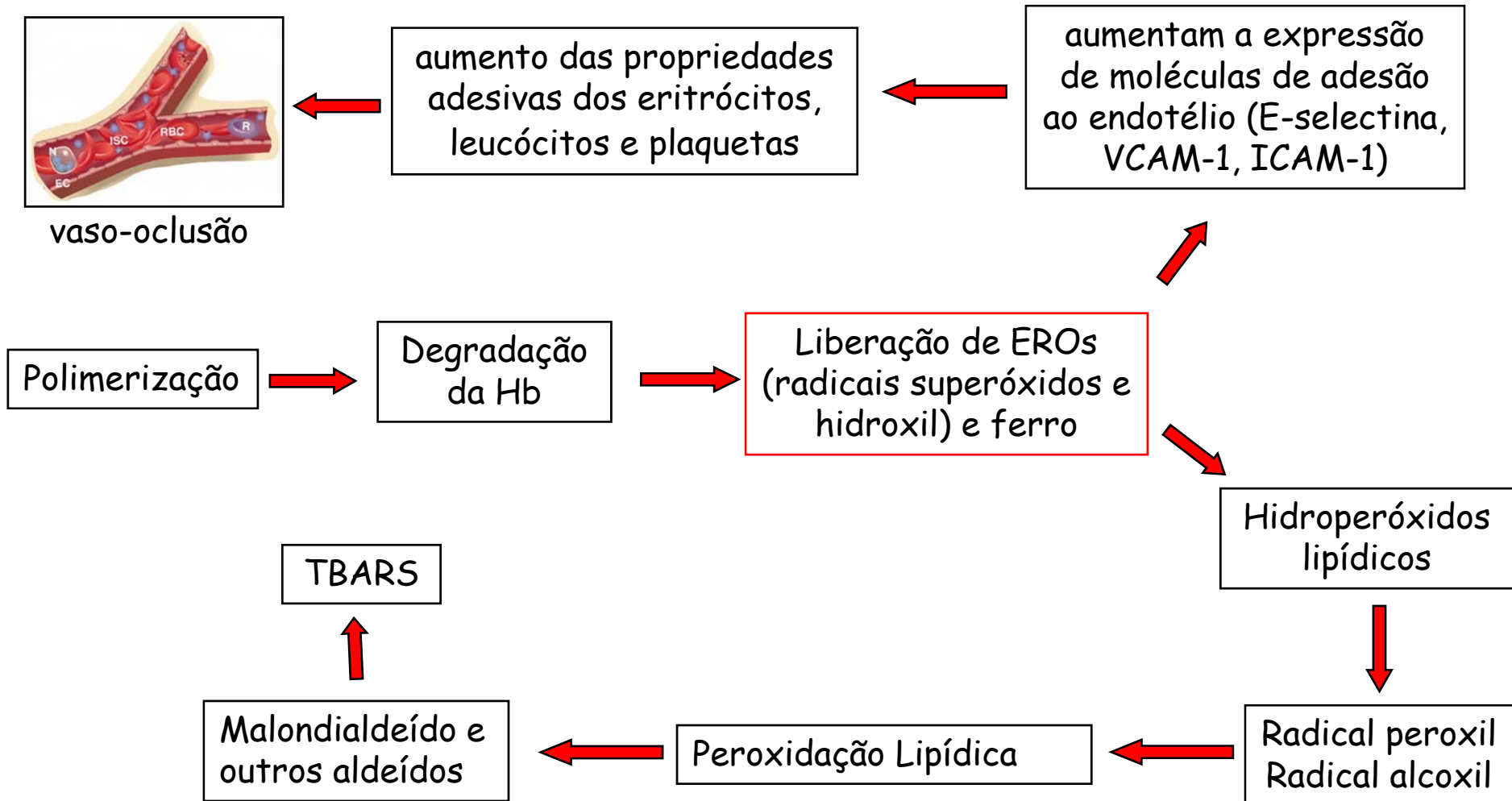
Fisiopatologia da Anemia Falciforme



- hemólise – liberação de EROs e ferro heme
- diminuição da biodisponibilidade do NO (consumo pelo Hb livre e pelas EROs)
- disfunção endotelial – vasoconstrição
- diminuição do fluxo sanguíneo

- aumento da expressão de moléculas de adesão
- induz a expressão inflamatória (↑ proteínas C reativas e IL6 e ↓ IL10)
- mediadores de coagulação
- estresse oxidativo

Estado Oxidativo na Anemia Falciforme



Objetivo

- avaliar a relação do estresse oxidativo com perfil leucocitário e o uso de medicação específica utilizada para o tratamento da anemia falciforme.

Casuística

- 35 pacientes Hemocentro da Santa Casa de São Paulo
- 81 indivíduos sem Hemoglobinopatias e com os valores normais de TBARS (0-440 ng/mL)

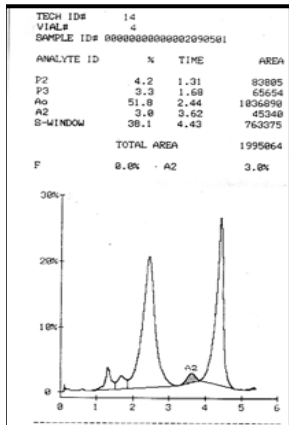


os valores de normalidade para o TEAC (2,02-2,22 mM/L)



Estudos das Hemoglobinas

- Resistência globular osmótica 0,36%
- Morfologia Eritrocitária
- Eletroforese pH alcalino
- Eletroforese pH ácido
- HPLC
- PCR-RFLP (Hb S)



Análises Bioquímicas – Estresse Oxidativo

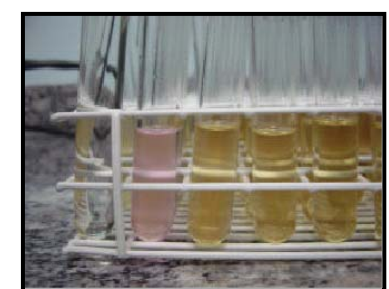
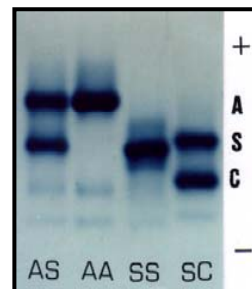
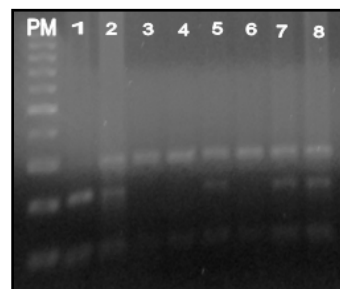
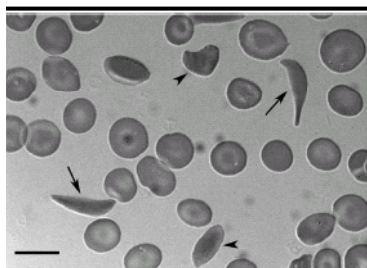
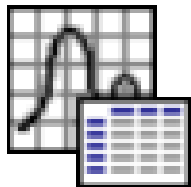
- TBARS (dosagens de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico)
- TEAC (dosagem da capacidade antioxidante equivalente ao trolox)

Perfil leucocitário

- Cell-Dyn® - modelo 3000 (Abbot Diagnostics)

Análise estatística





- Estatística 7.0



Todos os pacientes → Hb SS

Tratamento/Medicação Específica

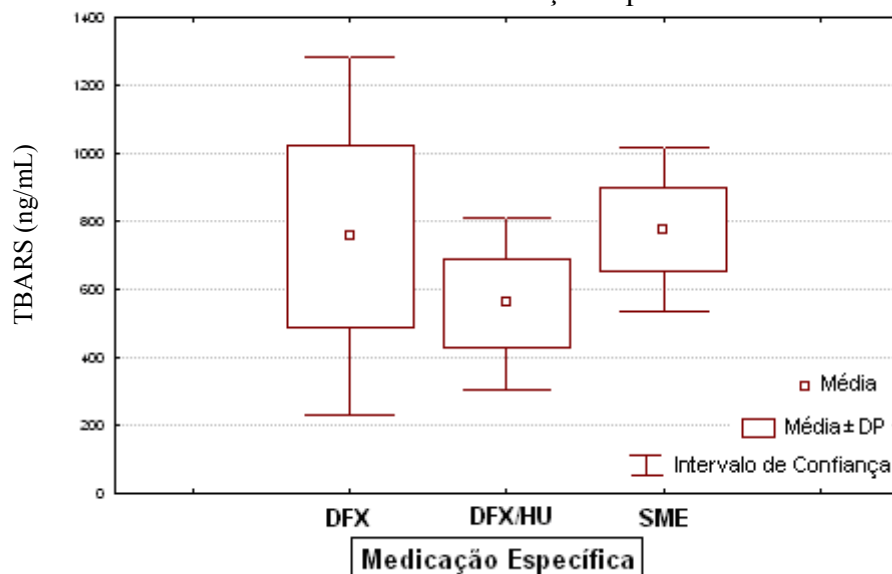
26 (74,3%) regime transfusional de hemácias

	17 (48,6%) deferasirox	→	DFX
	09 (25,7%) deferasirox e hidroxiuréia	→	DFX/HU
	07 (20,0%) sem medicação específica	→	SME
	02 (5,7%) hidroxiuréia	→	HU

Peroxidação Lipídica

Todos Pacientes = ↑ TBARS (0-440ng/mL)

Comparação dos valores de TBARS em pacientes com AF de acordo com a medicação específica



DFX: Deferasirox, HU: Hidroxiuréia, SME: Sem Medicação Específica

SME x DFX/HU x DFX ($p=0,028$)

DFX/HU < SME

HU (hidroxiuréia)

- ↑ de Hb F
- doadora de NO → impede a vasoconstrição
- ↓ expressão de moléculas de adesão
- ↓ número de Leucócitos

(HEBBEL et al., 1982; XIA et al., 1996; COVAS et al., 2004; WOOD; GRANGER, 2007; STEIBERG, 2008)

Deferasirox

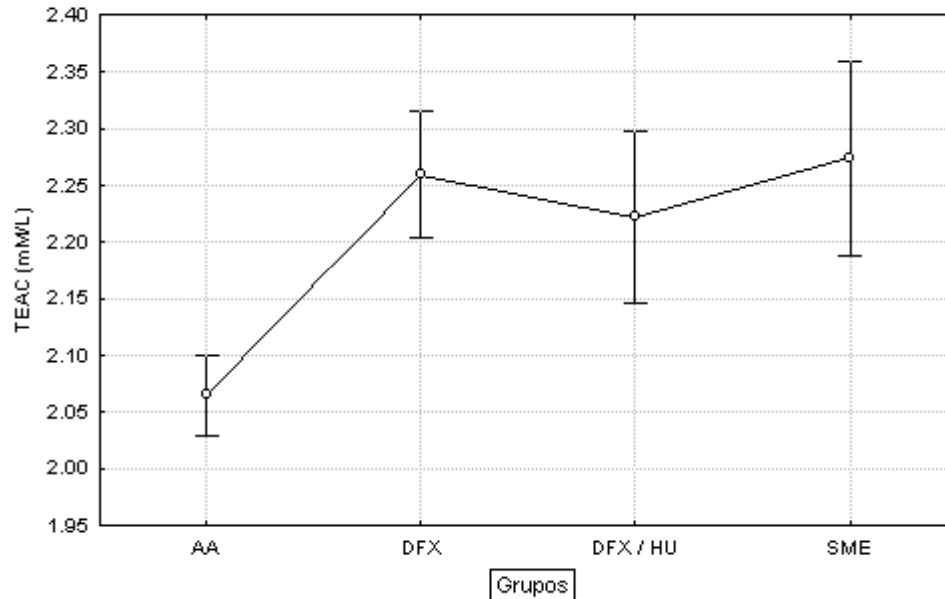
- redução de ferro tóxico (NTBI)
- eficácia ferroquelante em beta talassêmicos e DF

(XIA et al., 1996; WOOD et al., 2004; GLICKSTEIN et al, 2006)

↓
↓ liberação de EROs

↓ TBARS

Capacidade Antioxidante



AA: Normal para hemoglobinopatias, DFX: deferasirox, HU: hidroxiuréia, SME: sem medicação específica

mecanismos de defesas na Anemia Falciforme afetados

↓ **antioxidantes**

- não enzimáticos (Vit. A, C e E)
- enzimáticos (glutathione peroxidase e superóxido dismutase)

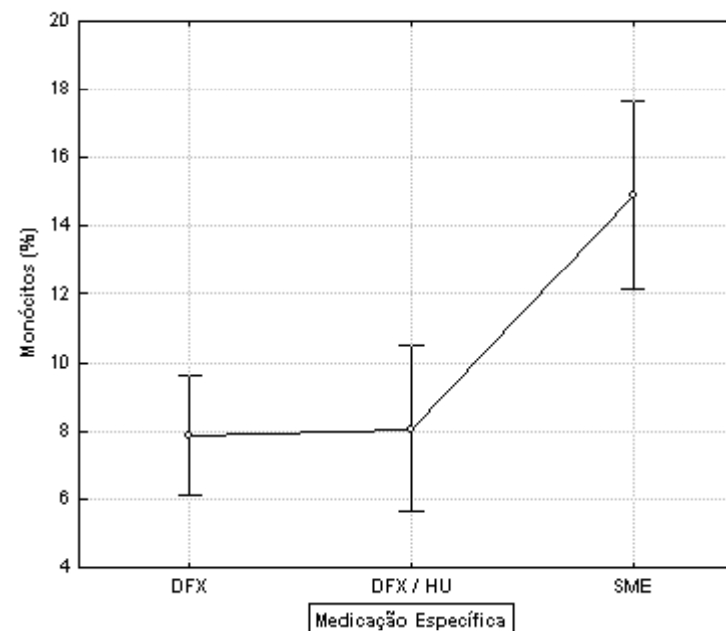
SCHACTER et al., 1988; AMER et al., 2006; MANFREDINE et al., 2008

↑ capacidade antioxidante (TEAC) → ↑ agentes pró-oxidantes

Perfil Leucocitário

Índices	DFX n=17	DFX / HU n=9	SME n=7	Valores de Referência	Valor de p
Leucócitos (10 ³ .mm ³)	10,8 ± 2,2 (7,7 – 15,6)	9,1 ± 2,7 (5,3 – 12,7)	8,3 ± 1,8 (7,2 – 10,9)	4,6 – 10,2*	p=0,114
Neutrófilos (%)	56,0 ± 8,5 (38,4 – 74,7)	54,0 ± 13,1 (33,0 – 68,8)	52,2 ± 13,0 (30,0 – 61,3)	37 – 80*	p=0,266
Linfócitos (%)	30,0 ± 8,5 (14,6 – 49,0)	28,7 ± 12,1 (23,0 – 58,0)	32,0 ± 9,6 (19,0 – 43,0)	10 – 50*	p=0,755
Monócitos (%)	7,8 ± 4,2 (2,9 – 21,0)	8,0 ± 3,2 (4,0 – 15,0)	15,2 ± 1,7 (11,8 – 16,0)	1 – 3*	p=0,003
Eosinófilos (%)	4,3 ± 3,3 (1,0 – 15,7)	4,0 ± 3,6 (1,6 – 11,4)	6,3 ± 5,2 (0,7 – 13,0)	1 – 7*	p=0,681

Dados Representados: Mediana ± Desvio Padrão (mínimo – máximo). **DFX:** Deferasirox, **HU:** Hidroxiuréia, **SME:** Sem medicação específica. **Valores de Referência:** *Hemocentro da Santa Casa de São Paulo.

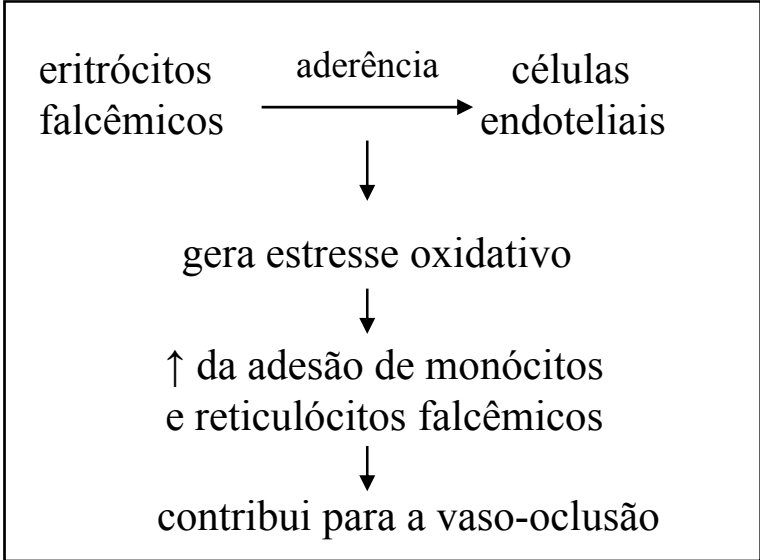


Monócitos X TBARS

Correlação linear
 $p=0,02$ $r=0,40$

↑ TBARS ↑ % de Monócitos

Sultana et al., 1998, in vitro (eritrócitos falcêmicos estimuladas por agentes oxidantes)
↑ expressão de moléculas de adesão celular (ICAM-1, E-selectina e VCAM-1).
↑ migração transendotelial de monócitos
↑ fosforilação da PECAM-1



- Aumento da peroxidação lipídica em portadores da Anemia falciforme
- A melhor resposta do tratamento/medicação específica para o estresse oxidativo foi a associação da terapia transfusional com a quelação do ferro e o uso de hidroxiuréia.
- O aumento dos monócitos pode ser explicado com o aumento dos agentes pró-oxidantes
- A capacidade antioxidante equivalente ao trolox estava aumentada nos doentes, mas não foi suficiente para neutralizar as espécies reativas de oxigênio.

Agradecimentos





**Laboratório de Hemoglobinas e Genética das Doenças Hematológicas.
Unesp/Ibilce - São José do Rio Preto-SP**

belini.unesp@yahoo.com.br