

Determinação das Propriedades Adesivas e Funcionais em Glóbulos Vermelhos, Neutrófilos e Plaquetas de Pacientes com Talassemia β Intermediária

Bezerra MAC^{1,2}, Franco-Penteado CF¹, Mello MRB¹, Gambero S¹,
Albuquerque DM¹, Lanaro C¹, Fertrin KY¹, Saad STO¹, Araújo AS², Costa FF¹

1 - Hemocentro UNICAMP
2 – Fundação HEMOPE

Talassemia β

β^+ ou β^0 : redução ou ausência da produção de cadeias β da Hb;

↓ globina β

Acúmulo das cadeias de síntese preservada;

– α em excesso → precipitação → eritropoese ineficaz e hemólise

Microcitose e hipocromia → hemoglobinizacão deficiente das hemácias.

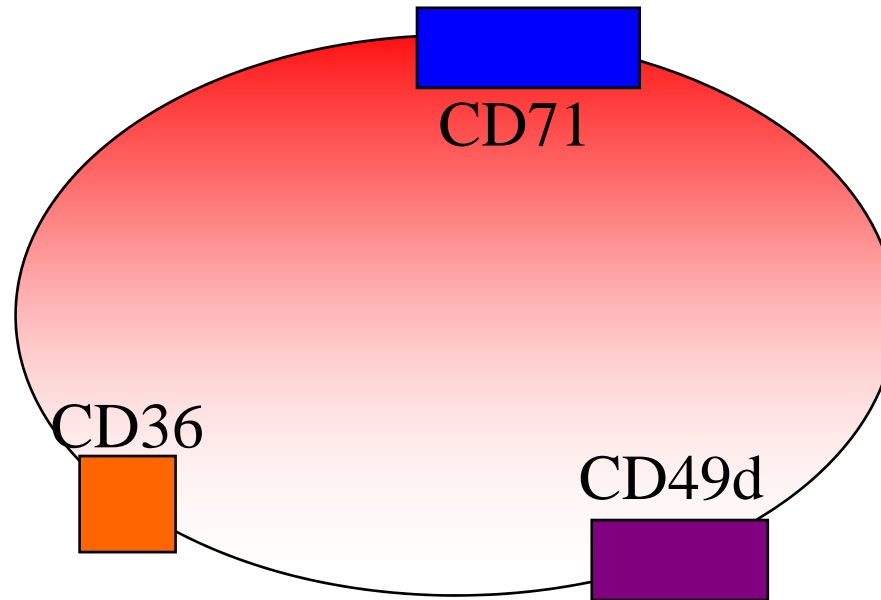
Talassemia β Intermediária

- ✓ Anemia moderada;
- ✓ Necessidade transfusional esporádica;
- ✓ Quadro clínico característico.

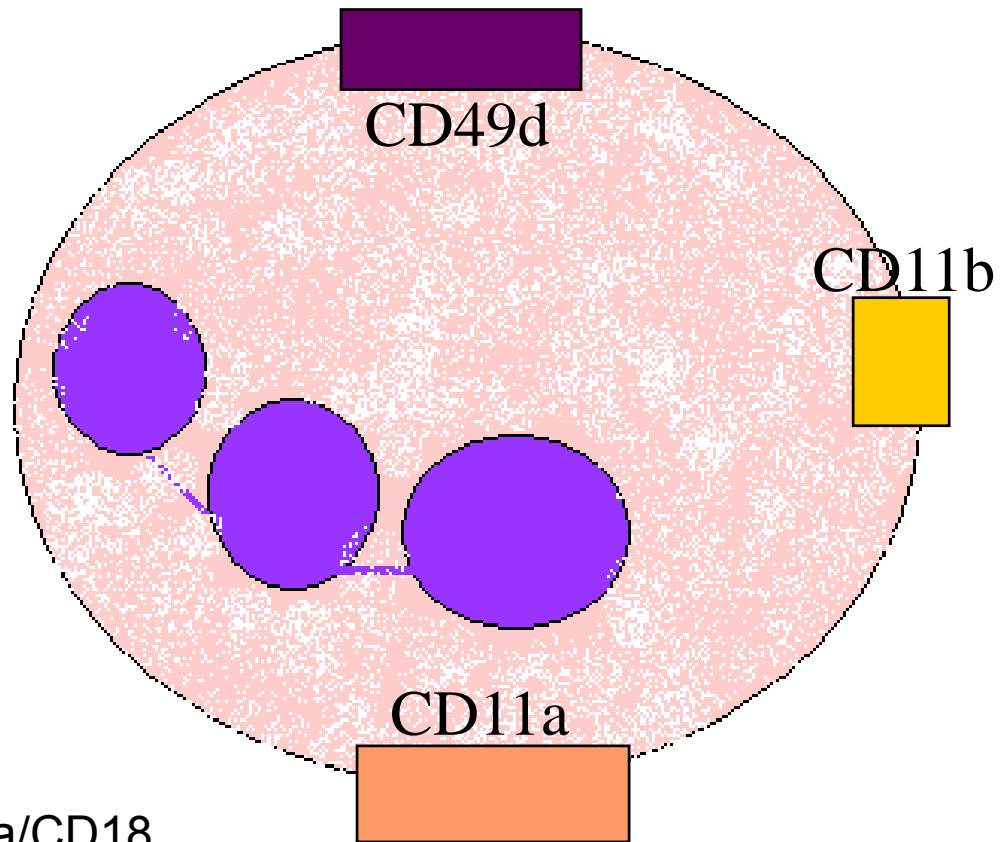
- ✓ A mutação IVS-I-6 (T→C) resulta em talassemia β^{+Leve} com níveis relativamente elevados de produção de RNAm normal;
- ✓ Homozigotos costumam apresentar quadro clínico compatível com talassemia β intermediária (TI);

- ✓ Estudos sugerem que espécies reativas de oxigênio (ROS) em hemácias estão significativamente aumentadas na talassemia β maior, no entanto poucos estudos avaliaram essas alterações na TI.
- ✓ Não há relatos sobre as propriedades adesivas e quimiotáticas de células de pacientes com talassemia intermediária.
- ✓ Estudos das citocinas inflamatórias na talassemia têm apresentado resultados controversos.

Moléculas de Adesão



Moléculas de Adesão



LFA-1: CD11a/CD18

Mac-1: CD11b/CD18

VLA-4: CD49b/CD29

Objetivo

- ✓ Avaliar a capacidade adesiva de células vermelhas, neutrófilos e plaquetas, quimiotaxia dos neutrófilos, as citocinas inflamatórias e o *stress* oxidativo na talassemia β intermediária

Casuística e Métodos

Casuística

Participaram deste estudo:

- ✓ **Controles AA (n ≤ 20)**
- ✓ **β TI IVS-I-6 (T→C) Homozigotos (n ≤ 20)**

- ✓ Pacientes ambulatoriais;
- ✓ sem transfusão por pelo menos 3 meses;
- ✓ sem terapia com Hidroxiureia.

- ✓ Este trabalho teve aprovação do comitê de ética e CONEP

Material e Métodos

- ✓ Separação de neutrófilos, hemácias e plaquetas do sangue periférico de pacientes e controles (AA).
- ✓ Quimiotaxia de neutrófilos por sistema ChemoTx
- ✓ Adesão basal das células por ensaio de adesão estática.
- ✓ Citometria de fluxo:
 - ✓ expressão de proteínas de superfície das moléculas de adesão
 - ✓ produção de ROS com DCFH-DA
- ✓ atividade enzimática da SOD - kit comercial colorimétrico
- ✓ Dosagem plasmática de citocinas inflamatórias (IL-1 β , IL-6, IL-8 e TNF- α) por kit comercial de ELISA

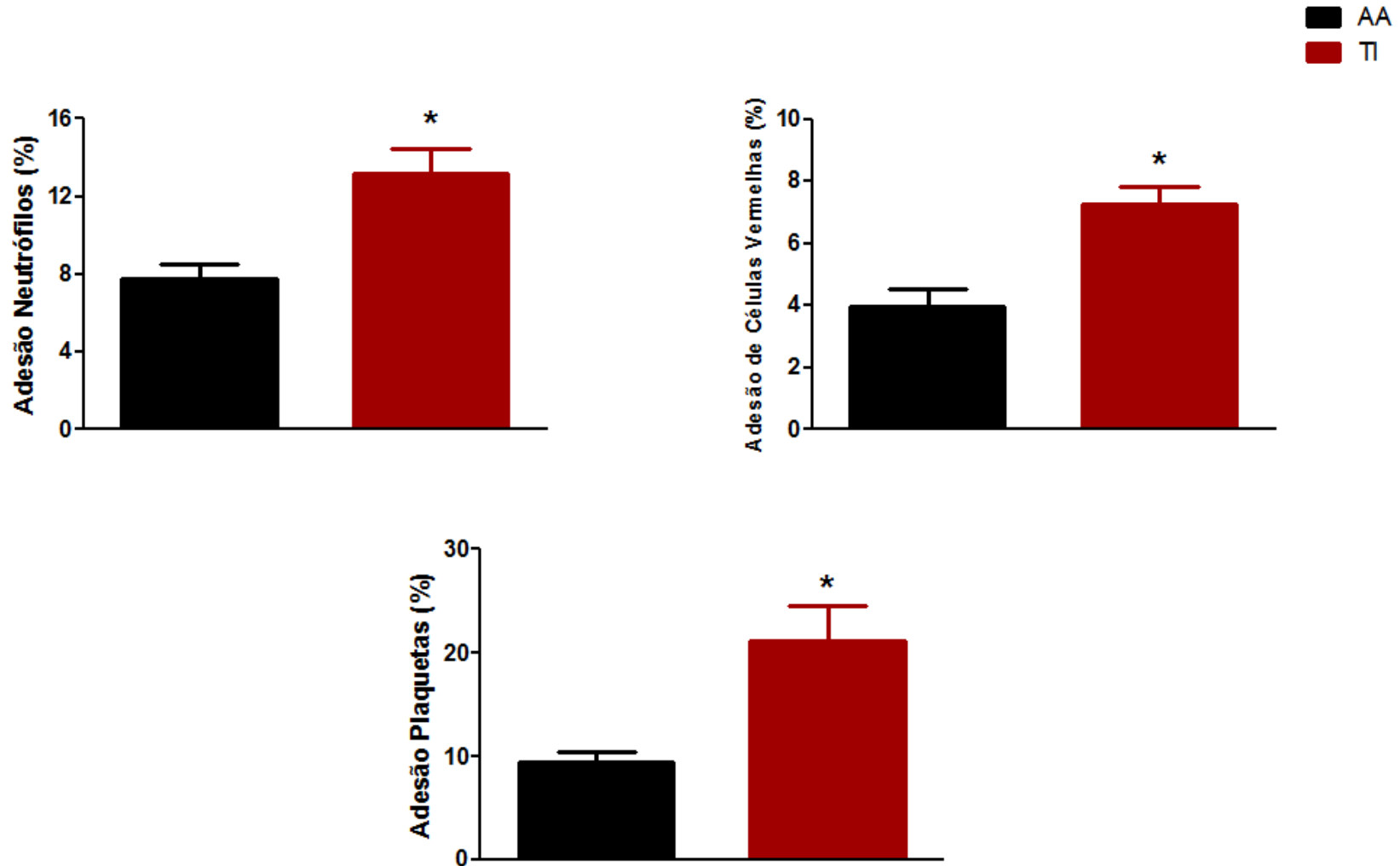
Resultados e Discussão

Dados demográficos e hematológicos dos pacientes

Dados	TI (n=20)
Sexo	8 H / 12 M
Idades (anos)	40,9 (18 – 60)
RBC (10^6mm^3)	3,91 (3,17 - 4,95)
Hb (g/dL)	7,6 (6,8 - 8,9)
VCM (fL)	66,7 (50,6 - 76,0)
Ret (%)	8,2 (2,5 - 15,0)
HbF (%)	10,9 (3,9 - 20,8)
HbA (%)	83,0 (72,1 - 89,5)
HbA ₂ (%)	7,1 (5,6 - 8,7)

Os valores estão expressos como média (valor mínimo – valor máximo)

Adesão dos Neutrófilos, Células Vermelhas e Plaquetas



* P<0,05 comparado com AA

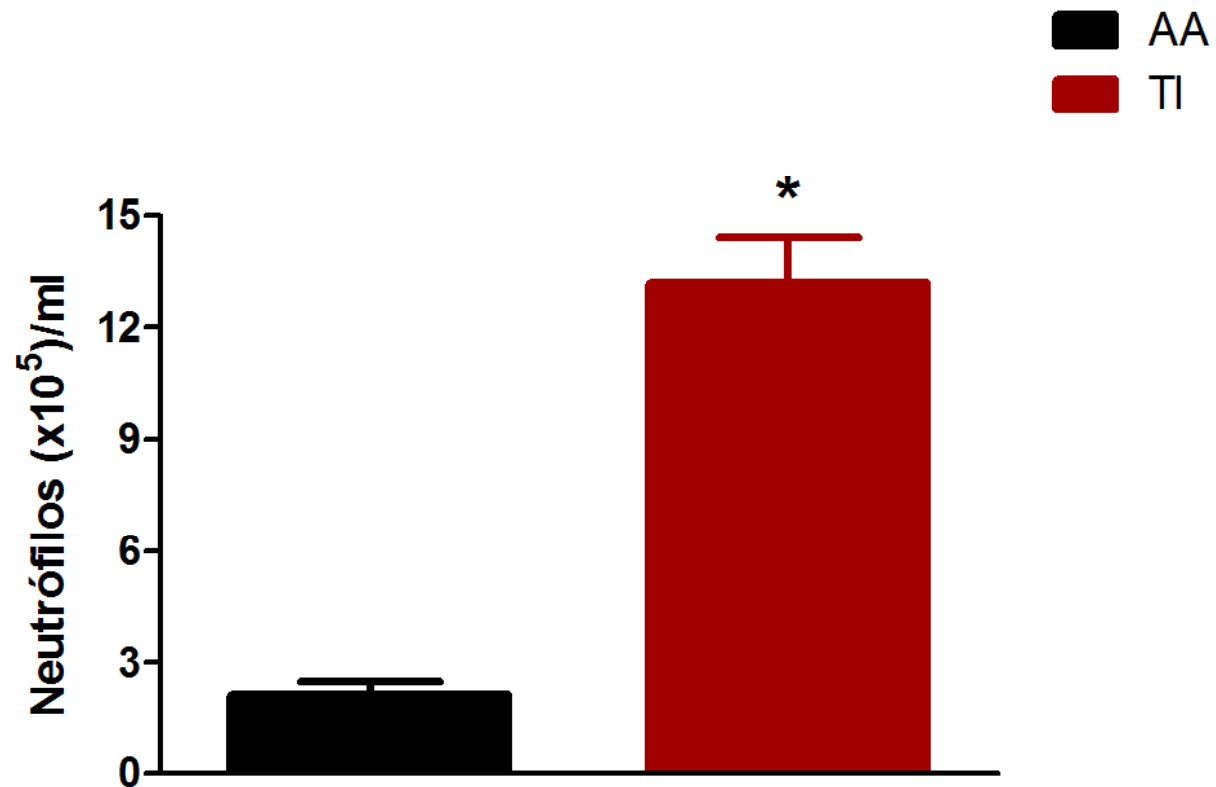
Expressão das Moléculas de Adesão nos Neutrófilos

- ✓ Não observamos diferença significativa no percentual de células positivas para as integrinas CD11a e CD11b em neutrófilos;
- ✓ Houve um aumento significativo da expressão CD49d em neutrófilos de TI quando comparado com o grupo AA ($4,9 \pm 0,7\%$ vs $2,3 \pm 0,5\%$; $p=0,013$).

Expressão das Moléculas de Adesão nas Células Vermelhas

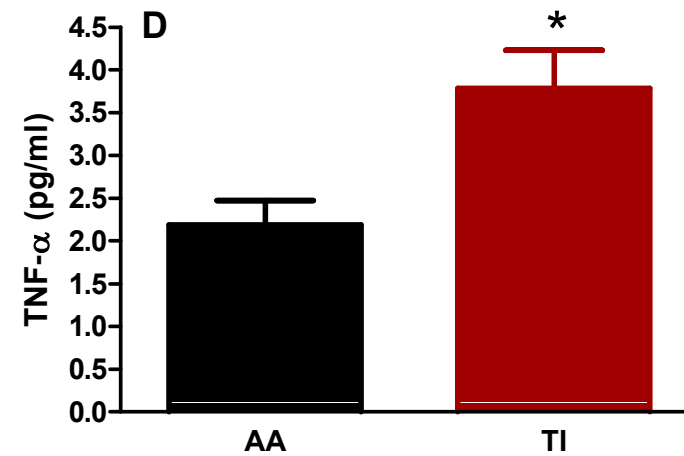
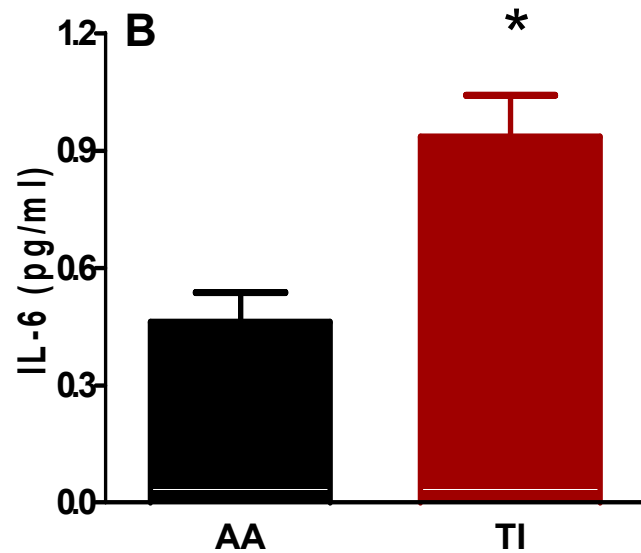
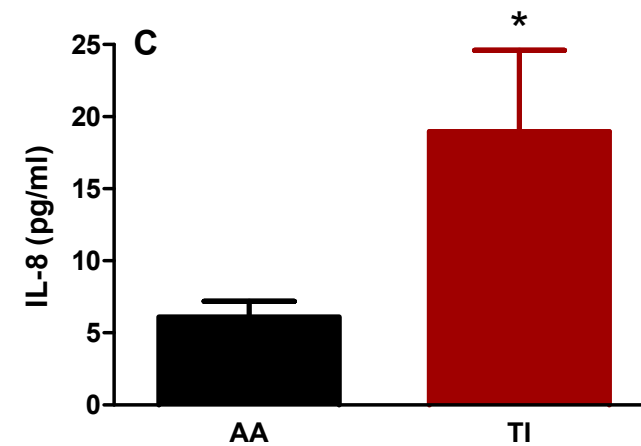
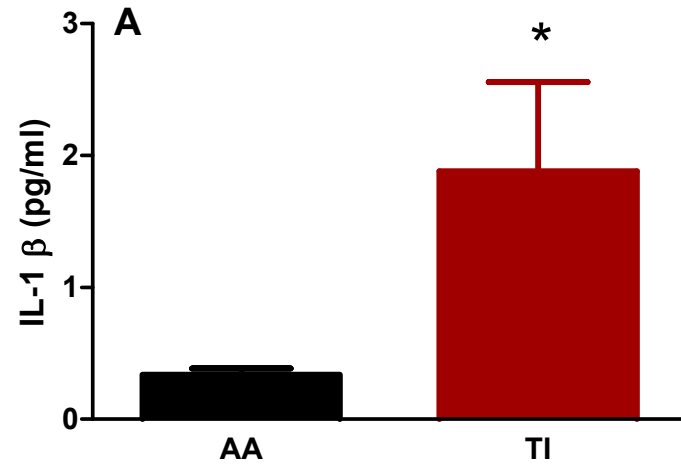
	CD36	CD49d	CD71	p
TI	10,9 ± 1,8%	1,4 ± 0,3%	14,3 ± 1,8%	<0,05
AA	0,6 ± 0,1%	0,13 ± 0,02%	1,9 ± 0,4%	

Quimiotaxia dos Neutrófilos



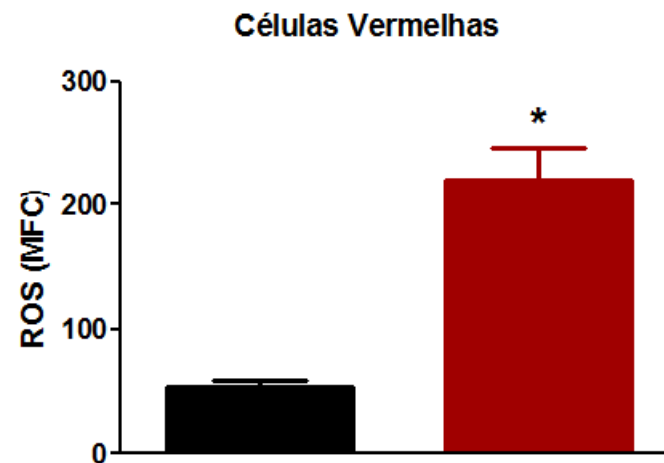
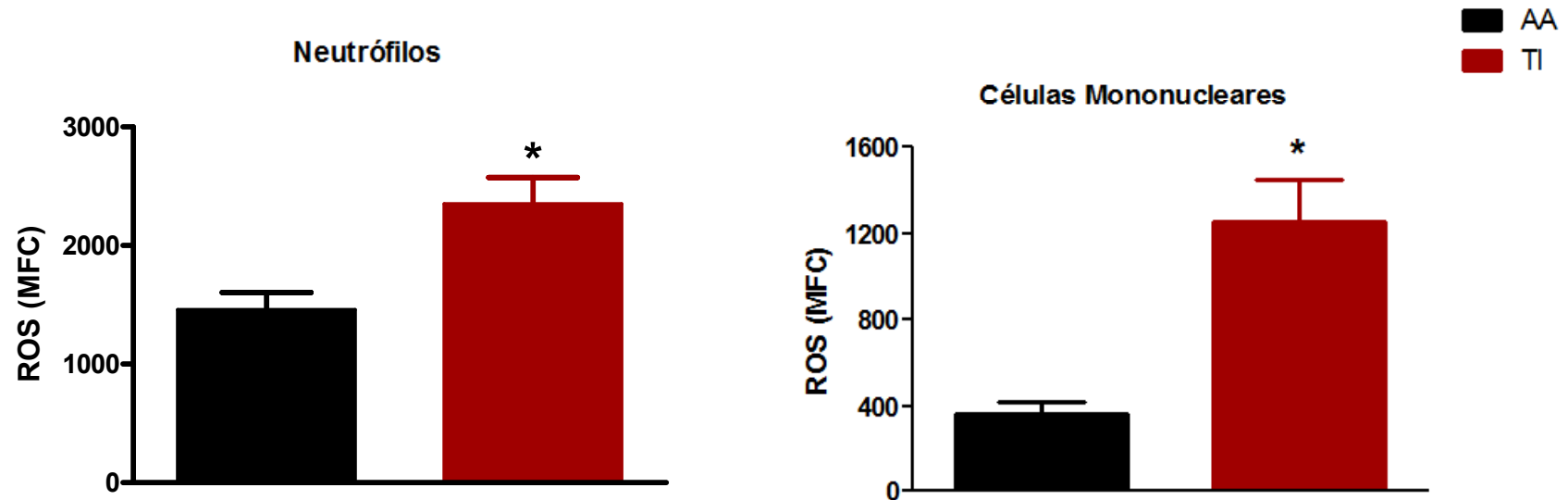
* $P < 0,05$ comparado com AA

Dosagem dos Níveis Plasmáticos das Citocinas



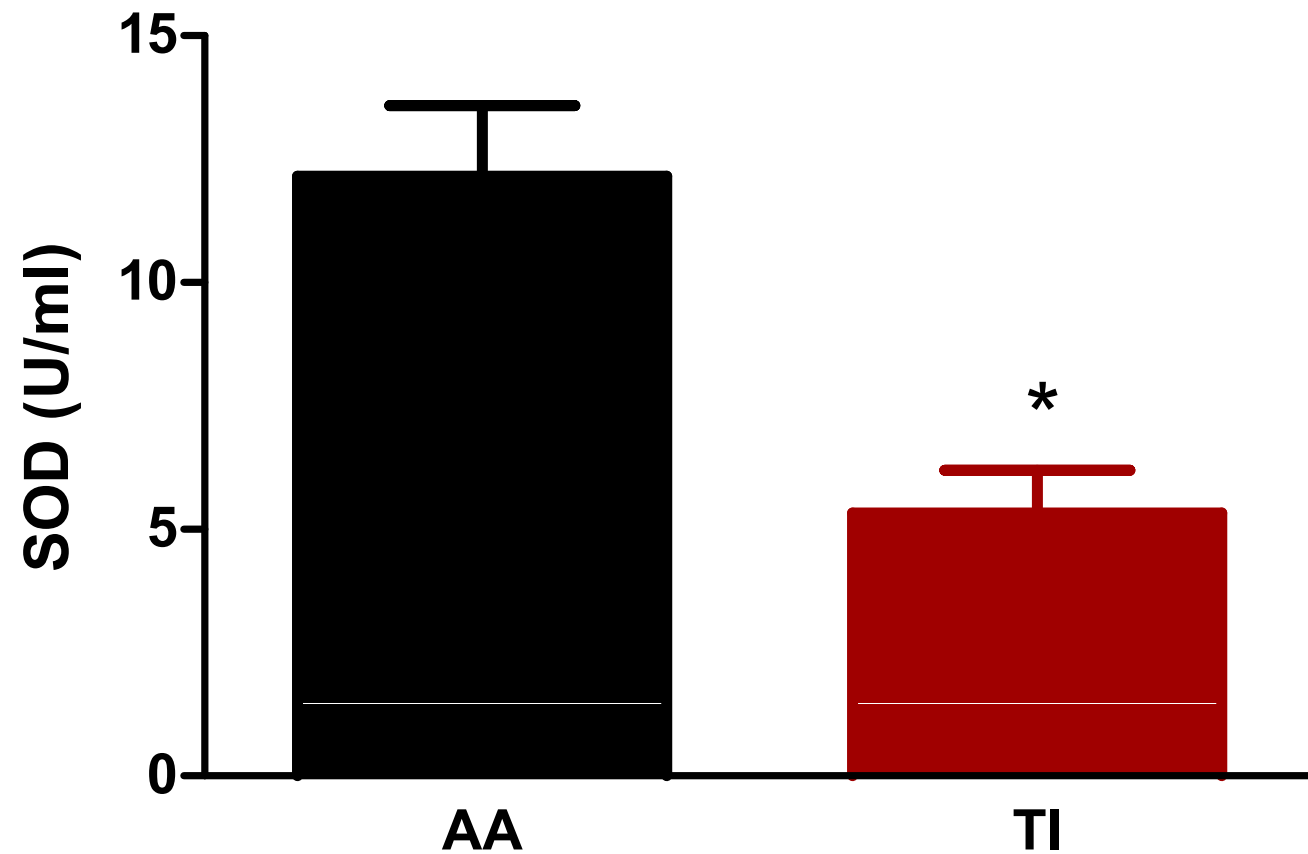
* P<0,05 comparado com AA

Produção de ROS em Neutrófilos, Células Mononucleares e Células Vermelhas



* P<0,05 comparado com AA

Atividade Enzimática de SOD no Plasma



* P<0,05 comparado com AA

Conclusões

- ✓ Trata-se da primeira avaliação completa das propriedades adesivas e quimiotáticas de neutrófilos, células vermelhas e plaquetas, em pacientes com TI sem transfusão;
- ✓ O aumento global nos níveis das citocinas sugere que, na TI, há um processo inflamatório crônico que pode estar envolvido no aumento da adesão e quimiotaxia celular;

Conclusões

- ✓ Podemos admitir a possibilidade de que a sobrecarga de ferro que pacientes com TI apresentam esteja contribuindo para o aumento da produção de ROS e, portanto, para o aumento das propriedades adesivas e quimiotáticas das células;
- ✓ É possível que o aumento da aderência, da capacidade quimiotática, da produção de ROS, das citocinas e diminuição do mecanismo antioxidante, observados neste estudo, contribuam nas complicações clínicas encontradas na β -TI, tais como hipertensão pulmonar e úlceras de perna.

Agradecimentos

Dr. Fernando F. Costa

Dr. Aderson Araujo

Dra. Carolina Lanaro

Dra. Carla Penteado

Dra. Dulcinéia Albuquerque

Dr. Kleber Fertrin

Msc. Mariana Mello

Msc. Sheley Gambero

