



## Anemia de células falciformes: avaliação da hemoglobina fetal num grupo de crianças angolanas antes e após tratamento com hidroxiureia

*Sickle cell anemia: assessment of fetal hemoglobin in a group of Angolan children before and after treatment with hydroxyurea*

Priscilla Almeida<sup>1</sup>, Alcina Costa<sup>2</sup>, Filomena Seuanes<sup>2</sup>, Raquel Romão<sup>2</sup>, Miguel Brito<sup>3,4</sup>, Isabel Moreira da Silva<sup>1,5</sup>, Armandina Miranda<sup>2</sup>

armandina.miranda@insa.min-saude.pt

(1) Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

(2) Unidade de Diagnóstico Laboratorial e Referência. Departamento de Promoção da Saúde e Prevenção de Doenças Não Transmissíveis, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

(3) Health & Technology Research Center. Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Lisboa, Lisboa, Portugal

(4) Centro de Investigação em Saúde de Angola, Caxito, Angola

(5) Research Institute for Medicines. Faculdade de Farmácia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

### \_Resumo

A anemia de células falciformes (ACF) é uma doença hereditária autossómica recessiva caracterizada pela presença do alelo de HbS em homozigotia. O fenótipo clínico é modulado por vários fatores, salientando-se o nível de expressão da HbF. A hidroxiureia (HU) é utilizada no tratamento da ACF e os seus efeitos biológicos incluem o aumento da HbF.

O objetivo deste trabalho foi analisar os níveis de HbF, antes e após 6 e 12 meses de tratamento com HU, na população em estudo, para avaliar a eficácia do fármaco.

Avaliaram-se 36 crianças angolanas com ACF (média de idade de 7 anos). A HbF foi determinada por HPLC e os resultados tratados estatisticamente. A média da HbF nas 36 crianças foi de 6,3% no pré-tratamento, 14,7% após 6 meses e 12,9% após 12 meses de tratamento. Os níveis de HbF após 6 meses de tratamento duplicaram em 47,2% dos doentes, cerca de 50% adquiriram um nível de HbF entre 10% e 20% e 22,2% obtiveram níveis de HbF  $\geq 20\%$ . Após 12 meses de tratamento verificou-se uma estabilização ou ligeira diminuição da HbF.

Conclui-se que a HU foi um fármaco eficaz na elevação da HbF, podendo contribuir positivamente para o tratamento da ACF na população em estudo.

### \_Abstract

*Sickle cell anemia (SCA) is an autosomal recessive hereditary disease characterized by the presence of the HbS allele in homozygosity. Its clinical phenotype is modulated by several factors, with emphasis on the level of HbF expression. Hydroxyurea (HU) is used in the treatment of ACF because its biological effects include an increase in HbF.*

*The objective of this work was to analyse the levels of HbF, before and after 6 and 12 months of treatment with HU, in the study population, to evaluate the effectiveness of the drug.*

*A study was carried out with 36 Angolan children with ACF (mean age was 7 years). HbF was determined by HPLC and the results were treated statistically.*

*Mean HbF in the 36 children was 6.3% pre-treatment, 14.7% after 6 months and 12.9% after 12 months of treatment. HbF levels after 6 months of treatment doubled in 47.2% of patients, about 50% acquired an HbF level between 10% and 20% and 22.2% achieved HbF levels  $\geq 20\%$ . After 12 months of treatment there was a stabilization or slight decrease in HbF levels. In conclusion, HU was an effective drug in raising HbF levels and can contribute positively to the treatment of ACF in the study population.*

### \_Introdução

A anemia de células falciformes (ACF) resulta de uma mutação pontual no gene da  $\beta$ -globina, responsável pela substituição do aminoácido ácido glutâmico por valina na cadeia da  $\beta$ -globina, o que gera uma Hb anormal denominada HbS. O evento primário da patogénese da ACF é a polimerização da HbS que ocorre quando desoxigenada, resultando na distorção do glóbulo vermelho (GV) e na diminuição da sua flexibilidade. A sua fisiopatologia resulta direta ou indiretamente da obstrução vascular devida à presença de células falciformes, com consequente enfarte tecidual. A diversidade fenotípica, decorrente de fatores ambientais e genéticos, é patognomónica da doença. É uma patologia multissistémica com complicações agudas e crónicas que se manifestam quando a HbF, após o nascimento, diminui para o nível normal do adulto. Os cuidados abrangentes incluem profilaxia com antibiótico, terapia com hidroxiureia (HU), outras terapias preventivas e de promoção da saúde (1,2).



artigos breves\_ n. 3

Nos doentes com ACF, a concentração de HbF varia de 0,5% a 30%, com uma média de aproximadamente 8%. A persistência de níveis elevados de HbF nos doentes com síndromes falciformes, após os 6 meses de idade, pode conferir-lhes grandes benefícios clínicos (3,4). A HbF é um inibidor da polimerização da HbS, evitando a falciformação do GV e melhorando o quadro clínico dos doentes (5).

A HU é, atualmente, o principal medicamento usado no tratamento de doentes com ACF. Melhora o curso clínico da doença, aumentando progressivamente os níveis de HbF e reduzindo a concentração de HbS, limitando assim os seus efeitos deletérios (6).

O mecanismo pelo qual a HU aumenta a síntese de HbF é incerto. Acredita-se que envolva a supressão da proliferação de precursores eritroides que expressam a HbS e que, de modo compensatório, o organismo passe a estimular células produtoras de HbF para manter a produção dos GVs. A HU também reduz a expressão de moléculas de adesão e ainda suprime a produção de leucócitos e plaquetas. Todas estas ações parecem ser benéficas no tratamento da ACF (7-9). É um fármaco barato, administrado por via oral, aumenta a HbF e a Hb total, atua em todas as faixas etárias, previne eventos agudos e disfunção orgânica crónica, não possui toxicidades importantes e ainda apresenta amplo índice terapêutico (10).

### \_Objetivos

Avaliar os níveis de HbF antes e após 6 e 12 meses de tratamento com hidroxiureia, numa população de 36 crianças angolanas, para avaliar a eficácia do fármaco.

### \_Materiais e métodos

A amostra populacional consistiu em 36 crianças angolanas com ACF, 19 do género feminino e 17 do género masculino, com idades entre os 3 e 11 anos, estudadas no Hospital Pediátrico David Bernardino e no Centro de Investigação em Saúde de Angola (CISA) no Hospital Geral do Bengo. Consideraram-se como critérios de elegibilidade a não existência de tratamento com HU ou terapia de transfusão sanguínea nos três meses que antecederam a colheita das amostras.

A amostra biológica utilizada foi sangue hemolisado. Os níveis de HbF foram quantificados por HPLC de troca iónica (*Variant II Short Programm, Biorad*) antes e após 6 e 12 meses de tratamento com HU. Esta população foi ainda agrupada por género e classes etárias, de 3 a 7 e de 8 a 11 anos.

Os testes estatísticos foram realizados nos *softwares* IBM SPSS 20.0 e JAMOVI. Para avaliar a normalidade da distribuição dos dados foram executados os testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk. Os resultados foram avaliados pelos testes t de Student, t Independente, teste de Wilcoxon e teste de Mann-Whitney. O nível de significância considerado no estudo foi de  $p < 0,05$ .

### \_Resultados e discussão

A avaliação da normalidade da distribuição dos dados foi feita através dos testes Kolmogorov-Smirnov e Shapiro-Wilk, tendo-se verificado que a % de HbF possui distribuição normal no pós-tratamento (6 e 12 meses), não se verificando no pré-tratamento ( $p < 0,05$ ).

Os 36 doentes avaliados apresentaram uma média de HbF pré-tratamento de 6,3% (mínimo=1,2% e máximo=14,6%). A média do nível de HbF, após 6 e 12 meses de tratamento, subiu para 14,7% (mínimo=3,2% e máximo=26,2%) e 12,9% (mínimo=4,2% e máximo = 23,5%), respetivamente ([tabela 1](#) e [gráfico 1](#)).

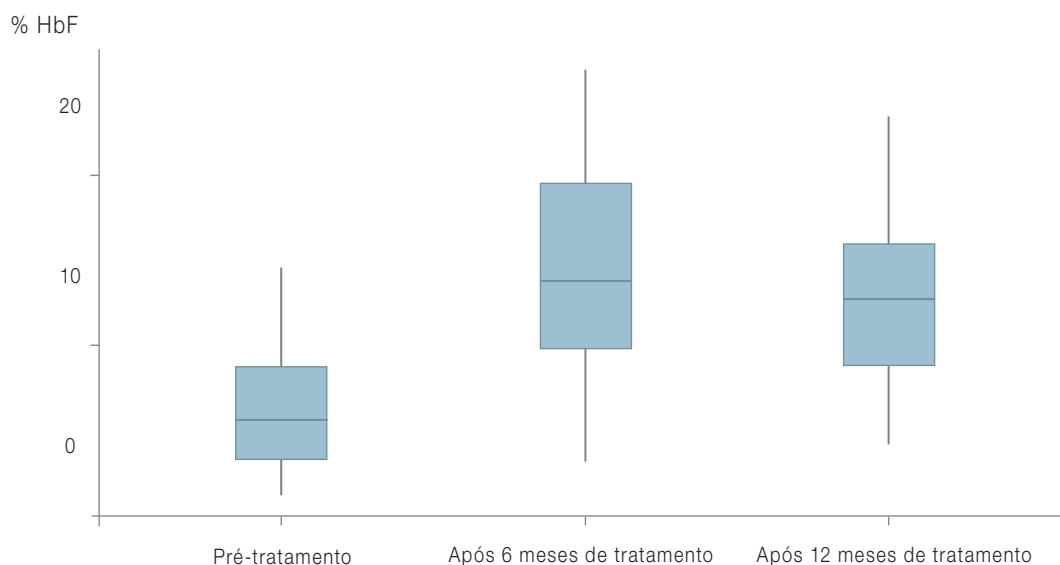
O teste t de Student e o teste de Wilcoxon mostraram que há uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de HbF antes e após 6 e 12 meses de tratamento com HU ( $p = 0,0001$ ).

Tabela 1: Média, mediana, mínimo, máximo e desvio padrão da percentagem de HbF antes e após 6 e 12 meses de tratamento com hidroxiureia (HU), nas 36 crianças com anemia de células falciformes em estudo.

%HbF	Total (n=36)			Feminino (n=19)			Masculino (n=17)			3 a 7 anos (n=24)			8 a 11 anos (n=12)		
	0M*	6M	12M	0M	6M	12M	0M	6M	12M	0M	6M	12M	0M	6M	12M
Média	6,3	14,7	12,9	6,8	14,2	12,4	5,6	15,2	13,6	6,7	15,3	13,8	5,3	13,5	11,2
Mediana	5,6	13,8	12,7	6,0	12,8	12,0	5,5	15,2	14,0	6,6	15,4	13,8	3,6	12,9	11,7
Mínimo	1,2	3,2	4,2	1,2	3,2	4,2	1,3	4,8	4,5	1,2	3,2	4,2	1,5	4,8	4,5
Máximo	14,6	26,2	23,5	14,6	26,2	23,5	12,0	25,2	23,3	14,6	26,2	23,5	13,3	25,8	17,1
Desvio-padrão	3,83	6,05	5,26	4,1	6,1	5,3	3,5	6,1	5,3	3,7	6,5	5,7	4,1	5,1	3,9

\* M - Meses de tratamento com HU

Gráfico 1: Percentagem de HbF nas 36 crianças com anemia de células falciformes em estudo, antes e após 6 e 12 meses de tratamento com hidroxiureia (HU).





Após 12 meses de tratamento, houve uma redução do nível de HbF em relação aos 6 meses de tratamento ( $p=0,001$ ), parecendo demonstrar que a indução de HbF pela HU foi mais significativa nos primeiros 6 meses de tratamento.

Os testes de Mann-Whitney e Teste t Independente mostraram que as variáveis género ( $p=0,375$ ) e idade ( $p=0,190$ ) não influenciaram significativamente o nível percentual de HbF quer no pré-tratamento quer após 6 ( $p=0,621$ ) e 12 meses de tratamento ( $p=0,492$ ). Apesar de não se terem encontrado diferenças estatisticamente significativas entre os géneros ou os grupos etários, deve-se considerar o efeito da limitação do tamanho da amostra no poder estatístico do estudo.

Os níveis de HbF após 6 meses de tratamento duplicaram em 47,2% dos doentes, cerca de 50% adquiriram um nível de HbF entre 10% e 20% e 22,2% obtiveram níveis de HbF  $\geq 20\%$ .

O papel da HbF no fenótipo clínico da ACF encontra-se descrito como de algum modo variável, uma vez que mesmo níveis próximos de 20% podem ser encontrados em indivíduos com doença grave. Contudo, o limite para redução significativa de episódios agudos de dor, síndromes torácicas e priapismo é de 20% e, para danos a órgãos de 10% (11).

Houve diferença significativa entre os grupos estudados ( $p<0,05$ ), de acordo com os testes t de Student e Wilcoxon.

## Conclusões

Os resultados revelaram que a hidroxiureia (HU) foi um fármaco eficaz na elevação dos níveis de HbF nas 36 crianças angolanas com anemia de células falciformes (ACF) nos primeiros 6 meses de tratamento, verificando-se uma estabilização ou ligeira diminuição aos 12 meses.

A HU pode melhorar as manifestações clínicas da ACF pela sua capacidade de induzir a síntese de HbF, reduzindo a mortalidade e morbidade da doença e melhorando a qualidade de vida destes doentes.

## Referências bibliográficas:

- (1) Kato GJ, Piel FB, Reid CD, et al. Sickle cell disease. Nat Rev Dis Primers. 2018 Mar 15;4:18010. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
- (2) Inusa BPD, Hsu LL, Kohli N, Patel A, et al. Sickle Cell Disease-Genetics, Pathophysiology, Clinical Presentation and Treatment. Int J Neonatal Screen. 2019 May 7;5(2):20. <https://doi.org/10.3390/ijns5020020>
- (3) Gualandro, SFM. A associação anemia falciforme e hemoglobina fetal. Rev Bras Hematol Hemoter. 2009;31(6):403-404. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842009000600003>
- (4) Higgs DR, Wood WG. Genetic complexity in sickle cell disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Aug 19;105(33):11595-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806633105>
- (5) Ribeiro, RCM, Cardoso, GL, Sousa, IEL, et al. Importância da avaliação da hemoglobina fetal na clínica da anemia falciforme. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008;30(2):136-41. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842008000200012>
- (6) Nader E, Grau M, Fort R, et al. Hydroxyurea therapy modulates sickle cell anemia red blood cell physiology: Impact on RBC deformability, oxidative stress, nitrite levels and nitric oxide synthase signalling pathway. Nitric Oxide. 2018 Dec 1;81:28-35. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2018.10.003>
- (7) Brunton, L ; Chabner B, Knollmann B (eds.). Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 12th ed. New York : McGraw Hill Medical, c. 2011.
- (8) Golan DE ; Tashjian AH, Armstrong EJ (eds). Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy. 3rd. ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, c2012.
- (9) Schechter AN. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. Blood. 2008 Nov 15;112(10):3927-38. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-078188>
- (10) Agrawal RK, Patel RK, Shah V, et al. Hydroxyurea in sickle cell disease: drug review. Indian J Hematol Blood Transfus. 2014 Jun;30(2):91-6. Epub 2013 May 24. <https://doi.org/10.1007/s12288-013-0261-4>
- (11) Antwi-Boasiako C, Frimpong E, Ababio GK, et al. Sickle Cell Disease: Reappraisal of the Role of Foetal Haemoglobin Levels in the Frequency of Vaso-Occlusive Crisis. Ghana Med J. 2015 Jun;49(2):102-6. <https://doi.org/10.4314/gmj.v49i2.7>