



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**GABRIELA ARAUJO DE ABREU**

**ENVOLVIMENTO DE MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL ÓSSEO  
COM PARÂMETROS DE HEMÓLISE, FUNÇÃO RENAL E INFLAMAÇÃO EM  
PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME**

**FORTALEZA**

**2023**

GABRIELA ARAUJO DE ABREU

ENVOLVIMENTO DE MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL ÓSSEO COM  
PARÂMETROS DE HEMÓLISE, FUNÇÃO RENAL E INFLAMAÇÃO EM  
PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas. Linha de pesquisa: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Orientadora: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes  
Co-orientador: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- A145e Abreu, Gabriela Araujo de.  
Envolvimento de marcadores do metabolismo mineral ósseo com parâmetros de hemólise, inflamação e função renal em pacientes com anemia falciforme / Gabriela Araujo de Abreu. – 2023.  
75 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Fortaleza, 2023.  
Orientação: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.  
Coorientação: Prof. Dr. Tiago Lima Sampaio.
1. Anemia Falciforme. 2. Testes de Função Renal. 3. Distúrbios do Metabolismo do Fósforo. 4. Biomarcadores. 5. Hidroxiureia. I. Título.

GABRIELA ARAUJO DE ABREU

ENVOLVIMENTO DE MARCADORES DO METABOLISMO MINERAL ÓSSEO COM  
PARÂMETROS DE HEMÓLISE, FUNÇÃO RENAL E INFLAMAÇÃO EM  
PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestra. Área de concentração: Ciências Farmacêuticas. Linha de pesquisa: Farmácia Clínica e Vigilância Sanitária.

Aprovado em 06/04/2023.

BANCA EXAMINADORA

---

Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Arlandia Cristina Lima Nobre de Morais  
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

---

Profa. Dra. Marilda de Souza Gonçalves  
Universidade Federal da Bahia (UFBA)

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Aos meus pais Rosa e Fernando pelo apoio incondicional, amor e carinho que me dedicam.

Aos meus padrinhos Maria Eddy e Leledo pelo incentivo e apoio.

Às minhas primas/irmãs Ana Maria, Ana Cristina, Ana Claudia e Ana Carla pelos conselhos sobre a vida e a pós-graduação.

Aos professores Romélia Pinheiro e Tiago Sampaio por terem me guiado com paciência e dedicação, me incentivando mesmo quando o planejado não dava certo.

Aos colegas do Laboratório de Hemoglobinopatias e Genética de Doenças Hematológicas pelo companheirismo durante todas as etapas desta pesquisa.

A todos do Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica pela disponibilidade em ajudar nas análises e pelas palavras de incentivo.

Aos profissionais do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas por me tirar muitas dúvidas e auxiliar na execução das análises.

Às equipes do Setor de Ensino e Pesquisa, do Posto de Coleta de Sangue, do Ambulatório de Hemoglobinopatias e do Setor de Doação de Sangue do HEMOCE e do Ambulatório de Anemias do HUWC, que me acolheram e me auxiliaram na execução desta pesquisa com uma boa vontade encantadora.

Aos participantes da pesquisa, em especial aos pacientes com anemia falciforme, que tão gentilmente se voluntariaram e possibilitaram tudo isso.

## RESUMO

A anemia falciforme (AF) é caracterizada por crises vaso-oclusivas, hemólise, inflamação crônica e complicações como a nefropatia. Esta tem como consequências o aumento da reabsorção tubular de fósforo e a redução da ativação da vitamina D. Há alto gasto energético e absorção inadequada de nutrientes, levando a deficiências nutricionais, como a hipovitaminose D. Esses fatores podem levar a alterações no metabolismo mineral ósseo e, conseqüentemente, ao agravamento da doença. O objetivo do estudo foi avaliar a relação de marcadores do metabolismo mineral ósseo com parâmetros de hemólise, inflamação e função renal em pacientes com AF. Trata-se de um estudo transversal e analítico incluindo 88 pacientes com AF em acompanhamento ambulatorial e 31 doadores de sangue. Os dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais foram obtidos a partir dos prontuários clínicos e de entrevistas. Paratormônio (PTHi) e 25-hidroxivitamina D (25(OH)D) foram mensurados por eletroquimioluminescência e método fluorimétrico, respectivamente. Creatinina sérica e urinária, proteinúria, cálcio e fósforo séricos e urinários e albumina sérica foram obtidos por método colorimétrico e proteína C reativa e albuminúria por imunoturbidimetria. Foi adotado um valor de  $p < 0,05$ . Em comparação com os controles, pacientes com AF apresentaram redução significativa de cálcio sérico (8,27 x 10,42 mg/dL), calciúria (57 x 124 mg/g-Cr) e 25(OH)D (25 x 30 ng/mL). Também houve aumento de fósforo sérico (3,86 x 3,46 mg/dL) e reabsorção tubular máxima de fósforo (RTMP) (3,6 x 3,21 mg/dL), sem alteração de PTHi, reabsorção tubular de fósforo (RTP) e fosfatúria. Houve correlação do fósforo sérico com RTP ( $p = 0,32$ ) e com RTMP ( $p = 0,9$ ). Comparando com o grupo controle, o uso de HU e HbF  $\geq 10\%$  estavam associados a redução de fósforo sérico (3,95 x 3,6 x 3,4 mg/dL e 4,1 x 3,6 x 3,4 mg/dL, respectivamente), RTP (98,04 x 96,14 x 95,28% e 97,66 x 96,14 x 95,28%, respectivamente) e RTMP (5,21 x 4,43 x 4,2 mg/dL e 5,23 x 4,3 x 4,2 mg/dL, respectivamente). Avaliando a ocorrência de crises dolorosas, RTMP estava aumentada (4,63 x 4,42 x 4,2 mg/dL), o que não se refletiu na frequência de crises. Aqueles com anemia moderada/grave apresentaram aumento de fósforo sérico (4,0 x 3,6 x 3,4 mg/dL) e RTMP (4,98 x 4,42 x 4,2 mg/dL). Conclui-se que fósforo sérico, RTP e RTMP podem ser bons candidatos a marcadores de gravidade na AF.

**Palavras-chave:** Anemia Falciforme; Testes de Função Renal; Distúrbios do Metabolismo do Fósforo; Biomarcadores; Hidroxiureia.

## ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is characterized by vaso-occlusive crises, hemolysis, chronic inflammation, and complications such as nephropathy, which has as consequences increase of tubular reabsorption of phosphate and reduction of vitamin D activation. There is high energy expenditure and inadequate absorption of nutrients, leading to nutritional deficiencies, such as hypovitaminosis D. These factors can lead to changes in bone mineral metabolism and, consequently, to the worsening of the disease. The aim of this study was to evaluate the relationship between markers of bone mineral metabolism and hemolysis, inflammation and renal function parameters in SCA patients. This is a cross-sectional and analytical study including 88 patients with SCA on outpatient follow-up and 31 blood donors. Sociodemographic, clinical and laboratory data were obtained from clinical records and interviews. Parathyroid hormone (iPTH) and 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) were measured by electrochemiluminescence and fluorimetric method, respectively. Serum and urinary creatinine, serum and urinary proteinuria, calcium and phosphate, and serum albumin were obtained by colorimetric method and C-reactive protein and albuminuria by immunoturbidimetry. A p-value < 0,05 was adopted. Compared to controls, patients with SCA had a significant reduction in serum calcium (8.27 x 10.42 mg/dL), calciuria (57 x 124 mg/g-Cr), and 25(OH)D (25 x 30 ng/mL). There was also an increase in serum phosphate (3.86 x 3.46 mg/dL) and maximal tubular reabsorption of phosphate (MTRP) (3.6 x 3.21 mg/dL), with no change in iPTH, tubular reabsorption of phosphate (TRP) and phosphaturia. Serum phosphate was correlated with TRP ( $\rho = 0.32$ ) and with MTRP ( $\rho = 0.9$ ). In comparison to control group, the use of HU and HbF  $\geq 10\%$  were associated with a reduction in serum phosphate (3.95 x 3.6 x 3.4 mg/dL and 4.1 x 3.6 x 3.4 mg/dL, respectively), TRP (98.04 x 96.14 x 95.28% and 97.66 x 96.14 x 95.28%, respectively) and MTRP (5.21 x 4.43 x 4.2 mg/dL and 5.23 x 4.3 x 4.2 mg/dL, respectively). Assessing the occurrence of painful crises, MTRP was increased (4.63 x 4.42 x 4.2 mg/dL), which was not reflected in the frequency of crises. Those with moderate/severe anemia presented increased serum phosphate (4.0 x 3.6 x 3.4 mg/dL) and MTRP (4.98 x 4.42 x 4.2 mg/dL). Thus, serum phosphate, TRP and MTRP may be good candidates for markers of severity in SCA.



**Keywords:** Anemia, Sickle Cell; Kidney Function Tests; Phosphorus Metabolism Disorders; Biomarkers; Hydroxyurea.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fisiopatologia e complicações da anemia falciforme .....	17
Figura 2 - Produção e ativação da vitamina D a partir do ergosterol e do 7-desidrocolesterol .....	21
Figura 3 - Envolvimento da vitamina D, do PTHi e do FGF23 na regulação dos fosfatos .....	27

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 -	Correlação entre os marcadores do metabolismo mineral ósseo.....	42
Gráfico 2 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o uso de HU.....	43
Gráfico 3 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o tempo de uso de HU.....	44
Gráfico 4 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a ocorrência de crises dolorosas graves.....	45
Gráfico 5 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a frequência de crises dolorosas graves.....	46
Gráfico 6 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o grau de anemia.....	47
Gráfico 7 -	Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a concentração de hemoglobina fetal.....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados demográficos e laboratoriais dos pacientes com AF e do grupo controle.....	38
Tabela 2 - Marcadores laboratoriais associados a hemólise, uso de hidroxiureia e crises vaso-oclusivas em pacientes com AF.....	40
Tabela 3 - Correlações entre os marcadores do metabolismo mineral e parâmetros laboratoriais relacionados à hemólise, à inflamação e à função renal nos pacientes com AF.....	41

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

25(OH)D	25-hidroxivitamina D
AF	Anemia Falciforme
AST	Aspartato Desidrogenase
CaSR	Receptor Sensor de Cálcio Iônico
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COVID-19	Doença pelo Coronavírus 2019
DF	Doença Falciforme
DRC	Doença Renal Crônica
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ELFA	Ensaio de Fluorescência Ligado a Enzima
FGF23	Fator de Crescimento de Fibroblastos 23
FGF23c	Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 Clivado
FGF23i	Fator de Crescimento de Fibroblastos 23 Intacto
FGFR	Receptor de FGF
Hb	Hemoglobina
HbF	Hemoglobina Fetal
HbS	Hemoglobina S
HEMOCE	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará
HIF-1 $\alpha$	Fator Induzível por Hipóxia 1 $\alpha$
HU	Hidroxiureia
HUWC	Hospital Universitário Walter Cantídio
IFN – $\alpha$	Interferon $\alpha$
IFN – $\beta$	Interferon $\beta$
IL-1 $\beta$	Interleucina 1 $\beta$
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de Massa Corporal
IRA	Injúria Renal Aguda
LACT	Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas
LBFBC	Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica

LDH	Lactato Desidrogenase
NaPi-II	Cotransportador de Sódio e Fosfato tipo II
PCR	Proteína C Reativa
PTH	Paratormônio
RTMP	Reabsorção Tubular Máxima de Fósforo
RTP	Reabsorção Tubular de Fósforo
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
SBPC/ML	Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Legal
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFGe	Taxa de Filtração Glomerular Estimada
TNF	Fator de Necrose Tumoral
TRPV5	Receptor de Potencial Transiente do Tipo Vaniloide Subtipo 5
UFC	Universidade Federal do Ceará

## LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
®	Marca Registrada
<	Menor que
>	Maior que
≤	Menor ou igual a
≥	Maior ou igual a
dL	Decilitro
g	Gramma
g-Cr	Gramma de creatinina
kDa	Quilodalton
kg	Quilograma
L	Litro
m	Metro
m <sup>2</sup>	Metro quadrado
mg	Miligramma
min	Minuto
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
mmol	Milimol
mOsm	Miliosmolar
ng	Nanogramma
nm	Nanômetro
P	Fósforo
pg	Picogramma
Rho	Coefficiente de correlação de Spearman
U	Unidade
α	Alfa
β	Beta

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>1.1</b>	<b>Anemia Falciforme .....</b>	<b>15</b>
<b>1.2</b>	<b>Fisiopatologia e complicações da AF .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3</b>	<b>Hidroxiureia .....</b>	<b>19</b>
<b>1.4</b>	<b>Metabolismo mineral ósseo .....</b>	<b>20</b>
<b>1.4.1</b>	<b><i>Vitamina D .....</i></b>	<b>20</b>
<b>1.4.2</b>	<b><i>PTHi e FGF23 .....</i></b>	<b>23</b>
<b>1.4.3</b>	<b><i>Nefropatia Falciforme e distúrbios do metabolismo de cálcio e fósforo .....</i></b>	<b>24</b>
<b>1.4.4</b>	<b><i>Fósforo .....</i></b>	<b>25</b>
<b>1.4.5</b>	<b><i>Cálcio .....</i></b>	<b>28</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>30</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral .....</b>	<b>30</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos .....</b>	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Considerações éticas .....</b>	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Delineamento do estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>3.3</b>	<b>Local do estudo .....</b>	<b>31</b>
<b>3.4</b>	<b>Casuística.....</b>	<b>31</b>
<b>3.5</b>	<b>Seleção da amostra .....</b>	<b>32</b>
<b>3.5.1</b>	<b><i>Critérios de inclusão ao grupo com AF .....</i></b>	<b>32</b>
<b>3.5.2</b>	<b><i>Critérios de não inclusão ao grupo com AF .....</i></b>	<b>32</b>
<b>3.5.3</b>	<b><i>Critérios de inclusão ao grupo controle .....</i></b>	<b>33</b>
<b>3.5.4</b>	<b><i>Critérios de não inclusão ao grupo controle .....</i></b>	<b>33</b>
<b>3.6</b>	<b>Coleta de dados e de amostras .....</b>	<b>33</b>
<b>3.7</b>	<b>Avaliação laboratorial .....</b>	<b>34</b>
<b>3.7.1</b>	<b><i>Avaliação do status da vitamina D .....</i></b>	<b>34</b>
<b>3.7.2</b>	<b><i>Avaliação dos níveis de PTH .....</i></b>	<b>34</b>
<b>3.7.3</b>	<b><i>Avaliação da função renal .....</i></b>	<b>34</b>
<b>3.7.4</b>	<b><i>Avaliação de outros marcadores séricos e urinários.....</i></b>	<b>35</b>
<b>3.7.5</b>	<b><i>Avaliação de marcadores hematológicos .....</i></b>	<b>36</b>



<b>3.8</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>38</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>56</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>57</b>
	<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO COM AF .....</b>	<b>67</b>
	<b>APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO CONTROLE .....</b>	<b>68</b>
	<b>APÊNDICE C – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA GRUPO COM AF .....</b>	<b>69</b>
	<b>APÊNDICE D – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA GRUPO CONTROLE .....</b>	<b>71</b>
	<b>ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA .....</b>	<b>73</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Anemia Falciforme

A anemia falciforme (AF) foi descrita pela primeira vez na literatura médica ocidental no início do século XX, com a identificação de hemácias finas, alongadas e com formato de foice em paciente caribenho avaliado nos Estados Unidos (HERRICK, 1910). Entre as décadas de 1940 e 1960, trabalhos foram publicados descrevendo a presença de hemoglobina S (HbS) e a origem genética da doença (PAULING et al., 1949; INGRAM, 1957).

A doença falciforme (DF) é uma doença autossômica recessiva causada por uma mutação de ponto que leva à substituição da adenina pela timina no gene da  $\beta$ -globina. Isto resulta na troca de um resíduo de ácido glutâmico, um aminoácido hidrofílico, por um de valina, hidrofóbico, na sexta posição da cadeia polipeptídica, alteração que leva à formação de um tipo de hemoglobina com conformação diferente, a HbS. Em situações de redução do pH ou de baixas tensões de oxigênio, ela polimeriza-se e precipita, ocasionando a mudança na forma das hemácias para um formato de “meia-lua” ou de “foice”, chamado de drepanócito. Esse processo é reversível, entretanto, a alteração frequente do formato torna a membrana celular das hemácias mais frágil, facilitando a hemólise e reduzindo o tempo de vida dessas células (WILLIAMS, THEIN, 2018; PICCIN et al., 2019).

A AF é a forma mais comum e mais grave da DF e caracteriza-se pela presença de HbS em homozigose (HbSS). A ocorrência em heterozigose com outros tipos de hemoglobina mutante, como  $\beta^C$ ,  $\beta^D$ ,  $\beta$ -talassemia, resulta em outras formas de DF (SUNDD, GLADWIN, NOVELLI, 2019).

Geograficamente, a AF distribuiu-se originalmente em áreas endêmicas de malária no continente africano e, depois, em diversas outras regiões do mundo de acordo com movimentos populacionais. Ocorre atualmente principalmente na África Subsaariana, na Índia, nas Américas, no Oriente Médio e no sul da Europa. Estima-se que aproximadamente 75% dos nascidos com AF no mundo estejam na África Subsaariana e que 176000 pessoas morram por ano devido a complicações associadas a doenças falciformes (GDB 2013 MORTALITY AND CAUSES OF DEATH COLLABORATORS, 2015; KATO et al., 2018).

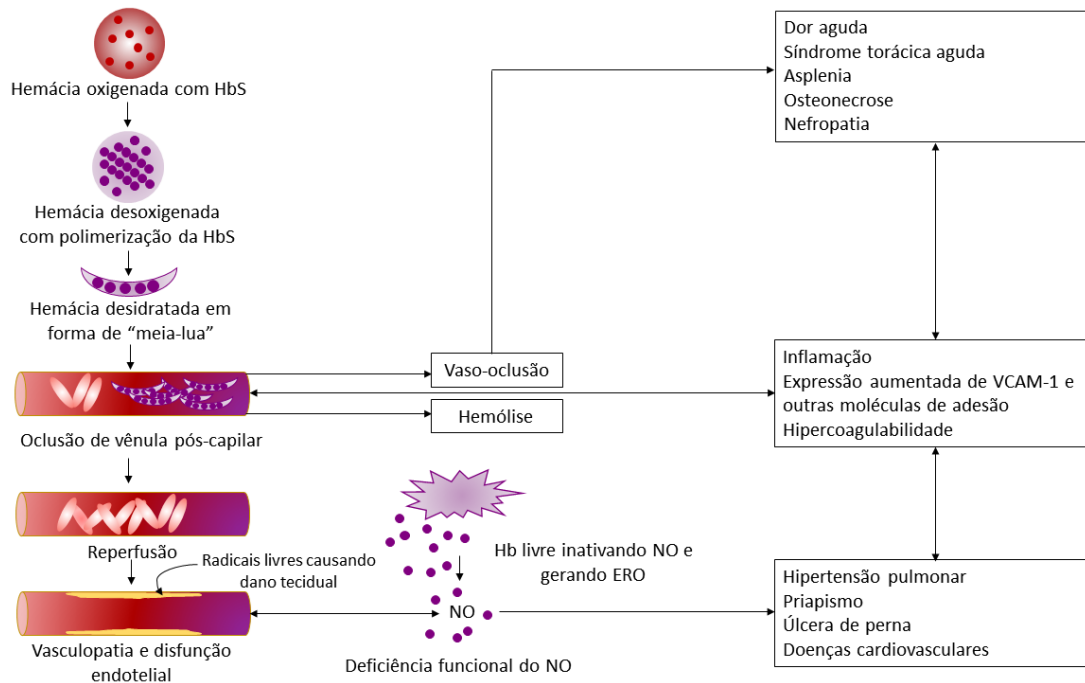
No Brasil, a AF ocorre predominantemente na população afrodescendente, aparecendo com maiores frequências nos estados da Bahia, do Rio de Janeiro e de Minas Gerais. Estima-se o diagnóstico 3500 novos casos de anemia falciforme por ano no país. Na região Nordeste, a prevalência estimada é de 4 a 6% de portadores de HbS. Observou-se 4,1% de nascidos portadores de HbS, com 0,2% desses sendo HbSS em Fortaleza, Ceará (PINHEIRO et al., 2006; CANÇADO, JESUS, 2007).

## **1.2 Fisiopatologia e complicações da AF**

As hemácias falciformes são capazes de ocluir vasos sanguíneos de menor calibre ou com fluxo sanguíneo lento, o que resulta em um processo de isquemia e reperfusão frequente, causando crises de vaso-oclusão, muitas vezes bastante dolorosas. A liberação de hemoglobina na corrente sanguínea contribui para o surgimento de um quadro de inflamação crônica por ativação do sistema imunológico. Grupos heme e seus produtos de oxidação são capazes de induzir um perfil pró-inflamatório e pró-coagulante, caracterizado pela ativação de plaquetas, adesão de leucócitos, principalmente neutrófilos, e hemácias ao endotélio ativado e aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e de espécies reativas de oxigênio (DOMINICAL et al., 2016; SUNDD, GLADWIN, NOVELLI, 2019).

O grau de hemólise cronicamente elevado induzindo a ocorrência de disfunção endotelial, juntamente com as crises vaso-oclusivas, pode resultar em complicações agudas (acidente vascular encefálico, síndrome torácica aguda, anemia aguda, priapismo, sequestro esplênico) e crônicas (hipertensão pulmonar, doença renal crônica, redução da performance intelectual, retinopatia falciforme, úlceras de perna, trombose, necrose avascular, osteoporose, deformidades ósseas) (figura 1) (ONIMOE, ROTZ, 2020).

Figura 1 – Fisiopatologia e complicações da anemia falciforme.



Fonte: Adaptado de Johnson et al., 2018, p. 598. Legenda: Baixas tensões de oxigênio e pH e alta osmolalidade possibilitam a polimerização da HbS, podendo ocasionar oclusão de vasos de pequeno calibre ou com fluxo sanguíneo lento. Com o tempo, a repetição do processo pode resultar em vasculopatia e disfunção endotelial. Há uma redução do tempo de vida das hemácias, com aumento da taxa de hemólise, liberação intravascular de hemoglobina livre e inflamação crônica. Esse quadro contribui para o surgimento de complicações agudas e crônicas.

Dentre as lesões orgânicas que ocorrem na AF, destaca-se a nefropatia falciforme, que está diretamente relacionada ao suprimento de sangue para os rins. Os vasos que levam o sangue para a medula renal (*vasa recta*) separam-se precocemente da arteríola eferente, levando apenas uma parte do fluxo sanguíneo renal. Assim, a maior parte do fluxo presente no córtex renal não alcança a medula, o que possibilita a manutenção de um fluxo sanguíneo lento e das condições que permitem a concentração urinária na alça de Henle. Na AF, o ambiente ácido, hipóxico, hiperosmolar e com fluxo sanguíneo lento propicia o processo de falciformação das hemácias, como consequência da desoxigenação da HbS, e a adesão endotelial. Com o tempo, a repetição do processo de oclusão-reperfusão causa lesão endotelial e tubular, além de estresse oxidativo e inflamação, liberando prostaglandinas e óxido nítrico, que induzem aumento da taxa de filtração glomerular (TFG). Ocorre ainda elevação do débito cardíaco e redução da resistência vascular

periférica, que contribuem para a hiperfiltração glomerular (JOHNSON et al., 2018; LAURENTINO et al., 2019).

A destruição medular reduz a capacidade de concentração urinária, resultando em hipostenúria, com osmolalidade frequentemente abaixo de 450 mOsm/kg. A hipóxia intermitente induz a liberação de endotelina-1, cujas ações vasoconstritora, natriurética e diurética permitem a manutenção da baixa pressão parcial de oxigênio local e a perda de água e sódio, tornando os indivíduos mais propensos à desidratação devido ao aumento do débito urinário. A hiperfiltração glomerular prolongada promove proteinúria e glomerulosclerose, que, juntamente com a lesão tubular, podem induzir a progressão da nefropatia falciforme para doença renal crônica, que está associada a menor sobrevida (VAN EPS et al., 1970; DA SILVA JÚNIOR, LIBÓRIO, DE FRANCESCO DAHER, 2011; JOHNSON et al., 2018).

A presença de albuminúria aumenta com a idade e pode ser classificada como albuminúria moderadamente elevada (30 – 300 mg/g-Cr) ou gravemente elevada (acima de 300 mg/g-Cr). Está presente em 60% dos adultos com AF e é um marcador bastante utilizado para acompanhamento da função renal, pois pode apresentar-se alterado desde a infância (ABAN et al., 2017; LAURENTINO et al., 2019).

Em relação à lesão tubular, nos túbulos contorcidos proximais, observa-se aumento da reabsorção de fosfatos e de  $\beta$ 2-microglobulina como consequência da elevação da reabsorção ativa de sódio e de água para controlar a perda pelo mecanismo anteriormente citado. Há ainda aumento da excreção de ácido úrico e de creatinina, resultando em níveis baixos de creatinina sérica (JOHNSON et al., 2018).

Considerando o quadro hemolítico, em pacientes em estado estacionário, aproximadamente 1/3 da hemólise ocorre no compartimento intravascular. A liberação resultante de grupos heme na circulação leva a um quadro de estresse oxidativo, com redução da disponibilidade de óxido nítrico, e de elevação da concentração de lactato desidrogenase (LDH). Essa enzima que existe em várias isoformas (LDH-1 a 5) em tecidos como coração, pulmões, rins, hemácias. Seus níveis estão aumentados na anemia falciforme, mesmo em pacientes em estado estacionário, nos quais valores mais elevados estão associados a um fenótipo caracterizado por maior incidência de hipertensão pulmonar, úlceras de perna, priapismo, insuficiência renal e menor frequência de crises vaso-oclusivas (BENSINGER, 1974; KATO, NOURAI, GLADWIN, 2013; KATO et al., 2018).

A LDH é um marcador importante do grau de hemólise e, portanto, um preditor do desenvolvimento de complicações agudas e crônicas, juntamente com contagem de reticulócitos, bilirrubina indireta, aspartato aminotransferase (AST), haptoglobina e hemoglobina (STANKOVIC STOJANOVIC, LIONNET, 2016). A contagem de reticulócitos reflete a resposta da medula óssea ao grau de anemia associado aos processos de falciformação e hemólise (CORTELLAZZI et al., 2003). A bilirrubina é o principal produto do metabolismo do grupo heme. Em pacientes com AF, há elevação dos níveis séricos muito associada ao aumento da bilirrubina indireta ou não conjugada, que resulta em icterícia em níveis variados (MILTON et al., 2013; LAURENTINO et al., 2018).

### 1.3 Hidroxiureia

Atualmente, o principal medicamento utilizado para controle da doença é a hidroxiureia (HU), cujo uso é autorizado para crianças a partir dos dois anos e, em casos específicos, a partir dos nove meses. Em adultos, é indicada para aqueles com diagnóstico confirmado da doença, que possam realizar o acompanhamento médico periódico e que tenham apresentado, nos 12 meses anteriores, complicações como três ou mais crises vaso-oclusivas com necessidade de atendimento médico, dois episódios de síndrome torácica aguda, anemia grave e persistente, lactato desidrogenase três vezes acima do valor de referência, qualquer situação em que se comprove lesão orgânica crônica, entre outros (BRASIL, 2018).

Inicialmente, a HU foi introduzida no mercado como agente antineoplásico para o tratamento de tumores sólidos e leucemias. Nos anos 1980, verificou-se que ela era capaz de induzir a produção de hemoglobina fetal (HbF), reduzindo a concentração de HbS dentro das hemácias e, conseqüentemente, diminuindo a polimerização da HbS e dificultando o processo de falciformação. O medicamento foi aprovado para o tratamento da AF nos Estados Unidos em 1998 e, no Brasil, em 2002 (CANÇADO et al., 2009; MCGANN, WARE, 2015).

O mecanismo de ação da HU ainda não é completamente compreendido. *In vivo*, a inibição reversível da enzima ribonucleotídeo redutase acarreta na redução da síntese de DNA, impedindo temporariamente o processo de divisão celular para produção de hemácias. A resposta a essa ação é uma “eritropoese de estresse”, em

que há recrutamento de precursores eritroides com maior capacidade de produzir HbF (BALIGA et al., 2000).

A HbF possui maior afinidade pelas moléculas de oxigênio e, portanto, reduz a formação de drepanócitos. Em média, os níveis de HbF na AF são de 8%, variando de 0,1 a 30%. É um importante marcador de gravidade da doença, apesar de nem sempre ser possível associar níveis baixos à ocorrência de complicações. Em alguns pacientes, pode haver complicações mesmo com valores de HbF próximos a 20% (STEINBERG, 2005; DOURADO DE FARIA et al., 2020)

A HU também modula a inflamação, o dano endotelial, a hemólise e o estresse oxidativo, reduzindo a frequência de crises vaso-oclusivas e de complicações associadas à nefropatia falciforme. O uso prolongado de HU está associado à redução da hemólise e da albuminúria em pacientes com microalbuminúria prévia. Além disso, em crianças, o uso do medicamento reduz o risco de hipertrofia renal e a extensão da alteração (ALVAREZ et al., 2012; BARTOLUCCI et al., 2016; LEE, OGU, 2022).

Em geral, a HU é bem tolerada. Os efeitos adversos mais comuns estão associados à mielossupressão e incluem neutropenia leve a moderada, reticulocitopenia e trombocitopenia, reversíveis com a suspensão do medicamento ou redução da dose. Ao iniciar o tratamento, é necessário acompanhamento frequente com realização de hemogramas para auxiliar na identificação da dose máxima tolerada, caracterizada por uma contagem de neutrófilos entre 1500 e 3000 células/mm<sup>3</sup>, e de possível toxicidade (MCGANN, WARE, 2015).

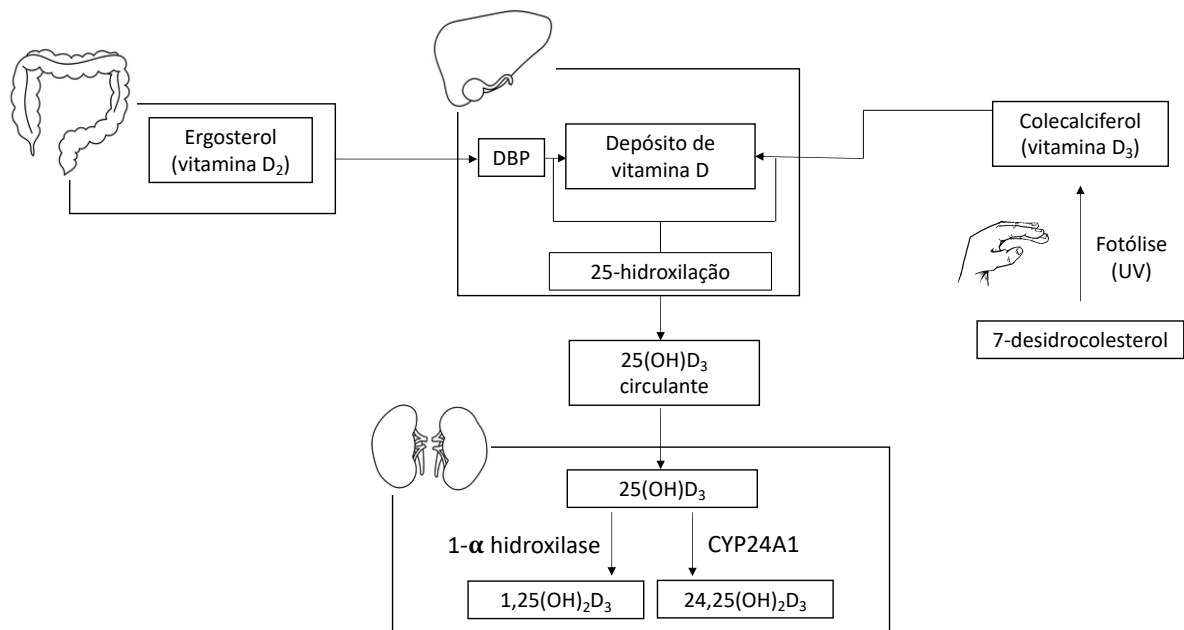
## **1.4 Metabolismo mineral ósseo**

### **1.4.1 Vitamina D**

Os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da AF levam a maior gasto energético e absorção inadequada de nutrientes, o que pode contribuir para a ocorrência de deficiências nutricionais, como a de vitamina D (DE OLIVEIRA et al., 2015). A incidência de hipovitaminose D pode estar relacionada a diversos fatores, como idade, dieta, exposição à luz solar, pigmentação da pele, e pode estar associada a complicações frequentes em pacientes com AF, incluindo doenças cardiovasculares, complicações ósseas, nefropatia e dor crônica (NOLAN et al., 2015).

A vitamina D ativa tem como principal função estimular a absorção intestinal de cálcio e fósforo. Pode ser produzida a partir da exposição das células epiteliais à luz solar e ser obtida de alimentos de fonte vegetal. A luz ultravioleta B permite a transformação do 7-desidrocolesterol em colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), já os alimentos são fonte de ergosterol (vitamina D<sub>2</sub>). Ambas são transportadas pelas proteínas ligadoras da vitamina D, sofrendo hidroxilação nos hepatócitos para gerar a 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), também chamada de calcidiol. Nas células do túbulo contorcido proximal, a enzima 1- $\alpha$  hidroxilase (CYP27B1) catalisa a ativação da vitamina D em 1,25-dihidroxivitamina D (calcitriol), forma responsável pela ação biológica do hormônio. A enzima CYP24A1 controla esse processo ao hidroxilar a posição 24 do calcidiol, gerando a forma inativa 24,25-dihidroxivitamina D (figura 2) (LATIC, ERBEN, 2021).

Figura 2 – Produção e ativação da vitamina D a partir do ergosterol e do 7-desidrocolesterol.



Fonte: Adaptado de Baynes, 2011. DBP: proteína ligadora de vitamina D (do inglês *vitamin D binding protein*). UV: ultravioleta. 25(OH)D<sub>3</sub>: calcidiol. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: calcitriol. 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>: 24,25-dihidroxivitamina D. Legenda: O 7-desidrocolesterol presente na pele é transformado em colecalciferol pela exposição à luz ultravioleta. Tanto o colecalciferol como o ergosterol, obtido dos alimentos, são transportados para o fígado pelas proteínas ligadoras de vitamina D, onde sofrem hidroxilação na posição 25, gerando a 25-hidroxivitamina D ou calcidiol. Nos rins, o calcidiol sofre uma nova hidroxilação na posição 1 pela enzima 1- $\alpha$  hidroxilase, formando o calcitriol, forma ativa da vitamina D.



A enzima CYP24A1 auxilia no controle dos níveis de vitamina D ativa ao hidroxilar a posição 24 do calcidiol.

A vitamina D ativa regula a transcrição genética ao ligar-se ao receptor da vitamina D, um fator de transcrição nuclear presente em diversos órgãos e sistemas, como intestino, ossos, glândulas paratireoides, rins, cérebro, células dos sistemas imunológico e cardiovascular (ARCANJO, 2020). Ao alcançar a célula-alvo, o calcitriol dissocia-se da proteína ligadora de vitamina D, atravessa a membrana celular e liga-se ao receptor de vitamina D, presente no citoplasma. Esse complexo, então, atua nas regiões nucleares promotoras de genes-alvo, induzindo ou inibindo a transcrição gênica e, conseqüentemente, gerando diferentes respostas biológicas (CASTRO, 2011).

De acordo com as Sociedades Brasileiras de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial e de Endocrinologia e Metabologia, a avaliação do status da vitamina D deve ser feita a partir da dosagem da 25-hidroxivitamina D, pois possui longo tempo de meia-vida (entre duas e três semanas) e os níveis séricos dela refletem a disponibilidade de colecalciferol e de ergosterol a partir da pele e da dieta, respectivamente. Os valores de referência recomendados pela SBPC/ML e pela SBEM são maiores que 20 ng/mL para indivíduos saudáveis não idosos e entre 30 e 60 ng/mL para indivíduos pertencentes a grupos de risco, como idosos, gestantes, lactantes, pessoas com doenças osteometabólicas, como hiperparatireoidismo, doença renal crônica, síndromes de má absorção (SACN, 2016; FERREIRA et al., 2018).

No entanto, ainda não há consenso sobre essa padronização, pois o uso de diferentes metodologias pode resultar em valores não comparáveis entre ensaios devido à detecção de metabólitos estruturalmente semelhantes e de outros confundidores. Outros autores, inclusive em estudos com pacientes com anemia falciforme, recomendam a seguinte classificação: valores abaixo de 20 ng/mL representam deficiência de vitamina D, entre 20 e 29 ng/mL correspondem a insuficiência e a partir de 30 ng/mL, suficiência. Alguns especialistas recomendam a adoção de referências de acordo com o tipo de teste usado (HOLICK, 2009; SADAT-ALI et al., 2011; BINKLEY, CARTER, 2017).

O processo de ativação da vitamina D é controlado pelos níveis de paratormônio intacto (PTHi) e de fator de crescimento de fibroblastos (FGF-23), além

da própria concentração de vitamina D ativa. PTHi, FGF-23 e 1,25-dihidroxitamina D atuam sobre a expressão da 1- $\alpha$  hidroxilase e da CYP24A1. O primeiro aumenta a expressão renal da CYP27B1 e reduz a expressão da CYP24A1, enquanto o segundo e o terceiro reduzem a expressão da CYP27B1 e aumentam a CYP24A1 (EDMONSTON, WOLF, 2020).

#### **1.4.2 PTHi e FGF23**

O PTH é um hormônio peptídico que contribui para a manutenção da homeostase mineral e é produzido pelas glândulas paratireoides. A transcrição genética dele é estimulada por hipocalcemia, hiperfosfatemia, uremia e inibida pelo calcitriol. Nas membranas das células paratireoides, há receptores sensores de cálcio iônico (CaSR), os quais são acoplados à proteína G com sete domínios transmembrana e são responsáveis por modular a liberação de PTHi de acordo com os níveis séricos do íon. Esses receptores também estão presentes nos ossos e no intestino. A hiperfosfatemia também controla os níveis séricos de PTHi por estimular a liberação do hormônio ao inibir o CaSR (ABATE, CLARKE, 2017; PORTALES-CASTILLO, SIMIC, 2022).

Com a detecção de baixas concentrações séricas de cálcio, ocorre o estímulo para a síntese de um pré-pró-hormônio com 115 aminoácidos. A produção da forma ativa do PTH dá-se pela clivagem da porção inicial de 25 aminoácidos no retículo endoplasmático, seguida pela remoção dos aminoácidos 1 a 6 do pró-hormônio restante no complexo de Golgi. A forma ativa, também chamada de intacta, possui 84 aminoácidos e é armazenada em vesículas secretórias citosólicas. O PTHi pode sofrer clivagem intracelular, com liberação da porção carboxi-terminal inativa para a circulação como regulador da ação do hormônio (HABENER et al., 1979; PORTALES-CASTILLO, SIMIC, 2022).

Nos ossos, o PTHi estimula a liberação de cálcio e de fósforo, enquanto nos rins reduz a expressão dos cotransportadores de sódio e fosfato II (NaPi-II) na membrana apical das células do túbulo contorcido proximal, elevando a fosfatúria, e aumenta a expressão do cotransportador de sódio e cálcio no túbulo contorcido distal, facilitando a reabsorção. O hormônio é rapidamente metabolizado e excretado pelo fígado e pelos rins (JACQUILLET, UNWIN, 2018; UNDERLAND, MARKOWITZ, GENSURE, 2020).

O hiperparatireoidismo é um distúrbio endócrino relativamente comum (SHINDO et al., 2016; YUEN, 2016). Pode ser classificado como primário, secundário ou terciário. No primeiro, há hipersecreção glandular causada por doença nas glândulas paratireoides (por exemplo, presença de tumores). O secundário ocorre quando a produção de PTHi é elevada em resposta a distúrbios metabólicos, como a hipocalcemia causada pela retenção de fósforo e diminuição da ativação de vitamina D na doença renal crônica (DRC). Já o hiperparatireoidismo terciário apresenta-se com uma elevação tanto do PTHi como da calcemia (JAMAL, MILLER, 2013; YUEN, 2016). Este tipo de complicação já foi descrito em pacientes com AF (KRISHNAMOORTHY et al., 2006; GARADAH et al., 2016).

O hipoparatireoidismo é menos comum, sendo caracterizado pela presença de hipocalcemia em conjunto com níveis de PTHi baixos ou normais, porém inapropriados em relação à calcemia. Assim como o hiperparatireoidismo, também pode ser classificado em primário, relacionado a alterações intrínsecas às glândulas paratireoides, ou secundário/adquirido, o qual é mais comum e está associado a disfunção renal, exposição a radiação ionizante, sobrecarga de ferro ou de cobre (CLARKE et al., 2016; BILEZIKIAN, 2020).

O FGF-23 é uma proteína de 32 kDa contendo 251 aminoácidos. Foi descoberto em 2003 como fator associado à fisiopatologia do raquitismo hipofosfatêmico e da osteomalácia oncogênica. É produzido por osteoblastos e osteócitos, podendo ser secretado na forma intacta (FGF23i), responsável pela atividade biológica, e na forma clivada, com um dos fragmentos apresentando atividade inibitória. Também faz parte do metabolismo do cálcio e do fósforo, atuando nos rins de forma contrária ao PTHi em relação ao cálcio, reduzindo a ativação de vitamina D, e de forma semelhante em relação ao fósforo, estimulando a fosfatúria (COURBEBASSE, LANSKE, 2017).

### **1.4.3 Nefropatia Falciforme e distúrbios do metabolismo de cálcio e fósforo**

Como explicado anteriormente, a nefropatia falciforme caracteriza-se por hipoperfusão medular associada a hiperperfusão regional causada pela resistência vascular sistêmica reduzida, o que leva a lesão tubular com aumento da reabsorção de fosfatos nos túbulos contorcidos proximais. Episódios intermitentes de vaso-oclusão favorecem a ocorrência de injúria renal aguda (IRA) leve repetidamente e de

IRA grave, as quais podem levar ao desenvolvimento de DRC, importante fator de aumento de morbimortalidade entre pacientes com AF (BELISÁRIO et al., 2019; LAURENTINO et al., 2019). Estudos mostram a presença de albuminúria em mais da metade dos adultos com AF, enquanto a incidência de doença renal avançada (estágio 3 ou maior) pode chegar a 29% (GUASCH et al., 2006). Em estudo realizado nos Estados Unidos, foi feito o acompanhamento de 3764 pacientes adultos com doença falciforme durante 10 anos e verificou-se que 18% das mortes deviam-se a falência orgânica crônica, predominantemente renal (PLATT et al., 1994).

Concentrações de hemoglobina livre cronicamente elevadas no lúmen dos túbulos contorcidos proximais reduzem captação da proteína de ligação à vitamina D pelas células tubulares e aumentam a transcrição de RNA mensageiro de 1- $\alpha$  hidroxilase. Em modelo murino, há diminuição da razão calcitriol/calcediol indicando redução dos níveis de vitamina D ativa circulantes. Desta forma, a nefropatia falciforme favorece a ocorrência de distúrbios no metabolismo do cálcio e do fósforo, os quais podem contribuir para o surgimento de complicações ósseas e renais, que reduzem a qualidade e a expectativa de vida dos indivíduos com AF (PLATT et al., 1994; GLIOZZI et al., 2019; ESKIOCAK, YILMAZ, ILHAN, 2022).

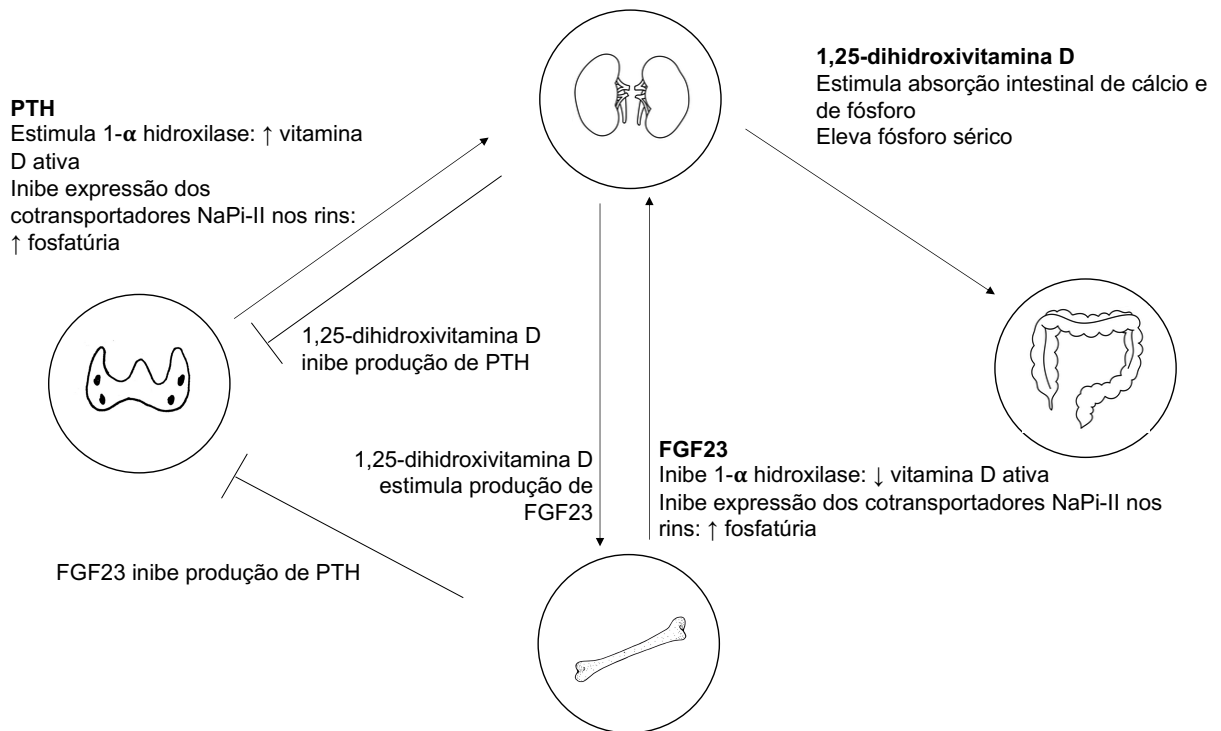
#### **1.4.4 Fósforo**

O fósforo é um elemento de extrema importância para a manutenção de diversas funções celulares: está presente na estrutura do DNA, de membranas lipídicas, de moléculas fontes de energia, de segundos mensageiros, entre outros. O corpo humano utiliza-o na forma de fosfato, o qual pode ser obtido a partir da dieta nas formas orgânica ou inorgânica. Fosfatos orgânicos são obtidos a partir de fontes vegetais e animais. Nas plantas, apresentam-se na forma de fitatos com absorção de menos de 50% devido à ausência da enzima fitase nos seres humanos. Também podem ser obtidos de carnes, peixes e produtos lácteos, exibindo maior biodisponibilidade. Atualmente, fosfatos inorgânicos são usados como aditivos alimentares para alterar textura, aumentar o tempo de prateleira, dar cor ou melhorar o sabor dos alimentos. A ingestão de alimentos contendo aditivos com fosfatos tem aumentado na dieta ocidental e está associada à elevação das concentrações séricas do íon (JÜPPNER, 2011; VERVLOET et al., 2017; MIRONOV, ATFI, RAZZAQUE, 2022).

Assim como PTHi, calcitriol e FGF23, os níveis séricos de fosfato também são influenciados pelo ritmo circadiano, apresentando os menores valores entre 8 e 10 horas da manhã. Há um aumento constante durante o dia com uma pequena redução no início da noite e um pico à meia noite. Apesar da influência do ritmo circadiano, não há evidência de que variações nos níveis de fosfato sérico durante o dia estejam relacionadas a variações nos níveis daqueles hormônios (LEDERER, 2014; VERVLOET et al., 2017).

Os níveis de fosfato inorgânico são regulados pela expressão dos cotransportadores NaPi-IIa e IIc nos túbulos contorcidos proximais dos néfrons justamedulares e do cotransportador NaPi-IIb no intestino a partir da sinalização do íon fosfato, do PTHi e do FGF23 (JÜPPNER, 2011). No início da DRC, a redução da expressão dos cotransportadores renais resultante do aumento dos níveis de FGF-23 e de PTHi possibilita o controle da fosfatemia associada a aumento da fosfatúria. Quando mais de 70% da função renal é perdida, esse mecanismo não é suficiente para controlar a concentração sérica de fósforo, resultando em hiperfosfatemia. Nesse quadro, altos níveis de FGF-23 inibem a produção de vitamina D ativa, o que reduz a calcemia (figura 3). A hipocalcemia e o efeito da hiperfosfatemia sobre os receptores sensores de cálcio nas glândulas paratireoides resulta em hiperparatireoidismo. Todo esse processo desequilibra o eixo osso – rim – glândula paratireoide, causando um distúrbio mineral ósseo relacionado à DRC. A fosfatemia próxima ou acima do nível superior de referência está associada a maior taxa de mortalidade por eventos cardiovasculares mesmo em populações saudáveis (JÜPPNER, 2011; KETTELER et al., 2012).

Figura 3: Envolvimento da vitamina D, do PTHi e do FGF23 na regulação dos fosfatos.



Fonte: Adaptado de Leung, Crook, 2019. PTH: paratormônio. FGF23: fator de crescimento de fibroblastos 23. NaPi-II: cotransportadores de sódio e fosfato do tipo II. Legenda: PTH, FGF23 e 1,25-dihidroxicortisol D participam da regulação dos níveis séricos de fosfatos, atuando tanto na produção uns dos outros como na expressão de transportadores de fosfatos. PTH e FGF23 inibem a expressão dos cotransportadores NaPi-II nos rins, elevando a fosfatúria e auxiliando na redução do fósforo sérico. A vitamina D ativa estimula a absorção intestinal de fosfatos, elevando o fósforo sérico.

Em virtude do importante papel do fósforo na manutenção das funções orgânicas, é necessária a utilização de marcadores que representem bem a homeostase do mineral. Dentre os mais utilizados estão o PTHi, o fósforo sérico, o fósforo em urina de 24 horas, a reabsorção tubular de fósforo (RTP) e a reabsorção tubular máxima de fósforo (RTMP) (DUBOURG et al., 2022). O P sérico nem sempre é um marcador adequado para esta avaliação devido a mecanismos como o anteriormente citado para a DRC em que há manutenção dos níveis séricos com aumento da excreção renal. Assim, a RTP e a RTMP são opções mais fidedignas e facilmente obtidas na prática clínica para realizar este acompanhamento (HONG et al., 2015).

A concentração de fosfato na urina de 24 horas é utilizada para avaliar a absorção intestinal do íon, no entanto, é um marcador indireto e impreciso da ingestão de P (TAN et al., 2016; TABIBZADEH et al., 2018). A RTP faz uma melhor estimativa

da capacidade dos rins de excretar o P e é alterada pela ingestão através da dieta e pela idade. Em pacientes com DRC nos estágios 2 a 4, está relacionada à fosfatúria de 24 horas e aos níveis de calcitriol e PTHi (TABIBZADEH et al., 2018).

A RTMP relaciona-se mais à capacidade intrínseca dos rins de excretar fosfatos. Corresponde ao limite inferior teórico de fósforo sérico abaixo do qual todo o P é reabsorvido pelos rins. Apresenta correlação com os níveis de hemoglobina e é independente do fósforo proveniente da dieta, dos ossos e das células (TABIBZADEH et al., 2018; DUBOURG et al., 2022).

### **1.4.5 Cálcio**

O cálcio é o mineral mais abundante no corpo humano. Atua como regulador de diversos processos orgânicos, como o ciclo celular, a contração muscular, o funcionamento do sistema nervoso central, além de ser componente essencial de ossos e dentes. A concentração sérica normal de cálcio é aproximadamente 2,5 mmol/L com 50% ligados a proteínas plasmáticas, destacando-se a albumina. A concentração de cálcio iônico no sangue é de aproximadamente 1,2 mmol/L (BRONNER, 2001; MARTINEZ DE VICTORIA, 2016).

Após a ingestão, o cálcio é absorvido por via transcelular no duodeno e por via paracelular na metade final do intestino delgado, sendo esta a responsável pela maior parte da absorção do íon. Apenas a via transcelular é dependente da vitamina D ativa, sendo regulada positivamente em casos de dieta pobre em cálcio. O calcitriol também regula liberação de cálcio para o sangue. Em condições normais, apenas o cálcio não ligado a proteínas plasmáticas é livremente filtrado nos rins, sendo a maior parte reabsorvida durante a passagem pelos túbulos renais. Nos túbulos contorcidos proximais, há absorção passiva por via paracelular de 70% do cálcio iônico. Outros 20% voltam pela alça de Henle ascendente em processo controlado pelo PTHi e pelos receptores sensores de cálcio. Estes também regulam a absorção de 8% do cálcio iônico filtrado através do aumento da expressão de transportadores conhecidos como receptor de potencial transiente do tipo vaniloide subtipo 5 (TRPV5) nos túbulos contorcidos distais (BRONNER, 2001; LEMOINE et al., 2022).

A AF apresenta diversas complicações que interferem na qualidade e na expectativa de vida dos portadores dela. Complicações graves, como insuficiência

renal e distúrbios minerais ósseos, são consequência da fisiopatologia da doença e ocorrem com frequência nessa população, elevando os gastos com saúde.

Considerando a importância do metabolismo mineral para o funcionamento normal das funções orgânicas, as alterações fisiológicas associadas à anemia falciforme e o impacto delas sobre a morbimortalidade nesses pacientes, é importante compreender como marcadores do metabolismo do cálcio e do fósforo se apresentam na doença e qual o envolvimento deles com fatores relacionados à gravidade, a complicações e ao tratamento da AF.



## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a relação de marcadores do metabolismo mineral ósseo com parâmetros associados à gravidade, à função renal, à inflamação e ao tratamento com hidroxiureia em pacientes com anemia falciforme.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Determinar o perfil de marcadores do metabolismo mineral ósseo em pacientes com anemia falciforme;
- Comparar o perfil de marcadores do metabolismo mineral ósseo em pacientes com anemia falciforme com o do grupo controle;
- Correlacionar marcadores do metabolismo mineral ósseo com biomarcadores de hemólise, inflamação e função renal nos pacientes com AF;
- Associar marcadores do metabolismo mineral ósseo com a presença e a frequência de crises dolorosas graves, com o uso e o tempo de tratamento com HU, com o grau de anemia e com a porcentagem de HbF em pacientes com AF.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Considerações éticas**

O presente estudo foi elaborado e executado de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde (Resolução 466/2012) e foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC) sob o parecer de número 4.424.203. Todos os participantes, que concordaram em ser incluídos na pesquisa após explicação, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

#### **3.2 Delineamento do estudo**

Trata-se de um estudo transversal e analítico incluindo pacientes com anemia falciforme em acompanhamento no Ambulatório de Hemoglobinopatias do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) e no Ambulatório de Anemias do HUWC em Fortaleza, Ceará entre fevereiro e outubro de 2021.

#### **3.3 Local do estudo**

As análises foram realizadas no Laboratório de Hemoglobinopatias e Genética de Doenças Hematológicas do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Universidade Federal do Ceará (UFC) em parceria com o Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) e com o Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT) da UFC.

#### **3.4 Casuística**

Durante a pesquisa, os pacientes do Ambulatório de Anemias do HUWC foram transferidos para o Ambulatório de Hemoglobinopatias do HEMOCE. Assim, a maioria dos pacientes incluídos no presente estudo foi proveniente do ambulatório do HEMOCE e apenas um do HUWC. No referido ambulatório, encontravam-se em atendimento um total de 179 pacientes com AF, sendo incluídos no estudo, por meio

de amostragem por conveniência, 88 pacientes adultos, de ambos os sexos, com diagnóstico clínico e laboratorial de AF. Como grupo controle, foram incluídos 31 voluntários saudáveis doadores de sangue do HEMOCE. Os pacientes com AF foram estratificados das seguintes formas:

- De acordo com o grau de anemia: anemia leve ( $Hb \geq 8$  g/dL) e anemia moderada ou grave ( $Hb < 8$  g/dL) (ABAN et al., 2017);
- De acordo com o nível de hemoglobina fetal:  $HbF > 10\%$  e  $HbF \leq 10\%$  (MOREIRA et al., 2015);
- De acordo com o uso ou não de HU;
- De acordo com o tempo de uso de HU:  $< 4$  anos ou  $\geq 4$  anos (adaptado de LAURENTINO et al., 2018).
- De acordo com número de crises vaso-oclusivas graves (que necessitaram de hospitalização) no último ano: dor esporádica ( $< 3$  crises por ano) e dor frequente ( $\geq 3$  crises por ano) (DARBARI et al., 2012);
- De acordo com os níveis de 25-hidroxivitamina D:  $< 20$  ng/mL como deficiência, 20 a 29 ng/mL como insuficiência e  $\geq 30$  ng/mL como suficiência (HOLLICK, 2009).

### **3.5 Seleção da amostra**

#### **3.5.1 Critérios de inclusão ao grupo com AF**

Pacientes adultos (a partir de 18 anos) com diagnóstico de AF confirmado por eletroforese de hemoglobina e/ou por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em acompanhamento nos ambulatórios incluídos no estudo e que se apresentaram para coleta de material biológico para exames de rotina em consulta de acompanhamento da evolução da doença.

Pacientes em estado estacionário, segundo os critérios de Ballas (2012): ausência de crises vaso-oclusivas graves e de quadro infeccioso ou inflamatório nas quatro semanas anteriores à inclusão no estudo, ausência de admissão hospitalar nos 2-3 dias anteriores, ausência de transfusão sanguínea nos quatro meses precedentes, ausência de tratamentos com medicamentos que pudessem alterar as contagens sanguíneas nas três semanas anteriores.

#### **3.5.2 Critérios de não inclusão no grupo com AF**

Pacientes gestantes, com doença renal ou hepática, em uso de suplementação de vitamina D ou de cálcio.

### **3.5.3 Critérios de inclusão ao grupo controle**

Indivíduos adultos, de ambos os sexos, que se apresentaram de forma espontânea para doar sangue no HEMOCE.

### **3.5.4 Critérios de não inclusão ao grupo controle**

Indivíduos hipertensos moderados/graves, diabéticos, em uso de suplementação de cálcio ou de vitamina D.

## **3.6 Coleta de dados e de amostras**

Aqueles com perfil condizente com os critérios de inclusão foram convidados a participar do estudo e assinaram o TCLE após receberem todas as informações e orientações pertinentes.

Para o grupo com AF, as amostras biológicas foram obtidas no mesmo momento da coleta de sangue para exames de rotina. Inicialmente, o paciente foi informado, em linguagem acessível, sobre o projeto de pesquisa, assim como sobre os possíveis riscos e benefícios. Após a permissão por parte do paciente em participar da pesquisa, foi aplicado o TCLE. O mesmo procedimento foi realizado com os doadores de sangue, que foram abordados na sala de espera para a coleta. As amostras de sangue foram obtidas com auxílio das equipes dos setores de coleta de sangue.

Foram coletadas uma amostra de 4 mL de sangue total em tubo com EDTA, uma amostra de 3,5 mL de soro em tubo com gel separador e uma amostra de 10 mL de urina recente em coletor entre 7 e 11 horas da manhã, as quais foram armazenadas em isopor com gelo para transporte até o laboratório de pesquisa, onde foram processadas e armazenadas em freezer a -80°C até o momento das análises. Dados demográficos e clínicos dos pacientes (idade, sexo, peso, altura, uso e tempo de uso de HU, ocorrência e frequência de crises vaso-oclusivas graves) foram obtidos nos

prontuários e em entrevistas com os pacientes com uso de formulário de coleta. Dados laboratoriais dos mesmos (contagem de reticulócitos, LDH, bilirrubina indireta, AST e hemoglobina fetal) foram obtidos a partir dos registros em prontuários. Para os pacientes que não possuíam exames (contagem de reticulócitos, LDH, bilirrubina indireta, AST e hemoglobina fetal) do mesmo dia da coleta do estudo, foram coletados resultados obtidos cinco dias antes ou depois do ingresso no estudo e com registro em prontuário. Dados demográficos do grupo controle também foram obtidos a partir de entrevistas com os participantes, com registro em formulário próprio.

### **3.7 Avaliação laboratorial**

#### **3.7.1 Avaliação do status da vitamina D**

Os níveis de 25(OH)D foram determinados em soro pelo método de ensaio de fluorescência ligado a enzima (ELFA) (kit comercial VIDAS® 25 OH Vitamina D Total – Biomérieux) de acordo com as orientações do fabricante, com medição da fluorescência a 450 nm e conversão dos resultados para concentração em ng/mL.

#### **3.7.2 Avaliação dos níveis de PTHi**

Os níveis de PTHi foram determinados em soro por eletroquimioluminescência (Modular Analytics E170, Roche, Mannheim, Alemanha) com resultados em pg/mL. Considerou-se 15 – 65 pg/mL como intervalo de referência.

#### **3.7.3 Avaliação da função renal**

Para as análises de creatinina urinária, albuminúria e proteinúria foram utilizadas amostras de urina recente.

- Creatinina urinária: Determinada pela formação de complexo de cor vermelha quando a creatinina reage com picrato em meio alcalino – reação de Jaffé - analisada por espectrometria (Cobas C111, Roche®).
- Albuminúria: Determinada pelo método de imunoturbidimetria automatizado (Cobas C111, Roche®). Os resultados foram normalizados pela creatinina urinária.

- Proteinúria: Determinada pelo método vermelho de pirogalol (Sensiprot - Labtest®) e analisada por espectrometria. Os resultados foram normalizados pela creatinina urinária.

#### **3.7.4 Avaliação de outros marcadores séricos e urinários**

Para as análises de cálcio e fósforo urinários, foram utilizadas amostras de urina recente, enquanto para análise de albumina sérica, cálcio total, fósforo sérico e creatinina sérica foram utilizadas amostras de soro.

- Albumina sérica: Determinada pelo método colorimétrico com verde de bromocresol (kit comercial da Bioclin - Quibasa®).

- Cálcio total e urinário: Determinados pelo método colorimétrico de ponto final – Arsenazo III (kit comercial da Bioclin – Quibasa®). Os resultados de cálcio urinário foram normalizados pela creatinina urinária. Os valores de cálcio total foram corrigidos para aqueles com albumina sérica < 4 g/dL de acordo com a fórmula (PAYNE et al., 1973):

$$\text{Cálcio corrigido} = \text{cálcio total} + [0,8 \times (4 - \text{albumina sérica})]$$

- Fósforo sérico e urinário: Determinados por método colorimétrico (kit comercial da Bioclin – Quibasa®). Os resultados de fósforo urinário foram normalizados pela creatinina urinária. Para avaliar a excreção renal de fósforo, os resultados de fósforo sérico e urinário foram transformados em valores de reabsorção tubular de fósforo (RTP), expressos em porcentagem de acordo com a fórmula (RAJ et al., 2014):

$$\text{RTP (\%)} = \left[ 1 - \left( \frac{\text{fósforo urinário}}{\text{fósforo sérico}} \right) / \left( \frac{\text{creatinina urinária}}{\text{creatinina sérica}} \right) \right] \times 100$$

Calculou-se também os valores de reabsorção tubular máxima de fósforo (RTMP), expressos mg/dL de acordo com a fórmula (DUBOURG et al., 2022):

$$\text{RTMP (mg/dL)} = \{0,3 \times \text{RTP} / [1 - (0,8 \times \text{RTP})]\} \times \text{fósforo sérico}$$

- Creatinina sérica: Determinada pelo método enzimático colorimétrico (kit comercial da Bioclin - Quibasa®). Para o cálculo da taxa de filtração glomerular estimada, foi utilizada a equação CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) sem ajuste para raça por ser o método mais adequado para estimar o valor indivíduos com doença falciforme (ARLET et al., 2012). Os valores foram expressos em mL/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Homens:

$$\text{TFGe (mL/min/1,73 m}^3) = 141 \times \min\left(\frac{\text{SCr}}{k}, 1\right)^\alpha \times \max\left(\frac{\text{SCr}}{k}, 1\right)^{-1,209} \times 0,993^{\text{idade}}$$

Mulheres:

$$\text{TFGe (mL/min/1,73 m}^3) = 141 \times \min\left(\frac{\text{SCr}}{k}, 1\right)^\alpha \times \max\left(\frac{\text{SCr}}{k}, 1\right)^{-1,209} \times 0,993^{\text{idade}} \times 1,018$$

onde SCr é o valor da creatinina sérica, k = 0,7 e α = -0,329 para mulheres e k = 0,9 e α = -0,411 para homens, min (SCr/k, 1) é o menor valor entre SCr/k e 1, enquanto max (SCr/k, 1) é o maior valor entre eles.

- Proteína C Reativa (PCR): Determinada por método imunoturbidimétrico (kit comercial da Bioclin – Quibasa®) com resultados expressos em mg/L.

### **3.7.5 Avaliação de marcadores hematológicos**

Os dados hematológicos foram obtidos a partir dos hemogramas utilizando os analisadores Minray BC-5000 e Sysmex KX-21N.

### **3.8 Análise estatística**

Os dados foram coletados e organizados em planilha no programa Microsoft® Excel (2019). A análise estatística foi feita no programa GraphPad Prism versão 6.0. As variáveis foram apresentadas como média, desvio padrão, mediana, frequência absoluta e porcentagem. Para a verificar a existência de interação entre as variáveis qualitativas, foram utilizados teste qui-quadrado e teste exato de Fisher. A normalidade das variáveis quantitativas foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre dois e três grupos, foram adotados teste de Mann-Whitney e teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn, respectivamente. A

correlação entre os marcadores clínicos foi verificada com o cálculo do coeficiente de Spearman ( $\rho$ ). O nível de significância adotado no presente estudo foi  $p < 0,05$ .



## 4 RESULTADOS

Os pacientes com AF apresentaram uma idade média de 33 anos, variando de 18 a 74 anos, com 55% sendo do sexo feminino. Observou-se que possuíam peso, altura e IMC significativamente menores em comparação ao grupo controle. Em relação às variáveis laboratoriais, observou-se aumento estatisticamente significativo da contagem de leucócitos, de linfócitos e de monócitos. A PCR estava, em média, duas vezes mais alta em comparação com os controles, enquanto albuminúria teve elevação de mais de 20 vezes. Também se apresentaram significativamente aumentados TFGe, fósforo sérico e RTMP. Houve redução de hemoglobina, creatinina sérica, cálcio sérico total e corrigido, calciúria e 25(OH)D. Não se verificou diferença significativa em contagem de neutrófilos, PTHi, RTP e fosfatúria (Tabela 1).

Tabela 1: Dados demográficos e laboratoriais dos pacientes com AF e do grupo controle.

	AF (n = 88)	Controle (n = 31)	p
Variáveis demográficas			
Idade (anos)	33 ± 12 (29)	33 ± 13 (29)	0,698
Sexo (feminino)	48 (55%)	16 (52%)	0,778
Peso (kg)	57 ± 11 (54)	74 ± 13 (72)	< 0,001*
Altura (m)	1,62 ± 0,10 (1,60)	1,67 ± 0,11 (1,65)	0,014*
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	21,83 ± 3,36 (21,21)	26,68 ± 4,83 (26,72)	< 0,0001*
Variáveis laboratoriais			
Hemoglobina (g/dL)	8,87 ± 1,72 (8,95)	13,86 ± 1,31 (13,7)	< 0,001*
Leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	8375 ± 3118 (7874)	6866 ± 2331 (6660)	0,036*
Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> )	4139 ± 2230 (3570)	4169 ± 1543 (4065)	0,402
Linfócitos (/mm <sup>3</sup> )	3320 ± 1220 (3055)	2215 ± 716,6 (2045)	< 0,0001*
Monócitos (/mm <sup>3</sup> )	678 ± 420 (580)	418 ± 150,4 (395)	0,008*
PCR (mg/L)	8,77 ± 9,97 (5,64)	3,95 ± 0,16 (3,91)	< 0,0001*
Creatinina sérica (mg/dL)	0,54 ± 0,26 (0,50)	0,63 ± 0,19 (0,60)	0,0003*
Albuminúria (mg/g-Cr)	197,50 ± 272,40 (95,41)	9,67 ± 7,12 (7,33)	< 0,0001*
Proteinúria (mg/g-Cr)	307,4 ± 401,4 (162,5)	116,3 ± 184,1 (64,38)	< 0,0001*
TFGe (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	136,9 ± 25,14 (135,8)	123,9 ± 14,93 (123,8)	0,0001*
Cálcio total (mg/dL)	8,27 ± 0,79 (8,20)	10,42 ± 0,67 (10,30)	< 0,001*
Cálcio corrigido (mg/dL)	8,32 ± 0,77 (8,30)	10,42 ± 0,67 (10,30)	< 0,001*
Fósforo sérico (mg/dL)	3,86 ± 0,94 (3,70)	3,46 ± 0,72 (3,40)	0,025*

Tabela 1: Dados demográficos e laboratoriais dos pacientes com AF e do grupo controle – Conclusão

	AF (n = 88)	Controle (n = 31)	p
Calciúria (mg/g-Cr)	57 ± 54 (48)	124 ± 62 (123)	< 0,001*
Fosfatúria (mg/g-Cr)	276 ± 133 (280)	265 ± 140 (246)	0,782
RTP (%)	96,27 ± 2,42 (96,68)	95 ± 3,24 (95,28)	0,053
RTMP (mg/dL)	3,596 ± 1,21 (3,53)	3,21 ± 0,53 (3,29)	0,017*
PTHi (pg/mL)	36 ± 19 (32)	45 ± 25 (44)	0,151
25(OH)D (ng/mL)	25 ± 11 (22)	30 ± 9 (30)	0,013*

Dados apresentados como média ± desvio-padrão (mediana) ou frequência absoluta (porcentagem).

Teste de Mann-Whitney e teste qui-quadrado. \*p < 0,05.

Dentre os pacientes, 7 (7,96%) apresentaram níveis elevados de PTHi e, em 5 deles, estavam associados a valores reduzidos de 25(OH)D. Além disso, 5 (5,7%) apresentaram quadro laboratorial de hipoparatiroidismo, com hipocalcemia (< 8,8 mg/dL) associada à hiperfosfatemia (≥ 4,5 mg/dL) e a níveis de PTHi dentro ou abaixo do intervalo de referência. Observou-se 30 (34,1%) pacientes com deficiência de vitamina D, 26 (29,5%) com insuficiência e 29 (33%) com níveis normais. A hiperfosfatemia estava presente em 15 (17,1%) pacientes.

Na tabela 2, são apresentados resultados de marcadores relacionados ao grau de hemólise, ao uso de hidroxiureia e a crises vaso-oclusivas. Todos os marcadores de gravidade (LDH, contagem de reticulócitos, bilirrubina indireta, AST) apresentaram-se acima dos valores de referência. A maioria dos pacientes (86%) utilizava HU, predominando o uso por quatro anos ou mais (69%). Além disso, 44% deles apresentaram crises vaso-oclusivas graves no ano anterior, com predomínio de crises esporádicas (74%).

Tabela 2: Marcadores laboratoriais associados a hemólise, uso de hidroxiureia e crises vaso-oclusivas em pacientes com AF.

	AF (n = 88)
Variáveis laboratoriais	
Reticulócitos (/mm <sup>3</sup> )	225,727 ± 76,671 (214,100)
LDH (U/L)	445 ± 217 (396)
Bilirrubina indireta (mg/dL)	2.09 ± 1.42 (1.83)
HbF (%)	13,69 ± 7,66 (14,1)
AST (U/L)	40,86 ± 17,23 (36)
Variáveis clínicas	
Uso de hidroxiureia	76 (86%)
Tempo de uso de hidroxiureia	
< 4 anos	15 (17%)
≥ 4 anos	59 (69%)
Apresentaram crises vaso-oclusivas graves no último ano	38 (44%)
Frequência de crises vaso-oclusivas graves no último ano	
Dor esporádica	28 (74%)
Dor frequente	10 (26%)

Dados apresentados como média ± desvio-padrão (mediana) e frequência absoluta (porcentagem).

Em seguida, foi realizada uma análise de correlação para compreender como os marcadores do metabolismo mineral relacionam-se com variáveis para avaliação do grau de hemólise, da inflamação e da função renal (tabela 3). Em relação aos marcadores de hemólise, houve correlação fraca com diversos indicadores do metabolismo mineral, destacando-se o fósforo sérico e os marcadores de reabsorção renal de P. Não se observou correlação com os níveis de PTHi.

Variáveis relacionadas à inflamação também apresentaram correlação com marcadores do metabolismo do cálcio e do fósforo, destacando-se o fósforo sérico, a RTP e a RTMP. Não houve correlação de nenhuma dessas variáveis com PTHi e 25-hidroxivitamina D. Por fim, foram observadas correlações de fracas a fortes com marcadores convencionais de função renal para todos, exceto a 25-hidroxivitamina D.

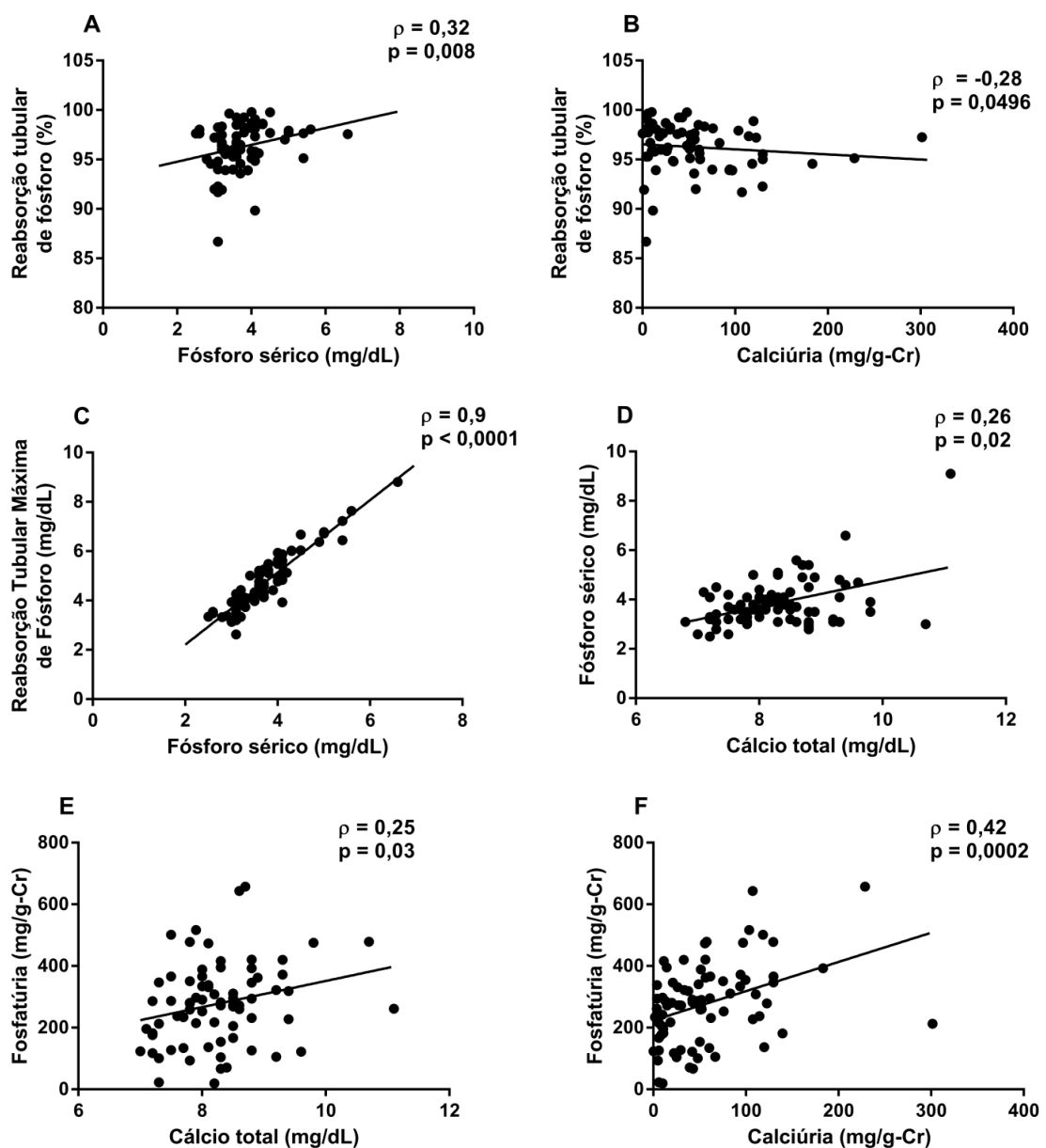
Tabela 3: Correlações entre os marcadores do metabolismo mineral e parâmetros laboratoriais relacionados à hemólise, à inflamação e à função renal nos pacientes com AF.

	PTH (pg/mL)		25(OH)D (ng/mL)		Cálcio total (mg/dL)		Fósforo sérico (mg/mL)		Calciúria (mg/g-Cr)		RTP (%)		RTMP (mg/dL)		Fosfatúria (mg/g-Cr)	
	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p	$\rho$	p
Hb (g/dL)	-0,02	0,86	-0,01	0,96	0,07	0,51	-0,26	0,02*	0,25	0,03*	-0,17	0,16	-0,17	0,026*	0,13	0,25
Reticulócitos (/mm <sup>3</sup> )	0,1	0,38	0,04	0,7	0,23	0,04*	0,07	0,52	0,06	0,61	0,01	0,94	0,1	0,46	0,06	0,65
LDH (U/L)	0,07	0,56	-0,26	0,02*	0,07	0,55	0,29	0,01*	-0,3	0,01*	0,26	0,04*	0,29	0,019*	-0,12	0,34
BI (mg/dL)	-0,15	0,18	-0,12	0,3	0,08	0,48	0,28	0,01*	0	0,24	0,18	0,16	0,23	0,063	-0,05	0,67
AST (U/L)	-0,05	0,67	-0,13	0,23	0,14	0,21	0,34	0,002*	-0,19	0,12	0,09	0,5	0,2	0,1	0,05	0,57
HbF (%)	-0,09	0,44	-0,03	0,83	-0,17	0,14	-0,38	0*	0,04	0,77	-0,29	0,02*	-0,43	0*	0,08	0,52
Leucócitos (/mm <sup>3</sup> )	-0,09	0,34	-0,08	0,46	0,13	0,21	0,43	0*	-0,05	0,67	0,39	0,001*	0,48	0*	-0,17	0,15
Neutrófilos (/mm <sup>3</sup> )	-0,16	0,15	0,03	0,8	0,1	0,36	0,38	0*	-0,02	0,86	0,39	0,001*	0,47	0*	-0,16	0,18
Linfócitos (/mm <sup>3</sup> )	-0,09	0,44	0,09	0,41	0,15	0,19	0,27	0,014*	-0,03	0,8	0,18	0,13	0,26	0,028*	-0,05	0,69
Monócitos (/mm <sup>3</sup> )	0,01	0,92	0,14	0,33	0,07	0,59	0,38	0,004*	-0,25	0,09	0,32	0,034*	0,43	0,004*	-0,27	0,065
PCR (mg/dL)	0,16	0,15	0,07	0,5	-0,26	0,02*	-0,07	0,51	-0,28	0,02*	0,08	0,47	0,16	0,15	0,07	0,5
Creatinina sérica (mg/dL)	0,02	0,9	0,02	0,84	-0,05	0,7	-0,2	0,08	-0,27	0,03*	-0,61	0*	-0,48	0*	0,1	0,42
Albuminúria (mg/g-Cr)	-0,32	0,01*	0,13	0,29	0,31	0,02*	0,01	0,93	0,1	0,43	-0,04	0,78	0,07	0,58	-0,03	0,8
Proteinúria (mg/g-Cr)	0	0,96	-0,06	0,62	0,2	0,09	0,15	0,21	0,14	0,22	-0,02	0,88	0,06	0,61	-0,01	0,9
TFGe (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	0,09	0,46	0,1	0,39	-0,02	0,89	0,29	0,01*	0,19	0,13	0,44	0*	0,48	0*	-0,02	0,87

\*Correlação de Spearman ( $\rho$ ) com  $p < 0,05$ .

Devido ao destaque dos marcadores do metabolismo do fósforo na análise anterior, foram feitas análises de correlação deles com os outros parâmetros do metabolismo mineral (gráfico 1). Não houve correlação com PTHi e 25(OH)D, enquanto a RTMP apresentou forte correlação com o fósforo sérico ( $r = 0,9$ ,  $p < 0,001$ ).

Gráfico 1: Correlação entre os marcadores do metabolismo mineral ósseo ( $\rho$ : correlação de Spearman,  $p < 0,05$ ). A) Fósforo sérico e RTP; B) Calciúria e RTP; C) Fósforo sérico e RTMP; D) Cálcio total e fósforo sérico; E) Cálcio total e fosfatúria; F) Calciúria e fosfatúria.



Por fim, analisaram-se as relações de fósforo sérico, fosfatúria, RTP e RTMP com o uso de HU, com o tempo de uso de HU, com a ocorrência de crises vaso-oclusivas graves e com a frequência dessas crises. Verificou-se que o uso de HU contribuiu para a redução do fósforo sérico (mediana: 3,60 mg/dL com HU x 3,95 mg/dL sem HU x 3,40 mg/dL dos controles), da RTP (mediana: 96,14% com HU x 98,04% sem HU x 95,28% dos controles) e da RTMP (mediana: 4,43 mg/dL com HU x 5,21 mg/dL sem HU x 4,20 mg/dL dos controles) (gráfico 2). Um período mais longo de tratamento com o medicamento não estava relacionado a alterações significativas dos marcadores avaliados (gráfico 3).

Gráfico 2: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o uso de HU (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.

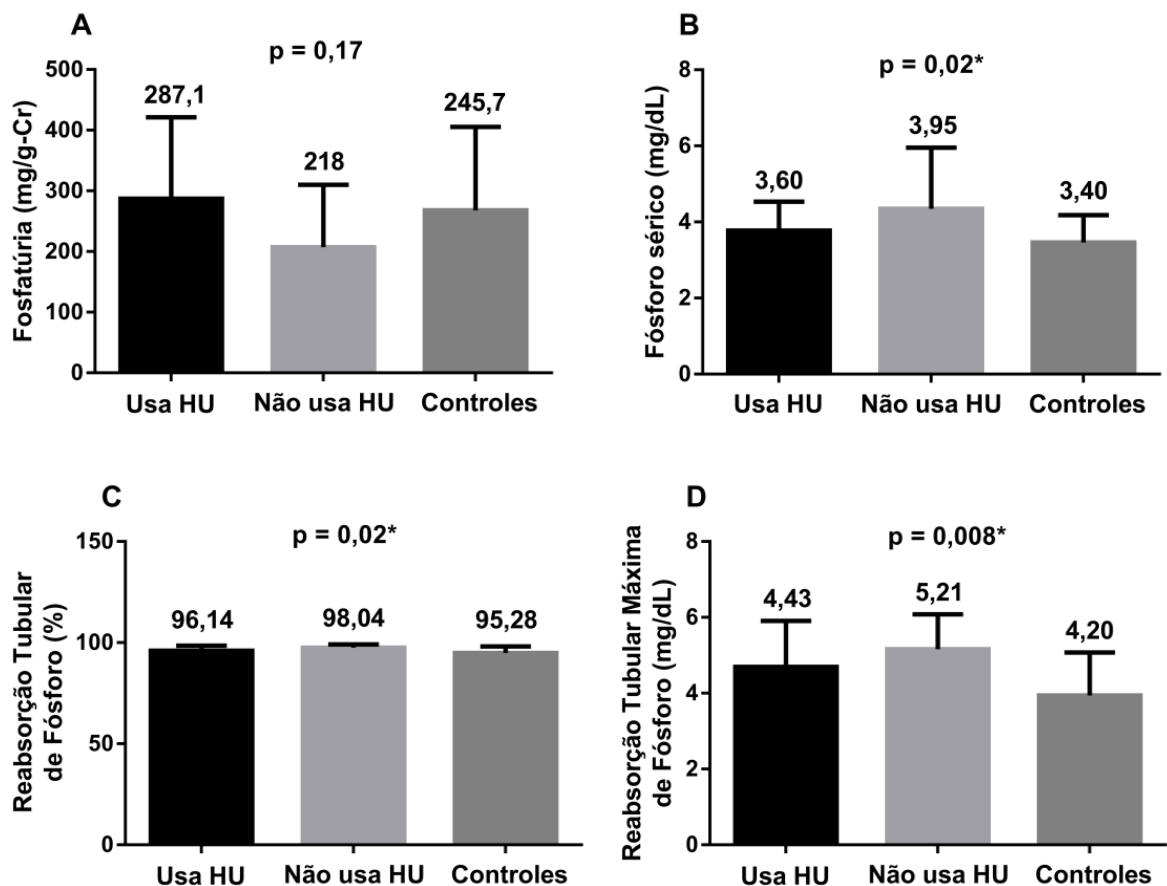
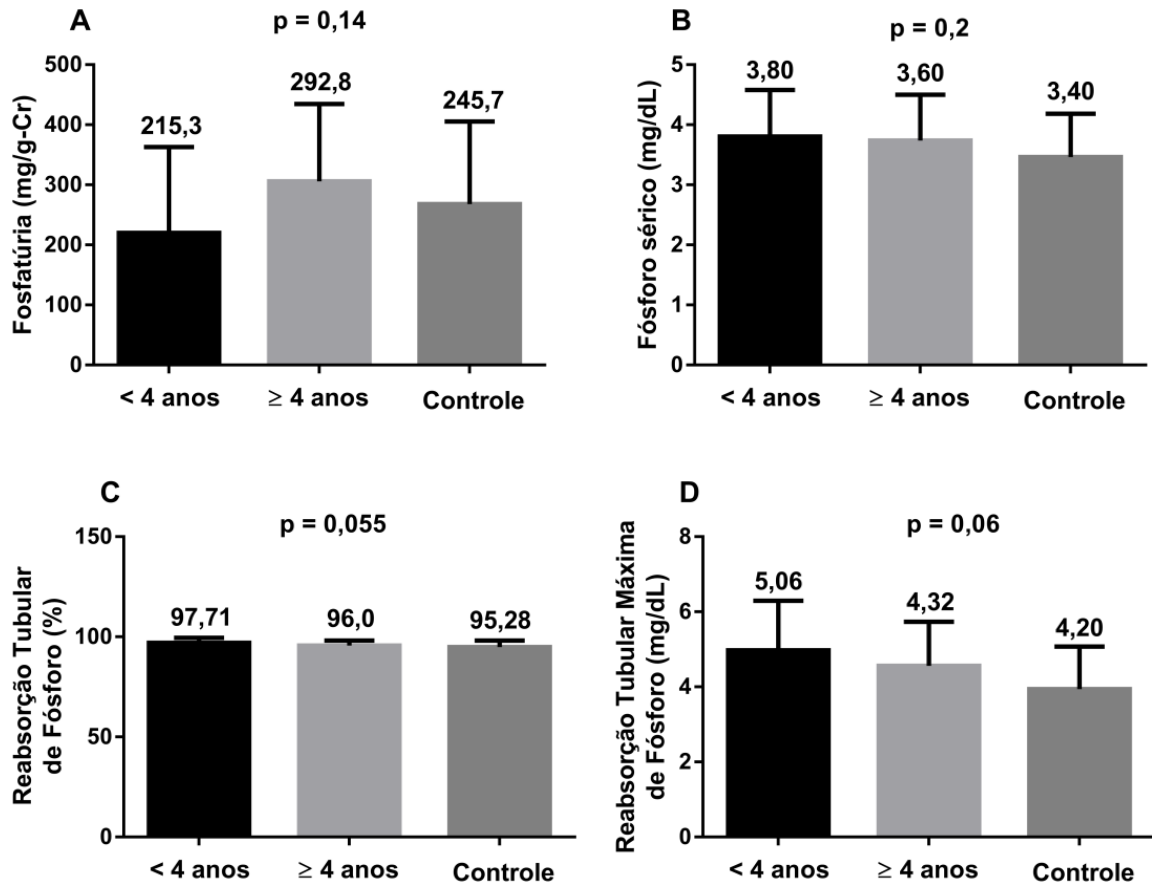


Gráfico 3: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o tempo de uso de HU (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.



Em relação à ocorrência de crises dolorosas graves, houve diferença significativa apenas em relação à RTMP (mediana: 4,63 mg/dL naqueles sem crises x 4,42 mg/dL naqueles com crises x 4,20 mg/dL nos controles) (gráfico 4). Não foram observadas alterações dos marcadores quando se considerou a frequência de crises graves (gráfico 5).

Gráfico 4: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a ocorrência de crises dolorosas graves no último ano (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.

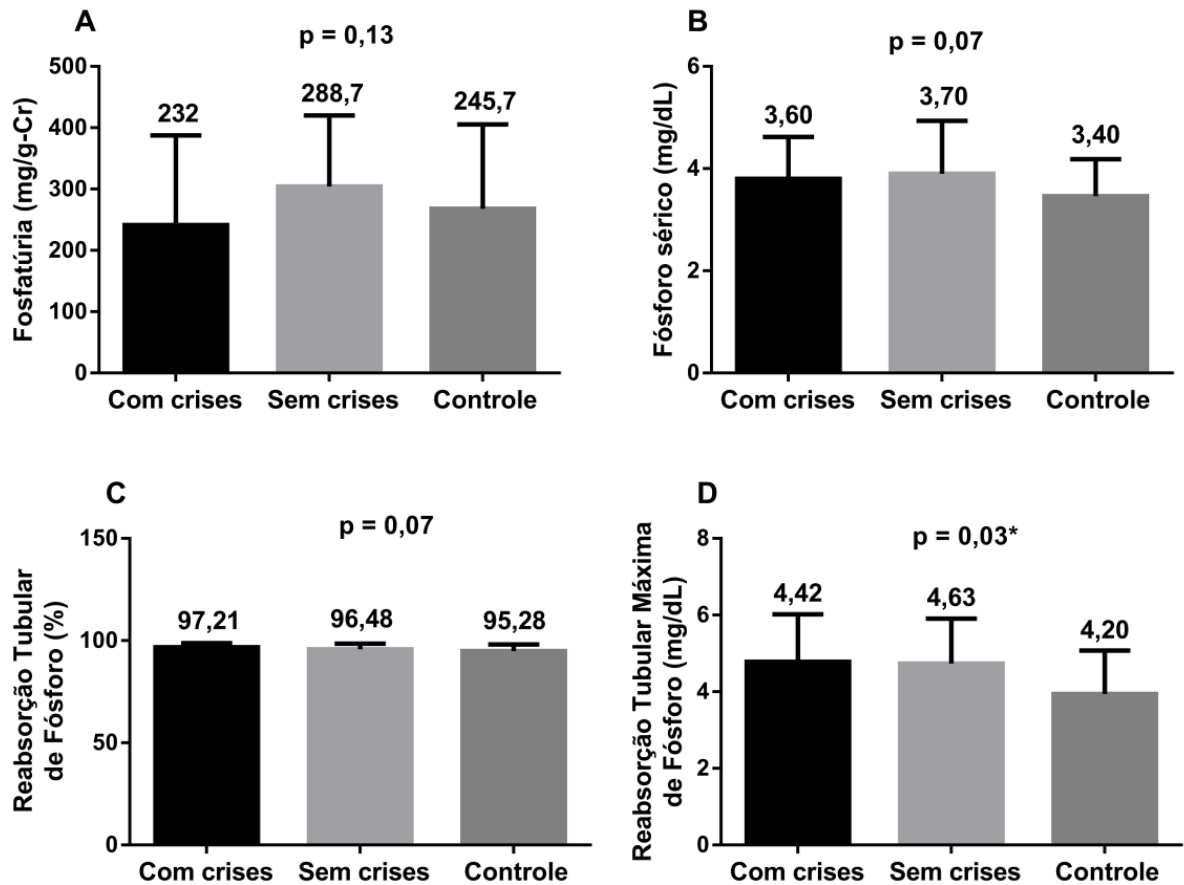
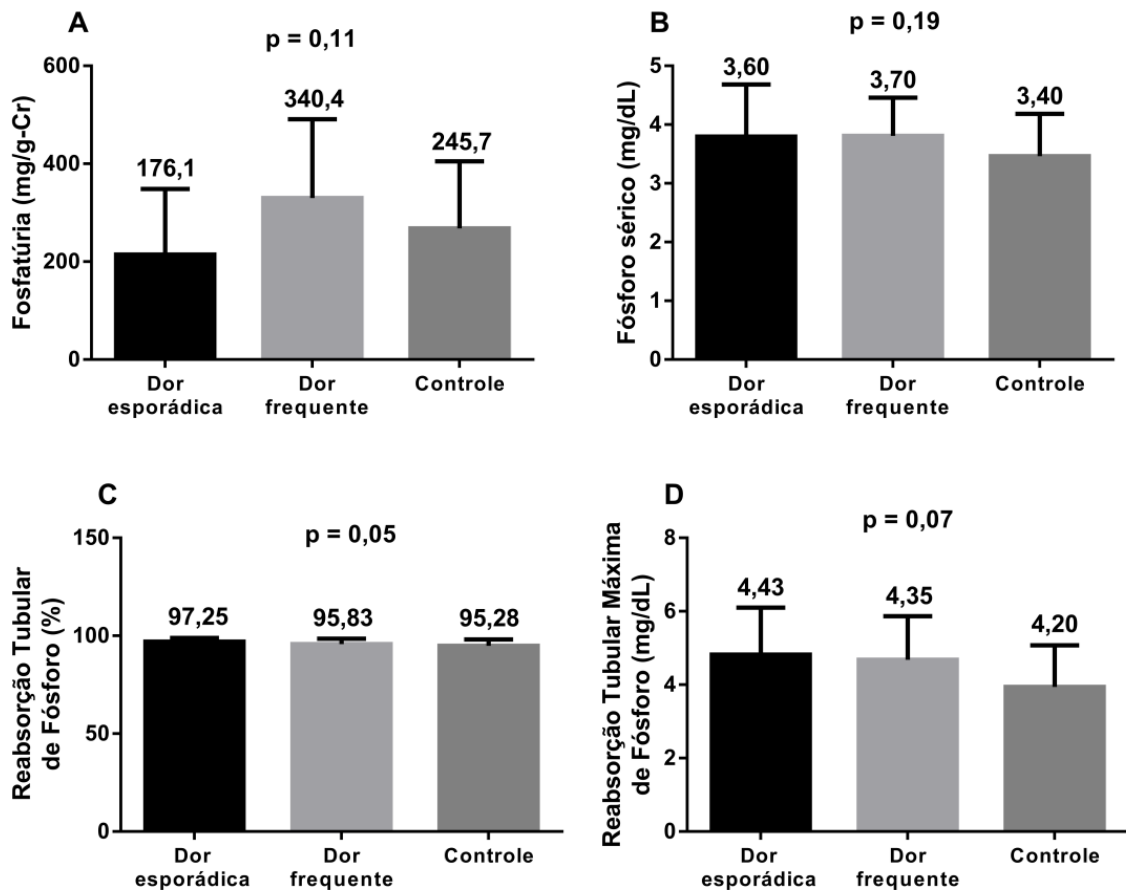


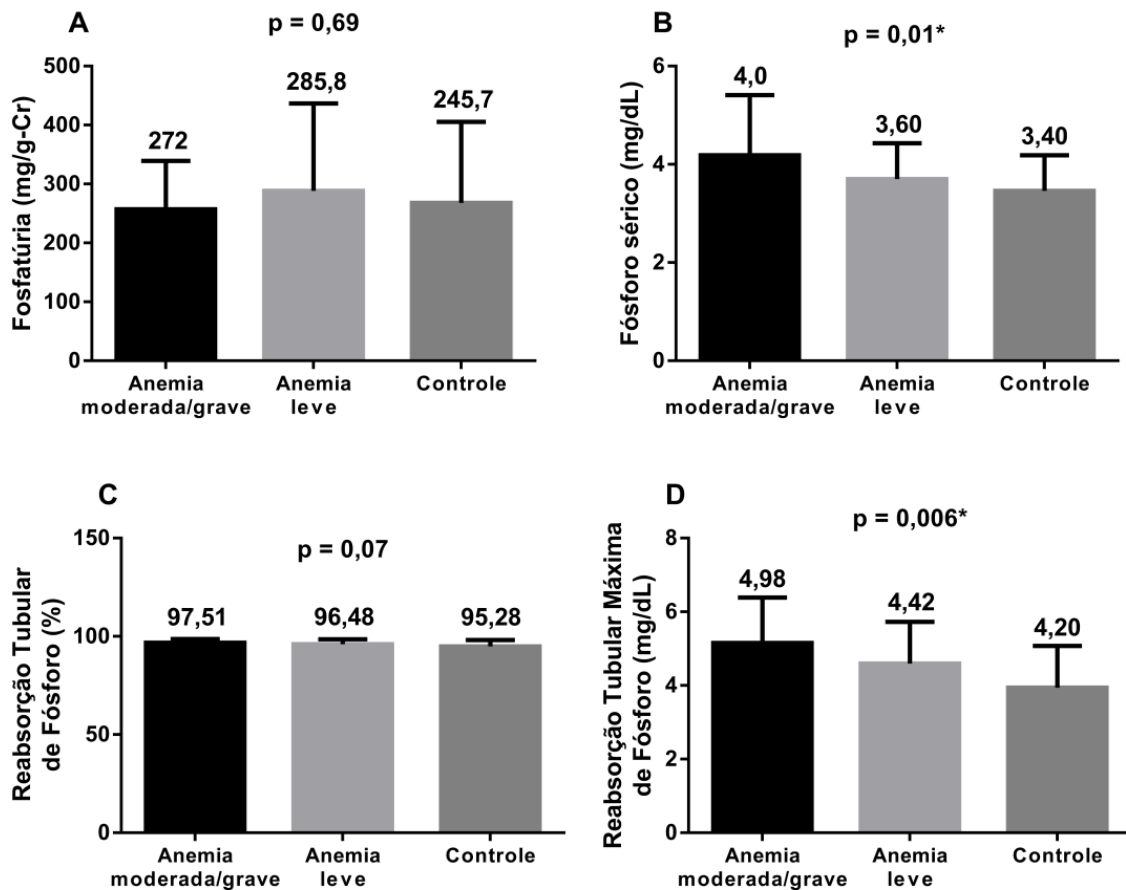


Gráfico 5: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a frequência de crises dolorosas graves no último ano (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.



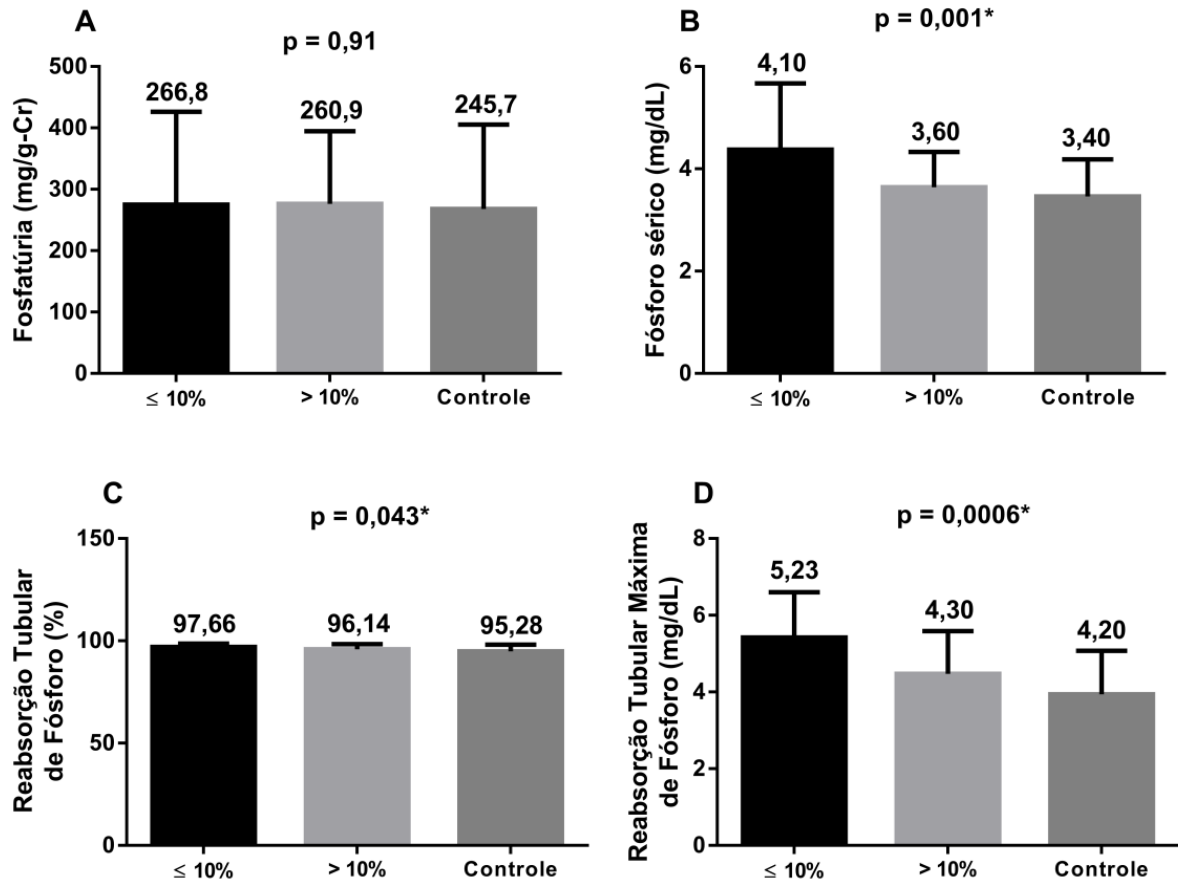
Como o uso de HU impactou o metabolismo do fósforo, verificou-se a variação desses marcadores em relação ao grau de anemia e à porcentagem de hemoglobina fetal. No grupo com anemia leve, houve redução de fósforo sérico (mediana: 4,0 mg/dL na anemia moderada/grave x 3,60 mg/dL na anemia leve x 3,40 mg/dL nos controles) e de RTMP (mediana: 4,98 mg/dL na anemia moderada/grave x 4,42 mg/dL na anemia leve x 4,20 mg/dL nos controles) (gráfico 6).

Gráfico 6: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando o grau de anemia (anemia leve: Hb  $\geq$  8 g/dL, anemia moderada ou grave: Hb  $<$  8 g/dL; teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.



Apenas 12 pacientes não utilizavam HU, e não se observou diferença nas porcentagens de HbF entre eles e os que utilizavam o medicamento ( $14,28\% \pm 7,6$  ( $14,5\%$ ) vs  $10,02\% \pm 7,35$  ( $9,7\%$ );  $p = 0,064$ ). Entretanto, ao comparar os marcadores do metabolismo de fósforo considerando um corte no valor de HbF em 10%, observou-se uma redução significativa tanto do fósforo sérico ( $4,10$  mg/dL para HbF  $\leq 10\%$  x  $3,60$  mg/dL para HbF  $> 10\%$  x  $3,40$  mg/dL nos controles) como da RTP ( $97,66\%$  para HbF  $\leq 10\%$  x  $96,14\%$  para HbF  $> 10\%$  x  $95,28\%$  nos controles) e da RTMP ( $5,23$  mg/dL para HbF  $\leq 10\%$  x  $4,30$  mg/dL para HbF  $> 10\%$  x  $4,20$  mg/dL nos controles) (gráfico 7).

Gráfico 7: Relação dos marcadores relacionados ao metabolismo do fósforo entre pacientes com AF e controles considerando a concentração de hemoglobina fetal (teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn,  $p < 0,05$ ). A) Fosfatúria; B) Fósforo sérico; C) RTP; D) RTMP.



## 5 DISCUSSÃO

Os pacientes com AF incluídos neste estudo apresentaram IMC reduzido em comparação com o grupo controle, mesmo com ambos os grupos possuindo o mesmo perfil de idade e sexo. A anemia falciforme é caracterizada por uma maior demanda nutricional devido ao gasto metabólico elevado e ao apetite reduzido (HYACINTH, ADEKEYE, YILGWAN, 2013).

A inflamação crônica e a taxa de hemólise elevada induzem um perfil de hipermetabolismo em uma tentativa do organismo de manter a função cardíaca e a eritropoese normais. Isso resulta em desvio de nutrientes que deveriam ser utilizados para o crescimento e a manutenção de outras funções vitais, o que pode contribuir para que os portadores possuam IMC reduzido em relação a não doentes (HIBBERT et al., 2006; LAMARRE et al., 2013; GARADAH et al., 2016; ANSA et al., 2022). Em estudo de 2016, Mandese e colaboradores mostraram que, em crianças com AF, o IMC e o peso estão diretamente relacionados ao grau de anemia e, portanto, à gravidade da doença.

Esse quadro também favorece a ocorrência de deficiências nutricionais, como a hipovitaminose D. Os pacientes com AF apresentaram níveis de vitamina D inferiores aos dos indivíduos do grupo controle, no entanto, observou-se deficiência da vitamina em apenas 30 (34,1%) deles. A hipovitaminose D é recorrente em estudos com essa população, que costumam relatar frequências elevadas, variando de 56 a 96% (NOLAN et al., 2015). A deficiência de 25(OH)D está associada à ocorrência de dor aguda e crônica em crianças com AF, com redução da frequência de dor com a reposição da vitamina (LEE, LICURSI, MCMAHON, 2015; SOE et al., 2017). Além disso, adultos com a doença apresentam maior risco de desenvolver complicações ósseas, como osteomalácia, osteopenia e osteoporose (ESKIOCAK, YILMAZ, ILHAN, 2022).

Por outro lado, 29 (33%) dos pacientes com AF possuíam níveis normais (entre 30 e 60 ng/mL). Isso pode ser devido a fatores como uma alimentação de maior qualidade, maior exposição à luz solar por viverem em uma região bastante ensolarada, a maioria dos participantes com AF fazia uso de hidroxiureia, que reduz efeitos deletérios da doença, incluindo complicações renais (BUISSON et al., 2004; LAURIN et al., 2014).

Houve elevação da contagem total de leucócitos, da contagem de linfócitos e de monócitos e da PCR em relação ao grupo controle, mas não dos neutrófilos. A elevação de marcadores inflamatórios é um achado frequente em pacientes com AF, e os valores encontrados são semelhantes aos observados por outros autores em indivíduos em uso de HU e estado estacionário (SILVA-PINTO et al., 2013; SANTIAGO et al., 2021; MOREIRA et al., 2022).

A PCR apresenta-se aumentada na AF mesmo em pacientes em estado estacionário, com maiores elevações durante crises vaso-oclusivas, podendo ser utilizada como fator de prognóstico nesses casos (AKINLADE et al., 2013). A hemólise crônica leva à liberação de grandes quantidades de hemoglobina e de seus produtos de degradação na circulação. A HbS e o grupo heme são responsáveis por promover inflamação ao ativar hemácias, células endoteliais, neutrófilos e monócitos, induzindo à produção de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF), interleucinas 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e 6 (IL-6), interferons (IFN) tipo I ( $\alpha$  e  $\beta$ ), quadro esse intensificado em crises vaso-oclusivas (GBOTOSHO, KAPETANAKI, KATO, 2020; ALLALI et al., 2022; KARAHAN et al., 2022). Supõe-se que a alta frequência de uso de HU nos pacientes do estudo tenha influenciado no perfil encontrado, já que a mesma auxilia no controle da hemólise e, conseqüentemente, da inflamação.

Como esperado, os marcadores de função renal apresentaram-se alterados nos pacientes com AF, com redução da creatinina sérica e elevação da albuminúria e da TFGe. A ocorrência de albuminúria e de hiperfiltração glomerular pode ser o precursor do desenvolvimento de doença renal crônica em alguns pacientes (BELISÁRIO et al., 2019).

Não houve diferença significativa nos níveis de PTHi entre os grupos estudados. No entanto, alguns pacientes com AF apresentaram hiperparatireoidismo secundário à deficiência de vitamina D, quadro já descrito na doença (GARADAH et al., 2016; GOMES, 2016). Pode estar associado à nefropatia falciforme, pois a exposição prolongada das células do túbulo contorcido proximal à hemoglobina livre, presente em altas concentrações na circulação sanguínea, impede a ativação da vitamina D ao competir com a proteína de ligação da vitamina D pela captação tubular (GLIOZZI et al., 2019). Este mecanismo favorece a redução da calcemia com conseqüente estímulo à liberação de PTHi. O hiperparatireoidismo secundário pode ainda contribuir na fisiopatologia da anemia, pois concentrações elevadas de PTHi induzem o influxo de cálcio nas hemácias e aumentam a fragilidade osmótica dessas

células, podendo torna-las mais propensas à destruição (BOGIN et al., 1982; LAKKAKULA, NERAL, 2019).

Observou-se um quadro laboratorial de hipoparatiroidismo em uma quantidade pequena de doentes, predominando em homens, o que não é comumente descrito na AF. Em pacientes com  $\beta$ -talassemia dependente de transfusão, o hipoparatiroidismo é um achado mais recorrente e deve-se principalmente à sobrecarga de ferro resultante de múltiplas transfusões ou de terapia de quelação inadequada. Pode também estar presente em pacientes que, no passado, manifestaram sobrecarga de ferro intensa o suficiente para favorecer o dano às glândulas paratireoides (ANGELOPOULOS et al., 2006). Esta complicação, entretanto, também é observada na  $\beta$ -talassemia não dependente de transfusão com ferritina sérica baixa, porém em menor frequência (DE SANCTIS et al., 2018).

Os níveis de fósforo sérico foram mais elevados nos pacientes com AF, apesar de ainda estarem dentro do intervalo de referência e de as amostras dos controles não terem sido coletadas em jejum, pois eram doadores de sangue. Não se observou diferença na fosfatúria entre os grupos, enquanto os valores de RTP mostraram uma inclinação à significância estatística com valores maiores na AF. Esse resultado, porém, pode ser uma adaptação ao consumo de fosfatos pelos controles, pois a RTP tende a diminuir para compensar a ingestão (DUBOURG et al., 2022). No entanto, não houve correlação entre fosfatúria e RTP em nenhum dos grupos.

A RTMP apresentou-se aumentada na AF, evidenciando uma redução da capacidade intrínseca dos rins de excretar fosfatos. De Jong, Den Berg e Van Eps (1978) e Smith e colaboradores (1981), acompanhando 5 e 12 pacientes adultos com AF, respectivamente, descreveram a ocorrência de hiperfosfatemia associada à elevação da RTMP e à redução da calciúria. A hipocalcemia é um achado frequente nesses pacientes em decorrência dos mecanismos anteriormente explicados (ELSHAL et al., 2012; GARADAH et al., 2016; COURBEBAISSE et al, 2016; ANTWI-BOASIAKO et al., 2019).

A maioria dos pacientes incluídos fazia uso de HU, o que pode ter impactado no perfil clínico e laboratorial observado. A alta frequência do uso de HU pode dever-se ao fato de o processo de recrutamento para o estudo ter ocorrido durante a pandemia de COVID-19, quando o Ambulatório de Hemoglobinopatias do HEMOCE passou a oferecer a modalidade de teleconsultas. Assim, na maioria das

vezes, apenas aqueles que utilizavam HU e precisavam renovar o estoque do medicamento iam presencialmente àquele serviço de saúde no período.

No presente estudo, houve correlação dos marcadores do metabolismo mineral ósseo com diversos parâmetros relacionados à hemólise, à inflamação e à função renal, destacando-se o fósforo, a RTP e a RTMP. A maioria das correlações foram fracas, no entanto, estavam presentes mesmo em uma amostra de pacientes pequena e com média de idade de 33 anos.

Considerando-se o grau de anemia, houve redução da fosfatemia e da RTMP naqueles com concentração de Hb  $\geq$  8 g/dL. Os níveis séricos de fósforo estão diretamente relacionados à presença de anemia leve ou moderada mesmo em pacientes com função renal normal ou com DRC em estágio inicial. Em indivíduos com TFG  $>$  60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>, valores elevados dentro do intervalo de referência estavam associados a maior risco de anemia (WOJCICKI, 2013). Tran e colaboradores (2016) verificaram que, em uma população sem DRC, a cada elevação de 0,5 mg/dL do fósforo sérico, a chance de apresentar anemia moderada ( $<$  11 g/dL) aumentava em 16%. Dentre os mecanismos sugeridos estão o estímulo do fósforo à produção de toxinas urêmicas, que inibem a eritropoese (KOVESDY et al., 2011) e a calcificação de artérias renais resultando em deficiência de eritropoetina (KUROO, 2014). Juntamente com alterações inerentes à AF, estes fatores podem estar contribuindo na fisiopatologia da doença.

Em crianças com DF, observou-se níveis elevados de fósforo sérico e de reabsorção tubular de P, mesmo com níveis de FGF23 intacto acima do limite superior na maioria dos pacientes (RAJ et al., 2014). Já em adultos com DF, tem-se observado apenas a elevação do FGF23 clivado (FGF23c), o qual compete com o FGF-23i pelos sítios de ligação do complexo receptor de FGF (FGFR) - klotho nos túbulos contorcidos proximais. Com isso, há supressão da sinalização do hormônio ativo com redução da atividade fosfatúrica. Nesses estudos, o FGF23i não parece estar relacionado a alterações no metabolismo mineral ósseo nem na função renal. Além disso, mesmo com a elevação do FGF23c, os níveis de fósforo sérico permaneceram inalterados em relação aos controles (COURBEBASSE et al., 2016; AGORO et al., 2018; VAN VUREN et al., 2020).

No estudo de Raj e colaboradores (2014), houve correlação positiva do fósforo sérico com a LDH, semelhante ao encontrado no presente estudo. A enzima é o marcador mais proximamente relacionado ao grau de hemólise intravascular e uma

elevação de 100 U/L aumenta o risco de evolução da nefropatia falciforme para a DRC estágio II (ROGER et al, 2021).

Observou-se correlação das contagens de leucócitos, neutrófilos, monócitos e linfócitos com o fósforo sérico. Há evidências de que existe correlação entre a fosfatemia e os níveis de marcadores inflamatórios tanto *in vitro* como em modelos murinos e em humanos, principalmente na DRC e não necessariamente associados à sinalização por FGF23 (NAVARRO-GONZALÉZ et al., 2009; YAMADA et al., 2014; SOSA et al., 2020; CZAYA et al., 2022). Entretanto, não há estudos sobre essa relação na AF.

Não houve correlação dos níveis de PTHi e de vitamina D nos pacientes com AF em relação a nenhum dos parâmetros do metabolismo do fósforo avaliados. Isso provavelmente ocorreu porque, apesar de apresentarem uma tendência à sobrecarga de fósforo, a fosfatemia nesse grupo permaneceu dentro do intervalo de referência para adultos. Entretanto, houve sinais de relação com marcadores de seguimento da doença.

Nos pacientes com AF, observou-se que o uso de HU alterou significativamente o metabolismo do fósforo. Um tratamento mais prolongado com HU apresentou tendência a diminuir a RTP e a RTMP. O uso de HU por 4 anos ou mais, portanto, pode estar contribuindo para elevar a capacidade de excreção renal do fósforo, intrinsecamente reduzida na AF. Em estudo com o mesmo grupo de pacientes com AF, Laurentino e colaboradores (2018) verificaram que o uso de HU com doses maiores que 10 mg/kg/dia e por mais de 50 meses estava associado a redução da taxa de hemólise. Assim, pode-se supor que a HU, ao reduzir a hemólise, auxilia na normalização do metabolismo de fósforo.

Avaliando pacientes sem AF, mas com DRC, Hong e colaboradores (2015) observaram que a RTP se altera mais precocemente do que o PTHi e quase tão rápido quanto o FGF23i: para a faixa de TFGe entre 75 e 89 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, 50% dos pacientes apresentaram excesso de FGF23, 25% tinham valores anormais de RTP e apenas 12,5% estavam PTHi elevado. Para TFGe entre 45 e 59 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, as porcentagens de pacientes com níveis alterados de FGF23 e RTP eram de 60% e 80%, respectivamente. Considerando-se que os pacientes com AF não apresentavam DRC e, ainda assim, apesar da ausência de alteração nos níveis de PTHi, foi verificada alteração dos valores de fósforo sérico, RTP e RTMP em relação aos controles, correlação deles com marcadores de acompanhamento da doença e



melhora dos resultados naqueles em uso de HU, demonstra-se a importância de realizar o acompanhamento do metabolismo do fósforo na AF e de utilizar esses marcadores.

No presente estudo, mesmo com a casuística com AF apresentando um número pequeno daqueles que não usavam HU, houve tendência de diferença na porcentagem de HbF entre os dois grupos, influenciando também o metabolismo do fósforo: naqueles com HbF > 10%, houve redução de fósforo sérico, RTP e RTMP. Sabe-se que valores de P sérico próximos ao limite superior de referência (4 – 4,5 mg/dL) elevam o risco de surgimento de DRC em indivíduos com doenças cardiovasculares e com TFG<sub>e</sub> elevada (média de 134 mL/min/1,73m<sup>2</sup>) (O'NEAGHDHA et al., 2011). Ademais, em estudo com pacientes com AF, a HbF mais elevada estava associada a menores níveis de marcadores de hemólise (MOREIRA et al., 2015). Assim, pode-se inferir que o tratamento com HU, ao auxiliar na elevação da HbF e no controle da hemólise, ajuda a diminuir os níveis séricos e a reabsorção de fósforo, podendo proteger os pacientes com AF de complicações associadas a alterações do metabolismo do P.

Portanto, fósforo sérico, RTP e RTMP destacam-se como possíveis marcadores de monitoramento do metabolismo do fósforo em pacientes com AF. Estudos com maior casuística são necessários para avaliar os valores de referência para essa população e verificar qual seria o benefício de realizar o monitoramento com o fósforo sérico, pois um controle fino dos níveis dele é realizado pelos rins, e com a RTP devido à suscetibilidade dela a alterações na ingestão de fosfatos e à faixa etária.

Em 1981, Smith e colaboradores, em seguimento de 12 pacientes com AF por uma média de 100 meses, mostraram uma maior frequência de crises dolorosas com necessidade de hospitalização em pacientes com hiperfosfatemia. No presente estudo, essa observação não se repetiu, apesar de a ocorrência de crises ter apresentado relação com alteração da RTMP. Crises mais frequentes não estavam associadas a alterações no metabolismo do fósforo. Esses resultados podem ser devidos ao viés associado ao método de coleta de dados adotado. O registro de hospitalizações em outros serviços era escasso nos prontuários, e a maioria das informações foi obtida a partir do relato dos pacientes. Portanto, essas nem sempre estavam de acordo com a realidade, dependendo da memória de cada um. Além disso, houve alta frequência de relato de crises graves, o que pode ser devido à maior

dificuldade de acesso aos serviços de saúde em 2020, ano anterior à inclusão dos pacientes no estudo, prejudicando o controle de crises não graves.

Algumas das limitações do estudo foram: incluiu-se uma quantidade de participantes aquém do esperado devido à pandemia e ao curto período disponível para a realização do estudo. A característica transversal do estudo não permitiu a obtenção de dados mais fidedignos sobre complicações clínicas nem sobre a ingestão de fosfatos pelos participantes. A maioria dos pacientes fazia uso de HU, dificultando a comparação com aqueles que não usavam o medicamento. O diagnóstico de diabetes mellitus nos pacientes com AF não foi adotado como critério de não inclusão, o que pode ter afetado os resultados de albuminúria. Entretanto, a doença é um achado raro em pacientes com anemia falciforme (AKINLADE et al., 2018). As amostras do grupo controle não foram obtidas em jejum, o que pode ter impactado os resultados da RTP na comparação com os doentes. Não foi possível obter amostras de urina de 24 horas para uma análise mais exata do nível de fosfatúria. As dosagens de FGF23 intacto foram realizadas, porém os resultados apresentaram inconsistências que impossibilitaram a inclusão neste estudo e a repetição da análise não foi viável. Os níveis de FGF23 clivado também não foram verificados. Assim, não foi possível compreender a influência do FGF23 sobre os marcadores em estudo na AF. O hormônio é considerado o principal regulador da excreção de fósforo pelos rins e o FGF23c está frequentemente elevado em doenças falciformes.

Este estudo, no entanto, permitiu observar a relação existente entre o metabolismo mineral e os parâmetros de monitoramento da doença, sugerindo novos possíveis marcadores para monitorização do metabolismo do fósforo na AF e da gravidade da doença.

## 6 CONCLUSÃO

Em comparação com o grupo controle, os pacientes com anemia falciforme apresentaram menores níveis de 25-hidroxivitamina D, de cálcio total e corrigido e de calciúria e maiores valores de fósforo sérico e de RTMP. Não houve diferença nos níveis de RTP, de fosfatúria e de PTHi.

Houve correlação de diversos parâmetros utilizados para acompanhamento laboratorial da AF com marcadores do metabolismo mineral ósseo, destacando-se fósforo sérico, RTP e RTMP, o que demonstra a importância do monitoramento do metabolismo do fósforo. Esses marcadores, no entanto, não estavam correlacionados ao PTHi nem à 25(OH)D.

Observou-se redução de fósforo sérico, RTP e RTMP naqueles em uso de hidroxureia e no grupo com HbF elevada, porém não foram observadas alterações desses parâmetros relacionadas ao tempo de uso do HU. Tanto fósforo sérico como RTMP apresentaram redução nos pacientes com anemia leve. Considerando a ocorrência de crises dolorosas graves, houve alteração significativa apenas da RTMP, o que não se repetiu na análise quanto à frequência de crises. Este resultado sugere que o fósforo sérico, a RTP e a RTMP podem ser bons marcadores de monitoramento da gravidade em pacientes com AF.

## REFERÊNCIAS

ABAN, I. et al. Severe anemia early in life as a risk factor for sickle-cell kidney disease. **Blood**, v. 129, n. 3, p. 385–387, 19 jan. 2017.

ABATE, E. G.; CLARKE, B. L. Review of Hypoparathyroidism. **Frontiers in Endocrinology**, v. 7, 16 jan. 2017.

AGORO, R. et al. Inhibition of fibroblast growth factor 23 (FGF23) signaling rescues renal anemia. **FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 32, n. 7, p. 3752–3764, 2018.

AKINLADE, K. S. et al. Serum copeptin and cortisol do not accurately predict sickle cell anaemia vaso-occlusive crisis as C-reactive protein. **PLOS ONE**, v. 8, n. 11, p. e77913, 2013.

AKINLADE, K. et al. Insulin sensitivity, inflammation, and basal metabolic rate in adults with sickle cell anemia. **International Journal of Applied & Basic Medical Research**, v. 8, n. 2, p. 106, 2018.

ALLALI, S. et al. HbS promotes TLR4-mediated monocyte activation and proinflammatory cytokine production in sickle cell disease. **Blood**, v. 140, n. 18, p. 1972–1982, 2022.

ALVAREZ, O. et al. Effect of hydroxyurea treatment on renal function parameters: Results from the multi-center placebo-controlled BABY HUG clinical trial for infants with sickle cell anemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 59, n. 4, p. 668–674, 2012.

ANGELOPOULOS, N. G. et al. Hypoparathyroidism in transfusion-dependent patients with  $\beta$ -thalassemia. **Journal of Bone and Mineral Metabolism**, v. 24, n. 2, p. 138–145, 20 fev. 2006.

ANSA, V. O. et al. Cardiovascular Findings in Adult Patients with Sickle Cell Anaemia in Steady-State seen in Calabar, Nigeria. **West African Journal of Medicine**, v. 39, n. 8, p. 844 – 851, 2022.

ANTWI-BOASIAKO, C. et al. Total Serum Magnesium Levels and Calcium-To-Magnesium Ratio in Sickle Cell Disease. **Medicina**, v. 55, n. 9, p. 547, 29 ago. 2019.

ARCANJO, G. S. **Análise de variantes genéticas no gene VDR e sua influência no desenvolvimento de complicações clínicas em pacientes com anemia falciforme**. 2020. Dissertação (Mestrado em Genética). Universidade Federal de Pernambuco, 2020.

ARLET, J.-B. et al. Determination of the best method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine in adult patients with sickle cell disease: a prospective observational cohort study. **BMC Nephrology**, v. 13, n. 1, 6 ago. 2012.

BALIGA, B. S. et al. Mechanism for fetal hemoglobin induction by hydroxyurea in sickle cell erythroid progenitors. **American Journal of Hematology**, v. 65, n. 3, p. 227–233, 2000.

BALLAS, S. K. More definitions in sickle cell disease: Steady state v base line data. **American Journal of Hematology**, v. 87, n. 3, p. 338–338, 21 dez. 2011.

BARTOLUCCI, P. et al. Six months of hydroxyurea reduces albuminuria in patients with sickle cell disease. **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 27, n. 6, p. 1847–1853, 2016.

BAYNES. **Bioquímica Médica 3a edição**. [s.l.] Elsevier Brasil, 2011.

BELISÁRIO, A. R. et al. Sickle cell disease nephropathy: an update on risk factors and potential biomarkers in pediatric patients. **Biomarkers in Medicine**, v. 13, n. 11, p. 965–985, ago. 2019.

BENSINGER, T. A. Hemolysis in Sickle Cell Disease. **Archives of Internal Medicine**, v. 133, n. 4, p. 624, 1 abr. 1974.

BILEZIKIAN, J. P. Hypoparathyroidism. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 105, n. 6, p. 1722–1736, 22 abr. 2020.

BINKLEY, N.; CARTER, G. D. Toward Clarity in Clinical Vitamin D Status Assessment. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 46, n. 4, p. 885–899, dez. 2017.

BOGIN, E. et al. Effect of Parathyroid Hormone on Osmotic Fragility of Human Erythrocytes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 69, n. 4, p. 1017–1025, 1 abr. 1982.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Conjunta nº 5, de 19 de fevereiro de 2018. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme. Disponível em <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/protocolos-clinicos-e-diretrizes-terapeuticas-pcdt/arquivos/2018/doenca-falciforme-pcdt.pdf>>. Acesso em 24 jul. 2022.

BRONNER, F. Extracellular and Intracellular Regulation of Calcium Homeostasis. **The Scientific World JOURNAL**, v. 1, p. 919–925, 2001.

BUISSON, A. M. et al. Low vitamin D status in children with sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 145, n. 5, p. 622–627, 2004.

CANÇADO, R. D.; JESUS, J. A. A doença falciforme no Brasil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 3, set. 2007.

CANÇADO, R. D. et al. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para uso de hidroxiureia na doença falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 5, p. 361–366, 2009.

CASTRO, L. C. G. DE. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v. 55, n. 8, p. 566–575, 2011.

CLARKE, B. L. et al. Epidemiology and Diagnosis of Hypoparathyroidism. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 101, n. 6, p. 2284–99, 2016.

CORTELLAZZI, L. C. et al. Reticulocyte parameters in hemoglobinopathies and iron deficiency anemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 25, n. 2, p. 97–102, 1 jun. 2003.

COURBEBASSE, M.; LANSKE, B. Biology of Fibroblast Growth Factor 23: From Physiology to Pathology. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 8, n. 5, p. a031260, 4 ago. 2017.

COURBEBASSE, M. et al. Carboxy-terminal fragment of fibroblast growth factor 23 induces heart hypertrophy in sickle cell disease. **Haematologica**, v. 102, n. 2, p. e33–e35, 27 out. 2016.

CZAYA, B. et al. Hyperphosphatemia increases inflammation to exacerbate anemia and skeletal muscle wasting independently of FGF23-FGFR4 signaling. **eLife**, v. 11, 2022.

DA SILVA JUNIOR, G. B.; LIBÓRIO, A. B.; DE FRANCESCO DAHER, E. New insights on pathophysiology, clinical manifestations, diagnosis, and treatment of sickle cell nephropathy. **Annals of Hematology**, v. 90, n. 12, p. 1371–1379, 2011.

DARBARI, D. S. et al. Markers of severe vaso-occlusive painful episode frequency in children and adolescents with sickle cell anemia. **The Journal of Pediatrics**, v. 160, n. 2, p. 286–290, 1 fev. 2012.

DE JONG, P. E.; DEN BERG, L. T. W. D. J.-V.; VAN EPS, L. W. S. The Tubular Reabsorption of Phosphate in Sickle-Cell Nephropathy. **Clinical Science**, v. 55, n. 5, p. 429–434, 1 nov. 1978.

DE OLIVEIRA, J. F. et al. Vitamin D in children and adolescents with sickle cell disease: an integrative review. **Revista Paulista de Pediatria (English Edition)**, v. 33, n. 3, p. 349–354, set. 2015.

DE SANCTIS, V. et al. An ICET- A survey on Hypoparathyroidism in Patients with Thalassaemia Major and Intermedia: A preliminary report. **Acta Biomedica: Atenei Parmensis**, v. 88, n. 4, p. 435–444, 2018.

DOMINICAL, V. M. et al. Interactions of sickle red blood cells with neutrophils are stabilized on endothelial cell layers. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 56, n. 1, p. 38–40, jan. 2016.

DOURADO DE FARIA, C. et al. **IMPORTÂNCIA DA HEMOGLOBINA FETAL PARA O TRATAMENTO DA ANEMIA FALCIFORME**. Disponível em: <<https://revistas.unifacs.br/index.php/sepa/article/viewFile/6764/4274>>. Acesso em: 06 mar. 2023.

DUBOURG, L. et al. Tubular phosphate handling: references from child to adulthood in the era of standardized serum creatinine. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 37, n. 11, p. 2150–2156, 2022.

EDMONSTON, D.; WOLF, M. FGF23 at the crossroads of phosphate, iron economy and erythropoiesis. **Nature Reviews. Nephrology**, v. 16, n. 1, p. 7–19, 2020.

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. 2, p. 270–276, 2012.

ESKIOCAK, Ö.; YILMAZ, M. Ö.; İLHAN, G. Metabolic bone diseases in sickle cell anemia patients and evaluation of associated factors. **The American Journal of the Medical Sciences**, v. 363, n. 6, p. 490–494, 2022.

FERREIRA, C.E.S. et al. Posicionamento Oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML) e da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) – Intervalos de Referência da Vitamina D - 25(OH)D – Atualização 2018. Disponível em <<http://bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.2>>. Acesso em 12 ago. 2022.

GARADAH, T. et al. Hormonal and echocardiographic abnormalities in adult patients with sickle-cell anemia in Bahrain. **Journal of Blood Medicine**, v. Volume 7, p. 283–289, dez. 2016.

GBD 2013 MORTALITY AND CAUSES OF DEATH COLLABORATORS. Global, regional, and national age–sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The Lancet**, v. 385, n. 9963, p. 117–171, jan. 2015.

GBOTOSHO, O. T.; KAPETANAKI, M. G.; KATO, G. J. The worst things in life are free: The role of free heme in sickle cell disease. **Frontiers in Immunology**, v. 11, p. 561917, 2020.

GLIOZZI, M. L. et al. Hemoglobin alters vitamin carrier uptake and vitamin D metabolism in proximal tubule cells: implications for sickle cell disease. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 317, n. 5, p. C993–C1000, 1 nov. 2019.

GOMES, I. C. P. **Avaliação endócrino-metabólica com anemia falciforme: uma coorte de 10 anos**. 2016. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade Federal de Sergipe, 2016.

GUASCH, A. et al. Glomerular involvement in adults with sickle cell hemoglobinopathies: Prevalence and clinical correlates of progressive renal failure: Prevalence and clinical correlates of progressive renal failure. **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 17, n. 8, p. 2228–2235, 2006.

HABENER, J. F. et al. Parathyroid hormone biosynthesis. Correlation of conversion of biosynthetic precursors with intracellular protein migration as determined by electron microscope autoradiography. **Journal of Cell Biology**, v. 80, n. 3, p. 715–731, 1 mar. 1979.

HERRICK, J. B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. **Archives of Internal Medicine**, v. VI, n. 5, p. 517–521, 1 nov. 1910.

HIBBERT, J. M. et al. Erythropoiesis and myocardial energy requirements contribute to the hypermetabolism of childhood sickle cell anemia. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 43, n. 5, p. 680–687, 2006.

HONG, Y. A. et al. Assessment of tubular reabsorption of phosphate as a surrogate marker for phosphate regulation in chronic kidney disease. **Clinical and Experimental Nephrology**, v. 19, n. 2, p. 208–215, 2015.

HOLICK, M. F. Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application. **Annals of Epidemiology**, v. 19, n. 2, p. 73–78, fev. 2009.

HYACINTH, H. I.; ADEKEYE, O. A.; YILGWAN, C. S. Malnutrition in sickle cell anemia: Implications for infection, growth, and maturation. **Journal of Social, Behavioral and Health Sciences**, v. 7, n. 1, 2013.

INGRAM, V. M. Gene Mutations in Human Hæmoglobin: the Chemical Difference Between Normal and Sickle Cell Hæmoglobin. **Nature**, v. 180, n. 4581, p. 326–328, ago. 1957.

JACQUILLET, G.; UNWIN, R. J. Physiological regulation of phosphate by vitamin D, parathyroid hormone (PTH) and phosphate (Pi). **Pflügers Archive - European Journal of Physiology**, v. 471, n. 1, p. 83–98, 5 nov. 2018.

JAMAL, S. A.; MILLER, P. D. Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism. **Journal of Clinical Densitometry**, v. 16, n. 1, p. 64–68, jan. 2013.

JOHNSON, R. J. et al. **Comprehensive Clinical Nephrology**. 6. ed. [s.l.] Elsevier, 2018.

JÜPPNER, H. Phosphate and FGF-23. **Kidney International**, v. 79, p. S24–S27, abr. 2011.

KARAHAN, F. et al. The role of immature granulocyte percentage in predicting acute chest syndrome and the severity of the vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. **The Turkish Journal of Pediatrics**, v. 64, n. 1, p. 92–97, 2022.

KATO, G. J.; NOURAIE, S. M.; GLADWIN, M. T. Lactate dehydrogenase and hemolysis in sickle cell disease. **Blood**, v. 122, n. 6, p. 1091–1092, 8 ago. 2013.

KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n. 1, 15 mar. 2018.



KETTELER, M. et al. Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. **European Heart Journal**, v. 34, n. 15, p. 1099–1101, 7 out. 2012.

KOVESDY, C. P. et al. Association of serum phosphorus level with anemia in kidney transplant recipients. **Transplantation**, v. 91, n. 8, p. 875–882, 2011.

KUROO M. New Developments in CKD-MBD. Why is phosphate overload harmful? **Clinical Calcium**, v. 24, n. 12, p. 1785–1792, 2014.

KRISHNAMOORTHY, P. et al. Primary Hyperparathyroidism Mimicking Vaso-occlusive Crises in Sickle Cell Disease. **PEDIATRICS**, v. 118, n. 2, p. e537–e539, 1 ago. 2006.

LAKKAKULA, B. V.; NERAL, A. Parathyroid hormone abnormalities in sickle cell anemia patients. **Journal of Parathyroid Disease**, v. 7, n. 1, p. 1–4, 27 jul. 2018.

LAMARRE, Y. et al. Male gender, increased blood viscosity, body mass index and triglyceride levels are independently associated with systemic relative hypertension in sickle cell anemia. **PLOS ONE**, v. 8, n. 6, p. e66004, 2013

LATIC, N.; ERBEN, R. G. FGF23 and Vitamin D Metabolism. **JBMR Plus**, v. 5, n. 12, 13 out. 2021.

LAURENTINO, M. R. et al. Non-invasive urinary biomarkers of renal function in sickle cell disease: an overview. **Annals of Hematology**, v. 98, n. 12, p. 2653–2660, 23 out. 2019.

LAURENTINO, M. R. et al. Analysis of BCL11A gene polymorphisms and hemolysis parameters in patients with sickle-cell disease. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 54, n. 3, 2018.

LAURIN, L.-P. et al. Hydroxyurea is associated with lower prevalence of albuminuria in adults with sickle cell disease. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 29, n. 6, p. 1211–1218, 2014.

LEDERER, E. Regulation of serum phosphate: Phosphate homeostasis. **The Journal of Physiology**, v. 592, n. 18, p. 3985–3995, 2014.

LEE, M. T.; LICURSI, M.; MCMAHON, D. J. Vitamin D deficiency and acute vaso-occlusive complications in children with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 62, n. 4, p. 643–647, 2015.

LEE, M. T.; OGU, U. O. Sickle cell disease in the new era: advances in drug treatment. **Transfusion and Apheresis Science**, v. 61, n. 5, p. 103555, 1 out. 2022.

LEMOINE, S. et al. Calcium homeostasis and hyperparathyroidism: Nephrologic and endocrinologic points of view. **Annales d'Endocrinologie**, v. 83, n. 4, p. 237–243, ago. 2022.

- LEUNG, J.; CROOK, M. Disorders of phosphate metabolism. **Journal of Clinical Pathology**, v. 72, n. 11, p. 741–747, 2019.
- MCGANN, P. T.; WARE, R. E. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 14, n. 11, p. 1749–1758, 2015.
- MANDESE, V. et al. Effects of nutritional intake on disease severity in children with sickle cell disease. **Nutrition journal**, v. 15, n. 1, 2016.
- MARTÍNEZ DE VICTORIA, E. El calcio, esencial para la salud. **Nutrición Hospitalaria**, v. 33, 12 jul. 2016.
- MILTON, J. N. et al. Genetic determinants of haemolysis in sickle cell anaemia. **British Journal of Haematology**, v. 161, n. 2, p. 270–278, 14 fev. 2013.
- MIRONOV, N.; ATFI, A.; RAZZAQUE, M. S. Phosphate burden and organ dysfunction. **Frontiers in Aging**, v. 3, p. 890985, 2022.
- MOREIRA, J. A. et al. Pattern of hemolysis parameters and association with fetal hemoglobin in sickle cell anemia patients in steady state. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 37, n. 3, p. 167–171, 1 maio 2015.
- MOREIRA, I. D. et al. Advanced clinical parameters: A complementary hydroxyurea adherence evaluation in sickle cell anemia treatment. **European Journal of Haematology**, v. 109, n. 6, p. 736–748, 2022.
- NAVARRO-GONZALÉZ, J. F. et al. Mineral metabolism and inflammation in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, v. 4, n. 10, p. 1646 – 1654, 2009.
- 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, 3 mar. 2015.
- ONIMOE, G.; ROTZ, S. Sickle cell disease: A primary care update. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, v. 87, n. 1, p. 19–27, 1 jan. 2020.
- O'SEAGHDHA, C. M. et al. Serum phosphorus predicts incident chronic kidney disease and end-stage renal disease. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association – European Renal Association**, v. 26, n. 9, p. 2885 – 2890, 2011.
- PAULING, L. et al. Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. **Science**, v. 110, n. 2865, p. 543–548, 25 nov. 1949.
- PAYNE, R. B. et al. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. **British Medical Journal**, v. 4, n. 5893, p. 643–646, 1973.
- 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, 21 fev. 2019.

PINHEIRO, L. S. et al. Prevalência de hemoglobina S em recém-nascidos de Fortaleza: importância da investigação neonatal. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 28, n. 2, fev. 2006.

PLATT, O. S. et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. **The New England Journal of Medicine**, v. 330, n. 23, p. 1639–1644, 1994.

PORTALES-CASTILLO, I.; SIMIC, P. PTH, FGF-23, Klotho and Vitamin D as regulators of calcium and phosphorus: Genetics, epigenetics and beyond. **Frontiers in Endocrinology**, v. 13, 29 set. 2022.

RAJ, V. M. S. et al. Abnormalities in renal tubular phosphate handling in children with sickle cell disease. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 61, n. 12, p. 2267–2270, 17 ago. 2014.

ROGER, C. et al. Risk factors for CKD stage II onset in a prospective cohort of homozygous sickle cell adults. **American Journal of Hematology**, v. 96, n. 9, p. 1147–1155, 2021.

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. 506–507, 20 abr. 2011.

SANTIAGO, R. P. et al. Associations between TGF- $\beta$ 1 levels and markers of hemolysis, inflammation, and tissue remodeling in pediatric sickle cell patients. **Mediators of Inflammation**, v. 2021, p. 4651891, 2021.

SCIENTIFIC ADVISORY COMMITTEE ON NUTRITION (SACN). **Vitamin D and Health 2016**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment\\_data/file/537616/SACN\\_Vitamin\\_D\\_and\\_Health\\_report.pdf](https://assets.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/537616/SACN_Vitamin_D_and_Health_report.pdf)>.

SHINDO, M. et al. The Changing Landscape of Primary, Secondary, and Tertiary Hyperparathyroidism: Highlights from the American College of Surgeons Panel, “What’s New for the Surgeon Caring for Patients with Hyperparathyroidism”. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 222, n. 6, p. 1240–1250, jun. 2016.

SILVA-PINTO, A. C. et al. Clinical and hematological effects of hydroxyurea therapy in sickle cell patients: a single-center experience in Brazil. **São Paulo Medical Journal**, v. 131, n. 4, p. 238–243, 2013.

SMITH, E. C. et al. Serum Phosphate Abnormalities in Sickle Cell Anemia. **Experimental Biology and Medicine**, v. 168, n. 2, p. 254–258, 1 nov. 1981.

SOE, H. H. K. et al. Vitamin D supplementation for sickle cell disease. **The Cochrane Library**, 2017.

SOSA, P. et al. P0913hyperphosphatemia increase inflammation promoting senescence and muscle dysfunction. **Nephrology, Dialysis, Transplantation: Official Publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 35, n. Supplement\_3, 2020.

STANKOVIC STOJANOVIC, K.; LIONNET, F. Lactate dehydrogenase in sickle cell disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 458, p. 99–102, jul. 2016.

STEINBERG, M. H. Predicting clinical severity in sickle cell anaemia. **British Journal of Haematology**, v. 129, n. 4, p. 465–481, 2005.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, E. M. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. **Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease**, v. 14, n. 1, p. 263–292, 24 jan. 2019.

TABIBZADEH, N. et al. Differential determinants of tubular phosphate reabsorption: Insights on renal excretion of phosphates in kidney disease. **American Journal of Nephrology**, v. 47, n. 5, p. 300–303, 2018.

TAN, S.-J. et al. Relationship between timed and spot urine collections for measuring phosphate excretion. **International Urology and Nephrology**, v. 48, n. 1, p. 115–124, 2016.

TRAN, L. et al. Serum phosphorus and association with anemia among a large diverse population with and without chronic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 31, n. 4, p. 636–645, 1 abr. 2016.

UNDERLAND, L.; MARKOWITZ, M.; GENSURE, R. Calcium and Phosphate Hormones: Vitamin D, Parathyroid Hormone, and Fibroblast Growth Factor 23. **Pediatrics in Review**, v. 41, n. 1, p. 3–11, jan. 2020.

VAN EPS, L. W. S. et al. Nature of concentrating defect in sickle-cell nephropathy. **Lancet**, v. 295, n. 7644, p. 450–452, 1970.

VAN VUREN, A. J. et al. Interplay of erythropoietin, fibroblast growth factor 23, and erythroferrone in patients with hereditary hemolytic anemia. **Blood Advances**, v. 4, n. 8, p. 1678–1682, 2020.

VERVLOET, M. G. et al. The role of phosphate in kidney disease. **Nature Reviews. Nephrology**, v. 13, n. 1, p. 27–38, 2017.

WILLIAMS, T. N.; THEIN, S. L. Sickle Cell Anemia and Its Phenotypes. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 19, n. 1, p. 113–147, 31 ago. 2018.

WOJCICKI, J. M. Hyperphosphatemia is associated with anemia in adults without chronic kidney disease: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES): 2005-2010. **BMC Nephrology**, v. 14, n. 1, p. 178, 2013.

YAMADA, S. et al. Phosphate overload directly induces systemic inflammation and malnutrition as well as vascular calcification in uremia. **American Journal of Physiology. Renal Physiology**, v. 306, n. 12, p. F1418-28, 2014.

YUEN, N. Hyperparathyroidism of Renal Disease. **The Permanente Journal**, v. 20, n. 3, 2016.

## APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO COM AF

1



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa intitulado “ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DO STATUS DA VITAMINA D EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME COM BIOMARCADORES DE HEMÓLISE, INFLAMAÇÃO E FUNÇÃO RENAL”, que tem como objetivo verificar os níveis de vitamina D no sangue de pacientes diagnosticados com anemia falciforme e associar com exames de sangue e de urina, avaliando marcadores de hemólise (indicam se há existência de anemia), de função renal (indicam nível de alteração da função normal dos rins) e de inflamação em acompanhamento no Ambulatório de Hemoglobinopatias do HEMOCE, em Fortaleza-Ceará. A participação do(a) senhor(a) na pesquisa será oportunística, plenamente voluntária e consciente. Para tanto, necessitamos que o Sr. (a) autorize a obtenção de 2 (duas) amostras de sangue periférico (4 mL cada) que serão coletadas pelo médico hematologista que o acompanha e de 1 (uma) amostra de urina (10 mL) para que a pesquisa seja realizada. A amostra de sangue será obtida a partir de uma perfuração na veia do braço. A coleta da urina será realizada por meio de 1 (um) frasco coletor de urina estéril que será fornecido pela equipe desta pesquisa. A coleta das amostras será realizada no HEMOCE. A participação na pesquisa envolve riscos mínimos a sua saúde, havendo apenas a possibilidade de dor e formação de uma mancha roxa devido à coleta do sangue e um possível derramamento da urina do tubo no momento da coleta individual ou transporte. Para evitar isso, as coletas serão realizadas por equipe treinada para isso, e os frascos de urina deverão ser corretamente fechados e transportados em sacos plásticos fechados. As amostras coletadas serão transportadas em gelo no isopor até o Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LPHGDH) do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará e, após processadas, serão armazenadas no freezer a -80°C para posteriores dosagens de vitamina D e realização de exames laboratoriais associados à função renal, hemólise e inflamação. Também serão coletadas informações sobre dados clínicos (frequência de crises dolorosas) e laboratoriais (hemograma completo, contagem dos reticulócitos, dosagem de creatinina e ureia, taxa de filtração glomerular - TFG) de seu prontuário, além de idade, sexo, peso, altura, a utilização ou não de suplementações de vitamina D, cálcio e do uso ou não da hidroxiúria. O estudo poderá beneficiar os portadores de anemia falciforme possibilitando maiores informações sobre a doença ao profissional de saúde o que auxilia na tomada de decisões e intervenções terapêuticas para melhor qualidade de vida do paciente. O(a) senhor(a) pode desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo de sua assistência médica. Suas amostras serão descartadas através de incineração de material biológico por uma empresa de incineração contratada pela Universidade Federal do Ceará após o fim do projeto (novembro de 2021). Sua identidade será mantida em sigilo absoluto, sendo a divulgação dos resultados totalmente proibida a terceiros, ficando restrita à discussão acadêmica de âmbito científico e, ainda assim, sem qualquer possibilidade de identificação dos pacientes. Será, no entanto, permitido o acesso às informações sobre procedimentos relacionados à pesquisa. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes, endereço para contato: Rua Pastor Samuel Munguba, 1210 – Porangabaçu, CEP 60430-372 - Fortaleza, CE – Brasil, Telefone: (85) 33668264.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Pastor Samuel Munguba 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br). Caso o(a) Senhor(a) sinta-se suficientemente informado(a) a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se o(a) senhor(a) concorda em participar solicitamos que assine no espaço abaixo nas duas vias do documento. Você ficará com uma das vias assinadas por você ou seu responsável legal e pelo pesquisador.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente/ representante legal

Data: / /

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável pelo estudo

Data: / /

## APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA GRUPO CONTROLE

1



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa intitulado “ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DO STATUS DA VITAMINA D EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME COM BIOMARCADORES DE HEMÓLISE, INFLAMAÇÃO E FUNÇÃO RENAL”, que tem como objetivo verificar os níveis de vitamina D no sangue de pacientes diagnosticados com anemia falciforme e associar com exames de sangue e de urina, avaliando marcadores de hemólise (indicam se há existência de anemia), de função renal (indicam nível de alteração da função normal dos rins) e de inflamação em acompanhamento no ambulatório do Serviço de Hematologia do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), em Fortaleza-Ceará. A participação do(a) senhor(a) na pesquisa será oportunística, plenamente voluntária e consciente. Para tanto, necessitamos que o(a) Sr. (a) autorize a obtenção de 2 (duas) amostras de sangue periférico (4 mL cada) que serão coletadas no momento da doação de sangue e de 1 (uma) amostra de urina (10 mL) para que a pesquisa seja realizada. A amostra de sangue será obtida a partir de uma perfuração na veia do braço. A coleta da urina será realizada por meio de 1 (um) tubo coletor de urina estéril que será fornecido pela equipe desta pesquisa. A coleta das amostras será realizada na sala de coleta de doação de sangue do HEMOCE. A participação na pesquisa envolve riscos mínimos a sua saúde, havendo apenas a possibilidade de dor e formação de uma mancha roxa devido à coleta do sangue e um possível derramamento da urina do tubo no momento da coleta individual ou transporte. Para evitar isso, as coletas serão realizadas por equipe treinada para isso, e os frascos de urina deverão ser corretamente fechados e transportados em sacos plásticos fechados.. As amostras coletadas serão transportadas em gelo no isopor até o Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LPHGDH) do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará e, após processadas, serão armazenadas no freezer a -80°C para posteriores dosagens de vitamina D e de exames laboratoriais associados à função renal, hemólise e inflamação. O estudo poderá beneficiar os portadores de anemia falciforme possibilitando maiores informações sobre a doença ao profissional de saúde o que auxilia na tomada de decisões e intervenções terapêuticas para melhor qualidade de vida do paciente. O(a) senhor(a) pode desistir de participar da pesquisa a qualquer momento, sem prejuízo de sua assistência médica. Suas amostras serão usadas como controle no estudo e são importantes para comparação dos resultados com pacientes portadores de anemia falciforme. As mesmas serão descartadas através de incineração de material biológico por uma empresa de incineração contratada pela Universidade Federal do Ceará após o fim do projeto (novembro de 2021). Sua identidade será mantida em sigilo absoluto, sendo a divulgação dos resultados totalmente proibida a terceiros, ficando restrita à discussão acadêmica de âmbito científico e, ainda assim, sem qualquer possibilidade de identificação dos pacientes. Será, no entanto, permitido o acesso às informações sobre procedimentos relacionados à pesquisa. Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes, endereço para contato: Rua Pastor Samuel Munguba, 1210 – Porangabuçu, CEP 60430-370 - Fortaleza, CE – Brasil, Telefone: (85) 33668264.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HUWC – Rua Pastor Samuel Munguba 1290, Rodolfo Teófilo; fone: 3366-8589 – E-mail: [cephuwc@huwc.ufc.br](mailto:cephuwc@huwc.ufc.br). Caso o(a) Senhor(a) sinta-se suficientemente informado(a) a respeito das informações que leu ou que foram lidas para você sobre os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes e que sua participação é voluntária, que não há remuneração para participar do estudo e se o(a) senhor(a) concorda em participar solicitamos que assine no espaço abaixo nas duas vias do documento. Você ficará com uma das vias assinadas por você ou por seu responsável legal e pelo pesquisador.

---

 Assinatura do paciente/ representante legal

Data: / /

---

 Assinatura do responsável pelo estudo

Data: / /

## APÊNDICE C – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA GRUPO COM AF



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROJETO DE PESQUISA: ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DO STATUS DA VITAMINA D EM PACIENTES  
COM ANEMIA FALCIFORME COM BIOMARCADORES DE HEMÓLISE, INFLAMAÇÃO E FUNÇÃO RENAL

### FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS DOS PARTICIPANTES

Participante/amostra nº \_\_\_\_\_ Data do recrutamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### DADOS PESSOAIS

Nome: \_\_\_\_\_

Nº do prontuário: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( ) Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_

Telefone: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

#### DADOS CLÍNICOS

Diagnóstico: \_\_\_\_\_

Doença renal pré-estabelecida? SIM ( ) NÃO ( ) Doença hepática pré-estabelecida? SIM ( ) NÃO ( )

Nº de crises dolorosas graves no último ano: \_\_\_\_\_

Utilização de suplementação de:

Vitamina D: SIM ( ) NÃO ( ) Qual? \_\_\_\_\_ Início do uso: \_\_\_\_\_

Cálcio: SIM ( ) NÃO ( ) Qual? \_\_\_\_\_ Início do uso: \_\_\_\_\_

Utilização de hidroxiureia: SIM ( ) NÃO ( ) Início do uso: \_\_\_\_\_

Observações: \_\_\_\_\_



DADOS LABORATORIAIS

Hemograma


Observações:

---

---

Exames bioquímicos


Observações:

---

---

## APÊNDICE D – FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS PARA GRUPO CONTROLE



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

PROJETO DE PESQUISA: ESTUDO DO ENVOLVIMENTO DO STATUS DA VITAMINA D EM PACIENTES  
COM ANEMIA FALCIFORME COM BIOMARCADORES DE HEMÓLISE, INFLAMAÇÃO E FUNÇÃO RENAL

### FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS DOS CONTROLES

Controle/amostra nº \_\_\_\_\_ Data do recrutamento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

#### DADOS PESSOAIS

Nome: \_\_\_\_\_  
 Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( )  
 Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_  
 Telefone: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

#### DADOS CLÍNICOS

Doença prévia? SIM ( ) NÃO ( ) Se sim, qual(is)? \_\_\_\_\_  
 Doença renal pré-estabelecida? SIM ( ) NÃO ( ) Doença hepática pré-estabelecida? SIM ( ) NÃO ( )  
 Diabetes? SIM ( ) NÃO ( ) Hipertensão? SIM ( ) NÃO ( ) Osteoporose? SIM ( ) NÃO ( )  
 Utilização de suplementação de:  
 Vitamina D: SIM ( ) NÃO ( ) Qual? \_\_\_\_\_ Início do uso: \_\_\_\_\_  
 Cálcio: SIM ( ) NÃO ( ) Qual? \_\_\_\_\_ Início do uso: \_\_\_\_\_  
 Utilização de medicamentos? SIM ( ) NÃO ( ) Início do uso: \_\_\_\_\_  
 Motivo: \_\_\_\_\_  
 Observações: \_\_\_\_\_

## DADOS LABORATORIAIS

## Hemograma


Observações:

---

---

## Exames bioquímicos


Observações:

---

---

## ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UFC - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO WALTER  
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ / HUWC -  
UFC



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo do envolvimento do status da vitamina D em pacientes com anemia falciforme com biomarcadores de hemólise, inflamação e função renal

**Pesquisador:** ROMÉLIA PINHEIRO GONÇALVES LEMES

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 36572120.1.0000.5045

**Instituição Proponente:** Universidade Federal do Ceará/HOSPITAL UNIVERSITARIO WALTER

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.424.203

#### Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo que consiste na avaliação do status da vitamina D em pacientes adultos com diagnóstico clínico e laboratorial de anemia falciforme, em acompanhamento ambulatorial do Hospital Universitário Walter Cantídio (HUWC), no período de setembro de 2020 a setembro de 2021. As análises serão realizadas no Laboratório de Pesquisa em Hemoglobinopatias e Genética das Doenças Hematológicas (LPHGDH) do Curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará (UFC) em parceria com o Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas (LACT), onde serão realizadas as dosagens da vitamina D, e com Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica da UFC, onde serão realizadas as dosagens na urina dos biomarcadores KIM-1, MCP-1 e NGAL.

Participarão do estudo 80 pacientes com anemia falciforme e estes serão pareados de acordo com idade e sexo, adultos, e selecionados de acordo com critérios específicos. Como grupo controle serão utilizadas amostras de 50 indivíduos doadores de sangue do HEMOCE, que serão pareados de acordo com idade e sexo. Será coletada uma amostra de sangue pelos pesquisadores e servidores técnicos da UFC envolvidos na pesquisa para obtenção de soro em tubo com gel separador para as dosagens da 1,25-dihidroxitamina D, LDH, haptoglobina, PCR e das citocinas IL-2, IL-12, TNF- e IL-10. Uma amostra de sangue total será colhida em tubo com EDTA para a

**Endereço:** Rua Coronel Nunes de Melo, 1142  
**Bairro:** Rodolfo Teófilo **CEP:** 60.430-270  
**UF:** CE **Município:** FORTALEZA  
**Telefone:** (85)3366-8589 **Fax:** (85)99267-4630 **E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br

UFC - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO WALTER  
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ / HUWC -  
UFC



Continuação do Parecer: 4.424.203

dosagem da HbF. Uma amostra de urina será coletada para a quantificação dos diversos biomarcadores da função renal como KIM-1, MCP-1 e NGAL, creatinina, proteína e albumina. Os critérios de inclusão especificados foram: pacientes adultos com diagnóstico de anemia falciforme confirmado por eletroforese de hemoglobina e/ou por HPLC, que concordaram em participar do estudo, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido; pacientes em estado estacionário, segundo os critérios de Ballas (ausência de crises vaso-oclusivas e quadro infeccioso nas últimas quatro semanas precedentes ao estudo, ausência de admissão hospitalar nos últimos 2-3 dias precedentes ao estudo e ausência de transfusão sanguínea nos últimos quatro meses precedentes ao estudo).

A análise estatística será realizada com o programa IBM-SPSS v20. Os resultados serão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (E.P.M.) e a comparação entre as médias será realizada utilizando o teste tStudent ou MannWhitney e análise de variância (ANOVA) seguida pelo Teste Tukey. As diferenças serão consideradas estatisticamente significantes quando  $p < 0,05$ .

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Geral: estudo do envolvimento do status da vitamina D em pacientes com anemia falciforme com biomarcadores de hemólise, inflamação e função renal.

Objetivos específicos: determinar os níveis séricos da 1,25-dihidroxitamina D em pacientes com anemia falciforme e comparar com o grupo controle; determinar a associação dos biomarcadores de hemólise e do estado inflamatório com a deficiência de 1,25-dihidroxitamina D em pacientes com anemia falciforme; estudar a importância do diagnóstico da Lesão Renal Aguda em estágios precoces através dos biomarcadores inovadores na deficiência de 1,25-dihidroxitamina D em pacientes com anemia falciforme; comparar o uso dos marcadores tradicionais com os biomarcadores inovadores da função renal na determinação do estabelecimento e estratificação da lesão renal aguda e deficiência de 1,25-dihidroxitamina D em pacientes com anemia falciforme; avaliar a influência da severidade da anemia, do número de crises vasooclusivas, do uso de hidroxiuréia e do grau de comprometimento renal sobre o grau de deficiência de 1,25- dihidroxivitamina D em pacientes com anemia falciforme.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os procedimentos adotados serão coleta de sangue por punção venosa no antebraço e coleta de

<b>Endereço:</b> Rua Coronel Nunes de Melo,1142	
<b>Bairro:</b> RodolfoTeófilo	<b>CEP:</b> 60.430-270
<b>UF:</b> CE	<b>Município:</b> FORTALEZA
<b>Telefone:</b> (85)3366-8589	<b>Fax:</b> (85)99267-4630 <b>E-mail:</b> cephuwc@huwc.ufc.br

UFC - HOSPITAL  
UNIVERSITÁRIO WALTER  
CANTÍDIO DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO CEARÁ / HUWC -  
UFC



Continuação do Parecer: 4.424.203

urina. Os riscos da punção envolvem dor e inchaço no local, a coleta de urina pode ser constrangedora para os participantes e a busca em dados do prontuário podem levar a perda de dados sigilosos do paciente.

Não há benefícios diretos para o participante, pois trata-se de um estudo experimental testando a hipótese de que a deficiência de vitamina D está relacionada a vários fatores, como ao grau de hemólise e ao processo inflamatório, em pacientes com Anemia Falciforme. Entretanto, apenas no final do estudo poderá se concluir a existência de benefício.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa relevante e exequível.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Documentos postados e adequados: Termo de fiel depositário HUWC; Termo de compromisso de utilização de dados dos prontuários; Termo de fiel depositário do HEMOCE; Declaração de concordância dos pesquisadores; Termo de ciência sobre a pesquisa do HEMOCE; Autorização da diretora de ensino e pesquisa do HEMOCE; Autorização LACT; Termo de ciência institucional do gerente de atenção à saúde do HUWC; Currículo dos pesquisadores envolvidos; Autorização LPHGH; Folha de Rosto; Cronograma; Orçamento; Projeto de pesquisa; TCLE AF; TCLE grupo controle.

**Recomendações:**

Sem recomendações.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

A pesquisa não apresenta óbices éticos e poderá ser iniciada.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

A pesquisadora principal deverá apresentar relatórios parciais e final a este CEP.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

**Endereço:** Rua Coronel Nunes de Melo,1142  
**Bairro:** RodolfoTeófilo **CEP:** 60.430-270  
**UF:** CE **Município:** FORTALEZA  
**Telefone:** (85)3366-8589 **Fax:** (85)99267-4630 **E-mail:** cephuwc@huwc.ufc.br