



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ELIZIANE SOUZA NASCIMENTO

**ANÁLISE DA ANGIOPOIETINA-2 EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME:
ASSOCIAÇÃO COM USO DE HIDROXIUREIA, BIOMARCADORES DE HEMÓLISE
E DANO RENAL**

FORTALEZA

2025

ELIZIANE SOUZA NASCIMENTO

ANÁLISE DA ANGIOPOIETINA-2 EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME:
ASSOCIAÇÃO COM USO DE HIDROXIUREIA, BIOMARCADORES DE HEMÓLISE E
DANO RENAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientador: Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses

FORTALEZA

2025

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)

N194a Nascimento, Eliziane Souza.

Análise da Angiopietina-2 em pacientes com Anemia Falciforme : associação com uso de hidroxuréia, biomarcadores de hemólise e dano renal / Eliziane Souza Nascimento. – 2025.
59 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2025.

Orientação: Prof. Dr. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientação: Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses .

1. Anemia Falciforme. 2. Hidroxiureia. 3. Hemólise. 4. Doença renal. 5. Angiopietina-2. I. Título.
CDD 571.9

ELIZIANE SOUZA NASCIMENTO

ANÁLISE DA ANGIOPOIETINA-2 EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME:
ASSOCIAÇÃO COM USO DE HIDROXIUREIA, BIOMARCADORES DE HEMÓLISE E
DANO RENAL

Trabalho de Qualificação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador: Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes.

Coorientador: Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves Lemes (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Maria do Socorro Queiroz Alves de Souza
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Lívia Gurgel do Amaral Valente Sá
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dra. Renata Mirian Nunes Eleutério
Unichristus

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado força em todos esses anos.

À minha mãe Marlene Souza por sempre me apoiar em tudo e ser meu suporte durante toda a minha vida e, principalmente, nesse período de pós-graduação.

Aos meus amigos, por sempre me ajudar e dar motivação durante todos os altos e baixos ao longo da graduação.

À minha orientadora Profa. Romélia Gonçalves, que sempre me acolheu, mesmo antes de me tornar sua monitora e orientanda.

Ao meu coorientador Gdayllon Cavalcante, por toda paciência e auxílio.

À equipe do laboratório de bioprospecção farmacêutica e Bioquímica Clínica, em especial a Letícia Machado que sempre me ajudou.

Aos pacientes que foram o ponto chave deste trabalho.

Ao HEMOCE, por ter permitido a realização da minha pesquisa, e seus funcionários que foram receptivos e me auxiliaram na coleta de amostras e dados.

Às participantes da banca, Dra. Socorro Queiroz, Dra. Lívia Gurgel e Dra. Renata Eleutério, pela pronta disponibilidade em participar da minha banca.

A todos os professores da pós-graduação que me permitiram chegar até aqui.

A CAPES pelo financiamento da bolsa que me permitiu realizar este trabalho.

Por fim, agradeço à Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade de realizar este trabalho e por ser a minha casa durante todo esse período da pós-graduação.

RESUMO

A anemia falciforme (AF) é uma hemoglobinopatia caracterizada por uma anemia hemolítica crônica associada a crises recorrentes de vaso-oclusão na microcirculação. Tais eventos são responsáveis pelos processos de inflamação sistêmica e dano endotelial, favorecendo o estado pró-angiogênico. Fatos que contribuem para a complexidade clínica da doença e para a ocorrência de danos a múltiplos órgãos, sobretudo os rins. Dentre os eventos acima citados, a angiogênese é a condição menos descrita, assim como sua relação com a terapia empregada na doença, quadro hemolítico e com o risco aumentado ao dano renal. Assim, torna-se relevante o estudo dos biomarcadores angiogênicos, como a Angiopietina-1 (Ang-1), Angiopietina-2 (Ang-2) e VEGF no contexto da fisiopatologia da doença assim como sua relação com a terapia, hemólise e com o dano renal. O objetivo do estudo foi avaliar a Ang-2 em pacientes com AF e associá-la com o uso de hidroxiureia (HU), hemólise e com risco de dano renal. Trata-se de um estudo transversal, observacional e analítico com 76 pacientes com AF, em estado basal, de ambos os sexos, em acompanhamento ambulatorial no HEMOCE, Fortaleza, Ceará. Um grupo controle (GC) foi constituído por 24 doadores de sangue do referido hemocentro. Os dados tais como sexo, idade, uso de HU, contagem de reticulócitos, lactato desidrogenase (LDH) e bilirrubinas foram obtidos de prontuários médicos. Foi coletado sangue periférico e urina para as dosagens de creatinina (sérica e urinária) e proteinúria, por método colorimétrico, albuminúria por imunoturbidimetria, taxa de filtração glomerular estimada (TFGe) por meio da equação CKD-EPI e Ang-2 por meio de ensaio imunoenzimático sanduiche, o risco de DRC foi avaliado pela tabela de risco da KDIGO (2024). Foi considerado significativo $p < 0,05$ nas associações e $p < 0,20$ na regressão logística multivariada. Pacientes com AF apresentaram mediana de idade igual a 29,5 anos, sexo feminino 42 (55,3%), 65 (85,5%) em uso de HU, mediana de albuminúria de 44,1 mg/g-Cr, 29 (43,9%) de baixo risco de DRC. Os níveis séricos de Ang-2 se apresentaram aumentados em relação ao grupo controle ($p < 0,001$). Não verificamos diferenças significantes nos níveis séricos de Ang-2 nos pacientes com AF, em relação ao uso de HU. Também não houve diferença significativa para os marcadores de hemólise (Reticulócitos, LDH e Bilirrubinas), renais (albuminúria, TFGe) e risco de DRC em relação ao uso ou não de HU ($p = 0,3$). Porém a proteinúria foi 163,3 mg/g-Cr no grupo que fez uso de HU e 122,2 mg/g-Cr no grupo sem uso ($p = 0,047$). Os níveis séricos de Ang-2 não tiveram diferença ao se estratificar quanto aos valores de albuminúria (< 30 mg/g-Cr e ≥ 30 mg/g-Cr), porém a LDH, bilirrubinas total (BT), direta (BD) e indireta (BI), proteinúria e albuminúria, apresentaram diferença entre grupos ($p < 0,05$). Ao se verificar a associação dos níveis de Ang-2 com o risco de DRC observamos que não houve diferença entre os grupos (baixo, moderado e alto risco), porém ao se analisar apenas o grupo de alto risco de DRC, por meio de regressão logística, verificamos uma associação entre a Ang-2 e o aumento do risco de DRC ($p < 0,035$), o mesmo ocorreu para outras variáveis como a idade ($p < 0,096$) e a LDH ($p < 0,016$). Este estudo apresenta caráter inédito ao explorar, pela primeira vez, a associação entre Angiopietina-2 e a nefropatia falciforme, trazendo resultados que reforçam a teoria de que a AF apresenta um elevado estado pró-angiogênico e que este está associado com o quadro hemolítico e com o desenvolvimento de complicações renais. Porém não ficou evidente o efeito benéfico da HU no referido processo. Estudos prospectivos são recomendados para que se tenha resultados mais robustos.

Palavras-chave: Anemia falciforme; Hidroxiureia; Hemólise; Doença renal; Angiopietina-2;

ABSTRACT

Sickle cell anemia (SCA) is a hemoglobinopathy characterized by chronic hemolytic anemia associated with recurrent vaso-occlusion crises in the microcirculation. Such events are responsible for the processes of systemic inflammation and endothelial damage, favoring the pro-angiogenic state. Facts that contribute to the clinical complexity of the disease and to the occurrence of damage to multiple organs, especially the kidneys. Among the events mentioned above, angiogenesis is the least described condition, as well as its relationship with the therapy used in the disease, hemolytic condition and increased risk of renal damage. Therefore, the study of angiogenic biomarkers, such as Angiopoietin-1 (Ang-1), Angiopoietin-2 (Ang-2) and VEGF in the context of the pathophysiology of the disease as well as its relationship with therapy, hemolysis and renal damage, becomes relevant. The objective of the study was to evaluate Ang-2 in patients with SCA and associate it with the use of hydroxyurea (HU), hemolysis and risk of renal damage. This is a cross-sectional, observational, and analytical study with 76 patients with SCA, at baseline, of both sexes, undergoing outpatient follow-up at HEMOCE, Fortaleza, Ceará. A control group (CG) consisted of 24 blood donors from the aforementioned blood center. Data such as sex, age, use of HU, reticulocyte count, lactate dehydrogenase (LDH), and bilirubin were obtained from medical records. Peripheral blood and urine were collected for creatinine (serum and urinary) and proteinuria measurements by colorimetric method, albuminuria by immunoturbidimetry, estimated glomerular filtration rate (eGFR) by means of the CKD-EPI equation and Ang-2 by means of sandwich immunoenzymatic assay; the risk of CKD was assessed by the KDIGO risk table (2024). $P < 0.05$ was considered significant in the associations and $p < 0.20$ in the multivariate logistic regression. Patients with SCA had a median age of 29.5 years, 42 (55.3%) were female, 65 (85.5%) used HU, median albuminuria of 44.1 mg/g-Cr, 29 (43.9%) had low risk of CKD. Serum Ang-2 levels were increased compared to the control group ($p < 0.001$). We did not find significant differences in serum Ang-2 levels in patients with SCA, in relation to the use of HU. There was also no significant difference for hemolysis markers (Reticulocytes, LDH and Bilirubin), renal markers (albuminuria, eGFR) and risk of CKD in relation to the use or not of HU ($p = 0.3$). However, proteinuria was 163.3 mg/g-Cr in the group that used HU and 122.2 mg/g-Cr in the group without use ($p = 0.047$). Serum Ang-2 levels did not differ when stratified according to albuminuria values (< 30 mg/g-Cr and ≥ 30 mg/g-Cr), but LDH, total (BT), direct (BD) and indirect (BI) bilirubin, proteinuria and albuminuria showed differences between groups ($p < 0.05$). When verifying the association of Ang-2 levels with the risk of CKD, we observed that there was no difference between the groups (low, moderate and high risk). However, when analyzing only the high risk group for CKD, through logistic regression, we verified an association between Ang-2 and the increased risk of CKD ($p < 0.035$), the same occurred for other variables such as age ($p < 0.096$) and LDH ($p < 0.016$). This study is unprecedented in that it explored, for the first time, the association between Angiopoietin-2 and sickle cell nephropathy, providing results that reinforce the theory that SCA presents a high pro-angiogenic state and that this is associated with the hemolytic condition and the development of renal complications. However, the beneficial effect of HU in this process was not evident. Prospective studies are recommended to obtain more robust results.

Keywords: Sick cell anemia; Hydroxyurea; Hemolysis; Kidney disease; Angiopoietin-2;

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AF	Anemia Falciforme
Ang-1	Angiopoietina-1
Ang-2	Angiopoietina-2
Ang-3	Angiopoietina-3
Ang-4	Angiopoietina-4
AVC	Acidente Vascular Cerebral
bFGF	Fator de crescimento básico de fibroblastos
BD	Bilirrubina Direta
BI	Bilirrubina Indireta
BT	Bilirrubina Total
CE	Células Endoteliais
CNS	Conselho Nacional de Saúde
CO ²	Dióxido de carbono
CVO	Crise Vaso-oclusiva
DF	Doença Falciforme
DRC	Doença renal crônica
DRT	Doença renal terminal
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
eNOS	Enzima Óxido Nítrico Sintase
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ET-1	Endotelina-1
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina A
HbS	Hemoglobina S
HEMOCE	Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará
HU	Hidroxiureia
ICAM-1	Molécula de adesão intercelular 1
IL	Interleucina
IRA	Injúria Renal Aguda
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
LDH	Lactato Desidrogenase

NF	Nefropatia Falciforme
NO	Óxido Nítrico
PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PIGF	Fator de crescimento placentário
STA	Síndrome Torácica Aguda
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TFGe	Taxa de Filtração Glomerular estimada
TGF	Fator de crescimento transformador
TLR4	Receptor Toll Like tipo 4
TNF	Fator de necrose tumoral
VCAM-1	Molécula de adesão celular vascular 1
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
WPB	Corpos de Weibel-Palate

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Esquema ilustrativo dos mecanismos moleculares que contribuem para a disfunção endotelial e complicações vasculares na AF	14
Figura 2.	Representação esquemática dos efeitos da Angiopietina-2 sobre o endotélio.	20
Figura 3.	Tabela de risco e prognóstico de doença renal crônica (DRC).	27

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1.	Valores de referência para níveis de albuminúria.	26
Tabela 1.	Parâmetros sociodemográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes com AF.	30
Tabela 2.	Níveis de Ang-2 nos pacientes com AF e no GC.	30
Tabela 3.	Parâmetros laboratoriais conforme uso da HU	32
Tabela 4.	Parâmetros laboratoriais conforme os níveis de albuminúria.	33
Tabela 5.	Parâmetros laboratoriais conforme o risco de DRC.	35
Tabela 6.	Regressão Logística para Identificação de Fatores Associados ao Risco Alto de DRC em Pacientes com AF	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Anemia Falciforme	12
1.2 Fisiopatologia da Anemia Falciforme	14
<i>1.2.1 O manejo terapêutico na Anemia Falciforme</i>	<i>16</i>
1.3 Doença Renal na Anemia Falciforme.....	19
<i>1.3.1 Estado pro-angiogênico e doença renal na AF</i>	<i>21</i>
<i>1.3.2 Angiopietina-2 e doença renal na AF.....</i>	<i>23</i>
2 OBJETIVO.....	27
2.1 Objetivo Geral.....	27
2.2 Objetivos Específicos	27
3 MATERIAIS E MÉTODOS	28
3.1 Tipo de estudo	28
3.2 Local do estudo	28
3.3 População e amostra.....	28
<i>3.3.1 Seleção da População Amostra</i>	<i>28</i>
<i>3.3.2 Seleção do Grupo Controle.....</i>	<i>29</i>
3.4 Coleta de dados e amostras	29
3.5 Avaliação Laboratorial.....	30
<i>3.5.1 Creatinina sérica e urinária</i>	<i>30</i>
<i>3.5.2 Proteinúria e albuminúria.....</i>	<i>30</i>
<i>3.5.3 Taxa de Filtração Glomerular Estimada (TFGe).....</i>	<i>30</i>
<i>3.5.4 Angiopietina 2.....</i>	<i>30</i>
3.6 Estratificação dos pacientes	31
<i>3.6.1 Uso de hidroxiuréia (HU).....</i>	<i>31</i>
<i>3.6.2 Níveis de Albuminúria.....</i>	<i>31</i>
<i>3.6.3 Risco de desenvolver Doença Renal Crônica (DRC).....</i>	<i>32</i>
3.7 Análise Estatística	32
3.8 Aspectos éticos.....	33
4 RESULTADOS	34
4.1 Níveis de Ang-2 nos pacientes com AF em comparação com GC.....	35
4.2 Níveis de Ang-2 e variáveis laboratoriais de hemólise e dano renal quanto ao uso de HU.....	36
4.3 Níveis de Ang-2 e parâmetros laboratoriais quanto ao nível de albuminúria e risco de DRC	37
4.4 Níveis de Ang-2 e variáveis associadas ao alto risco de DRC na AF	40
5 DISCUSSÃO	42
6 CONCLUSÃO.....	51
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	52
REFERÊNCIAS.....	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 Anemia Falciforme

A anemia falciforme (AF) é uma doença hematológica hereditária tendo como causa uma mutação pontual homozigótica no gene da beta-globina, onde a valina substitui o ácido glutâmico na posição 6 da cadeia polipeptídica, produzindo uma hemoglobina anormal denominada hemoglobina S (HbS), que difere da hemoglobina adulta normal (HbA) em sua estrutura molecular. A presença da HbS desencadeia uma cascata de eventos que leva à distorção das hemácias em forma de foice, tornando-as rígidas, e reduzindo sua maleabilidade e capacidade de fluir através da microcirculação (Piccin *et al.*, 2019; Brandow; Liem, 2022).

Sendo descrita pela primeira vez por James B. Herrick (1910), quando um indivíduo de 20 anos, estudante em Chicago, advindo de Granada na Índia e de ascendência africana, apresentou um quadro de síndrome torácica aguda e, ao ter seu sangue examinado, suas hemácias apresentavam uma forma peculiar de foice, sendo este o primeiro caso diagnosticado de anemia falciforme. Posteriormente, Emmel (1917) realizou experimentos *in vitro*, onde observou que ao expor amostras de sangue ao ambiente com baixo teor de oxigênio, as hemácias normais assumiam a forma de foice, fenômeno denominado de falcização, demonstrando que a deformação das hemácias não era permanente, podendo ser induzida por hipóxia. Cerca de uma década depois, Hahn e Gillespie (1927) observaram que além da falcização induzida por hipóxia, a reoxigenação faz com que as hemácias reassumam sua forma bicôncava natural.

O pesquisador brasileiro Jessé Accioly (1946) em um estudo realizado em Salvador-BA, que demonstrou que a doença falciforme segue um padrão de herança autossômica recessiva, sendo transmitida de forma hereditária e se manifestando clinicamente em indivíduos que herdaram duas cópias do gene mutado da hemoglobina (HbS), achado este que também observado por Neel (1947), a compreensão deste mecanismo contribuiu para o diagnóstico e salientar para a importância do aconselhamento genético nas populações mais acometidas.

Em um estudo posterior, Linus Pauling e colaboradores (1949) demonstraram que a doença falciforme foi causada por uma alteração estrutural na hemoglobina, apresentando uma anormalidade molecular e não apenas uma condição clínica. Utilizando a técnica de eletroforese, era feita a comparação entre a hemoglobina de indivíduos saudáveis e de pacientes com anemia falciforme, pois foi constatado que a hemoglobina falciforme (HbS) apresentava uma mobilidade diferente da hemoglobina normal (HbA). Após esta descoberta, Ingram (1957)

demonstrou que a variante patogênica responsável pela doença falciforme era devido a alteração de um único aminoácido na cadeia beta da hemoglobina, onde o aminoácido ácido glutâmico foi substituído por valina na posição 6 da cadeia polipeptídica da beta-globina.

Na década de 1970, iniciaram os tratamentos voltados a melhorar a qualidade de vida dos pacientes com anemia falciforme. O pesquisador Alexander Stevens Jr. (1970) apresentou casos de melhora clínica de pacientes com AF que realizaram esplenectomia, propondo que embora não seja um tratamento curativo, possa trazer benefícios a longo prazo, reduzindo a anemia nestes pacientes. Posteriormente, Russell e colaboradores (1976) demonstraram que transfusões sanguíneas com o objetivo de manter a HbS abaixo de 30% preveniram a ocorrência de doença vascular progressiva avaliadas através de angiogramas cerebrais.

Os pesquisadores Dover e colaboradores (1978) demonstraram que existe uma heterogeneidade na produção de Hemoglobina Fetal (HbF) pelos pacientes com AF, e isso reflete no quadro clínico apresentado, trazendo a indução da produção de HbF como uma possível estratégia terapêutica na AF. Posteriormente, Cohen e Schwartz (1979) demonstraram que se faz necessário a terapia de quelação de ferro nos pacientes com AF, devido as múltiplas transfusões sanguíneas as quais esses pacientes são submetidos com o objetivo de reduzir os níveis de HbS e melhora do quadro clínico. Posteriormente, Platt e colaboradores (1984) sugeriram que a hidroxiureia seria um potencial agente terapêutico na AF, pela indução da produção de HbF nestes pacientes. Sendo autorizado o uso em pacientes adultos com AF em 1998 pela *Food and Drug Administration (FDA)*.

Esta condição tem origem na África e se deu através de um processo adaptativo, onde o portador do traço falciforme apresenta resistência a infecção por malária e proteção contra a forma grave desta doença. Desta forma, a doença falciforme (DF), em especial a AF, tem alta prevalência na África subsaariana, que influem os países como Nigéria, República do Congo e Angola. Devido a miscigenação global, a expectativa é que a prevalência mundial de indivíduos com DF aumente de 300.000 recém-nascidos em 2010 para cerca de 400.000 recém-nascidos em 2050 (Esoh; Wonkam, 2021; Chimuco, 2022; Walia; Fertrin; Sabath, 2024).

No Brasil, de acordo com o Ministério da Saúde (2022), estima-se que há entre 60 mil e 100 mil pacientes com DF no país, apresentando uma incidência anual de 3,78 a cada 10 mil nascidos vivos, cerca de 1.087 por ano entre 2014 e 2020. Em 2016 a região nordeste ocupava o segundo lugar em relação a frequência de casos de DF, com 8.762 casos, destes 5.293

(60,41%) foram de AF. No Ceará, a frequência de AF foi de 220 casos, correspondendo a cerca de 83,97% dos casos de DF no estado, ocupando, assim, o sexto lugar do nordeste em relação a frequência de casos de AF no ano de 2016 (BRASIL, 2021; BRASIL, 2022).

1.2 Fisiopatologia da Anemia Falciforme

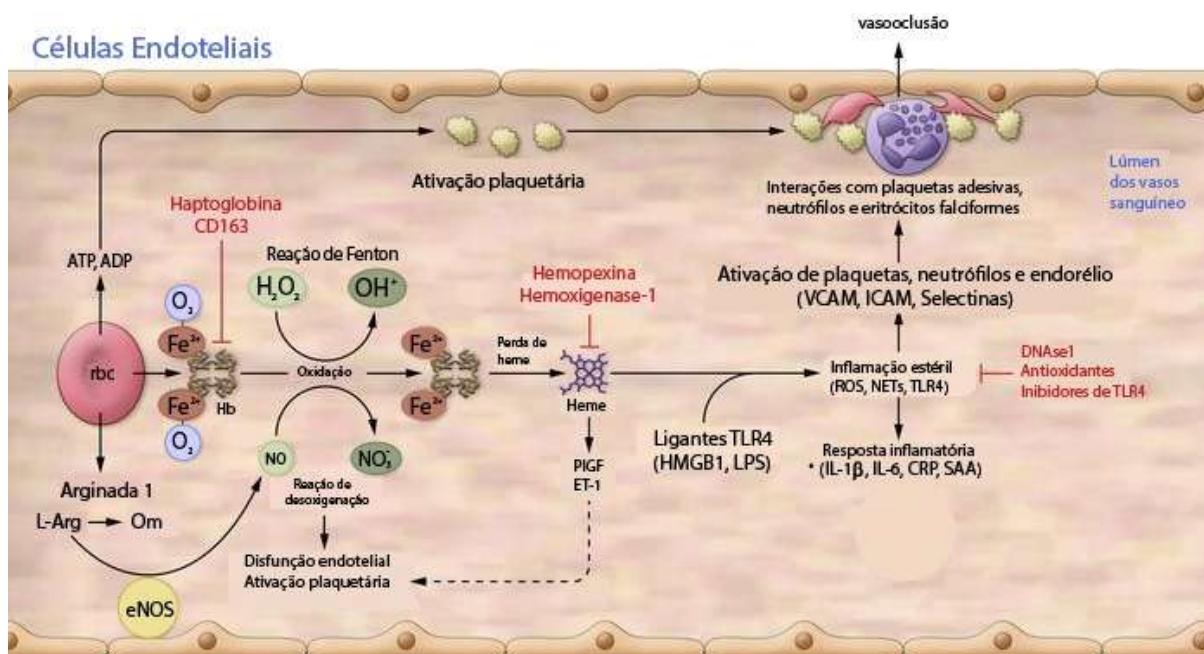
A fisiopatologia da AF está relacionada a alterações na HbS, em condições de baixa concentração de oxigênio, a HbS tem uma maior propensão para formas longos feixes rígidos, denominados polímeros de hemoglobina (Sundd; Gladwin; Novelli, 2019). Esses polímeros induzem uma alteração física nas hemácias, em um processo chamado de falcização, onde as hemácias deixam de apresentar sua forma bicôncava e assumem a forma de “foice”, esta forma anormal é responsável pelos eventos principais da fisiopatologia da AF, sendo eles a hemólise crônica e as crises vaso-oclusivas (CVOs) (Piccin et al., 2019; Sundd; Gladwin; Novelli, 2019).

O quadro clínico da AF se manifesta de forma crônica nos pacientes acometidos pela doença, e se apresenta por meio de dois eventos principais, a hemólise, que se refere à destruição prematura e acelerada das hemácias, e as crises vaso-oclusivas, que se refere a obstrução dos vasos sanguíneos, levando a crises dolorosas e dano tecidual (Piccin et al., 2019). A hemólise crônica na AF ocorre devido à fragilidade das hemácias, assim como sua forma irregular, fazendo com que estas possuam uma vida útil mais curta, em torno de 20 a 30 dias, contribuindo para a anemia crônica característica da doença, com redução nos valores de hemoglobina total (Kato et al., 2017; Piccin et al., 2019).

A hemólise na anemia falciforme pode ser classificada em extravascular, quando estas são destruídas pelos macrófagos presentes no baco, que identificam sua forma irregular e as removem da circulação, ou intravascular, quando ocorre o rompimento das hemácias no interior dos vasos sanguíneos, promovendo a liberação de hemoglobina plasmática, que é oxidada, liberando o grupo heme e ferro livre na circulação (Figura 1) (Piccin et al., 2019; Vallelian; Buehlen; Schaer, 2022).

Após a hemólise, a Hb livre é oxidada, em uma reação onde ocorre o consumo de óxido nítrico (NO), que tem a função vasodilatadora, que somado a liberação de arginase, consumindo a arginina circulante, que é o principal substrato da enzima óxido nítrico sintase (eNOS) que é responsável pela produção de NO, leva a um estado de vasoconstrição, disfunção endotelial e contribuindo para a obstrução vascular (Figura 1) (Kato et al., 2017; Vallelian; Buehlen; Schaer, 2022).

Figura 1: Esquema ilustrativo dos mecanismos moleculares que contribuem para a disfunção endotelial e complicações vasculares na AF



Legenda: A hemólise intravascular libera hemoglobina (Hb) e heme, que promovem estresse oxidativo por meio da reação de Fenton, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs), consumindo óxido nítrico (NO) devido à oxidação da Hb e reduzindo a sua produção por meio da liberação de arginase I que consome a arginina, que é o substrato para a produção de NO pela enzima óxido nítrico sintase (eNOS). O grupo heme livre ativa receptores Toll-like 4 (TLR4) endoteliais, promovendo a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β e IL-6, induzindo o aumento da expressão de moléculas de adesão, aumentando a interação de plaquetas, leucócitos e hemácias com o endotélio, contribuindo para a vaso-oclusão.

Fonte: Adaptado de Kato *et al.*, 2017.

Após oxidada, a Hb livre libera produtos de degradação, que incluem ferro livre e o grupo heme, que são moléculas denominadas pró-oxidativas. O ferro livre catalisa a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) através da reação de Fenton, gerando estresse oxidativo que resulta em danos celulares, como peroxidação lipídica e disfunção mitocondrial, e o grupo heme participa da ativação do receptor Toll-like tipo 4 (TLR4), aumentando a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1β, IL-6, Proteína C reativa, e outros mediadores que promovem a expressão de receptores de adesão e ligantes no endotélio e nas células sanguíneas, incluindo P-selectina, E-selectina, VCAM-1 e ICAM-1 (Figura 1) (Bozza; Janey, 2020; Conger *et al.*, 2023; Kato *et al.*, 2017). Com a ativação das proteínas de superfícies do endotélio vascular, ocorre a interação destas com plaquetas, neutrófilos e hemácias falciformes, facilitando a ocorrência de eventos vaso-oclusivos (Figura 1) (Kato *et al.*, 2017; Teixeira; Ladeia, 2020).

Nos eventos vaso-oclusivos, as células falciformes interagem com o endotélio vascular e outras células sanguíneas, obstruindo os vasos sanguíneos, e, podendo ocorrer em diversas tecidos do corpo, levando a crises de dor aguda e, a longo prazo, pode danificar os órgãos, como retina, fígado, sistema nervoso e rins, exacerbando ainda mais as complicações associadas à AF, decorrentes da hipóxia, que é a oxigenação ineficaz dos tecidos e órgãos, e lesões de isquemia-reperfusão. (Kato *et al.*, 2017; Teixeira; Ladeia, 2020).

A lesão de isquemia/reperfusão trata-se de uma condição inflamatória iniciada com o processo de isquemia, que é o suprimento sanguíneo inadequado ou a interrupção deste, que resulta não só na privação de oxigênio e nutrientes, como também no acúmulo de metabólitos celulares tóxicos, como lactato, e dióxido de carbono (CO₂), desencadeando a ativação endotelial com aumento de permeabilidade vascular e expressão de moléculas de adesão (Pavitra *et al.*, 2024). Posteriormente, ocorre a reperfusão, que é a restauração do fluxo sanguíneo e consequente reoxigenação do tecido afetado, neste momento as células do endotélio vascular previamente sensibilizadas pela isquemia tornam-se propensas à adesão celular, incluindo plaquetas, hemácias e leucócitos, que liberam EROs e citocinas pró-inflamatórias, intensificando o processo inflamatório, a permeabilidade vascular e ativação celular, amplificando o dano tecidual e disfunção endotelial (Hebbel *et al.*, 2020; Pavitra *et al.*, 2024).

Estes processos estão envolvidos nas complicações presentes na AF, incluindo úlceras de membros inferiores, síndrome torácica aguda (STA), sequestro esplênico, priapismo, necrose asséptica de fêmur, retinopatia, acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão pulmonar, crises hemolíticas, crises dolorosas e comprometimento renal (Ribau, 2015; Teixeira; Ladeia, 2020; Nascimento *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2022).

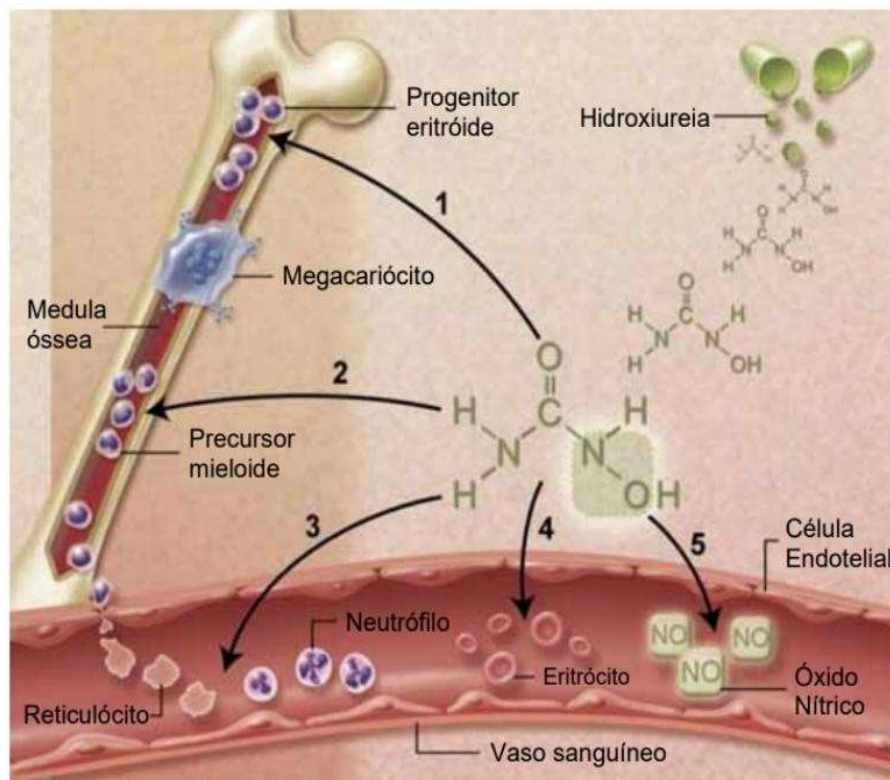
1.2.1 O manejo terapêutico na Anemia Falciforme

O manejo terapêutico da AF tem como objetivo prevenir e evitar a progressão de complicações da doença e melhorar a qualidade de vida dos pacientes. Um dos tratamentos empregados é a transfusão sanguínea, que é fundamental no tratamento da doença, sendo utilizada para aumentar os níveis de HbA e reduzir a proporção de HbS no sangue. Essa intervenção é indicada principalmente para pacientes com episódios frequentes de hemólise e CVOs, que desencadeiam crises dolorosas e complicações graves, como AVC e STA (Kato *et al.*, 2018; Tisdale; Thein; Eaton, 2020).

As elevadas taxas de óbito infantil estão associadas a infecções graves, sequestro esplênico, CVOs, STA e AVC. Infecções bacterianas, especialmente por *Streptococcus pneumoniae* e *Haemophilus influenzae*, são causas comuns de sepse, meningite e pneumonia, contribuindo significativamente para a mortalidade infantil devido à asplenia funcional, que compromete a imunidade dos pacientes (Lima et al., 2015; Shinde; Bakshi; Shrikhande, 2015; Silva, 2019). A profilaxia dessas infecções é realizada por meio do uso de Penicilina V, que deve ser mantida até os 5 anos de idade. Em alguns casos, como após a esplenectomia, o uso pode ser prolongado, dependendo da condição clínica do paciente (Rankine-Mullings; Owusu-Ofori; Remington, 2017; BRASIL, 2024).

Outro tratamento amplamente empregado é a hidroxiureia (HU), aprovada pela FDA em 1998 para uso adulto e em 2017 para uso pediátrico. No Brasil, sua implementação ocorreu em 2002 pela Portaria nº 872/02 do Ministério da Saúde para pacientes adultos, e em 2024 uma atualização autorizou o uso para crianças a partir dos 9 meses de idade, conforme Portaria nº 16/24 (BRASIL, 2002; BRASIL, 2024). A HU atua estimulando a eritropoiese e aumentando a produção de HbF, o que reduz a concentração de HbS e, consequentemente, a falcização das hemácias. Além disso, tem efeito anti-inflamatório ao diminuir a produção de neutrófilos e sua adesão ao endotélio, bem como induz a liberação de NO, melhorando a vasodilatação e o fluxo sanguíneo. Dessa forma, o uso da HU reduz crises hemolíticas e vaso-oclusivas, além de reduzir a necessidade de transfusão e a morbimortalidade associada à AF (Figura 2) (Chenou et al., 2021; Lee; Ogu, 2022; Nickel et al., 2025).

Figura 2. Benefícios da hidroxiureia (HU) na anemia falciforme.



Legenda: (1) Indução da Hb fetal nos precursores eritróides; (2) Redução da produção de neutrófilos pela citotoxicidade medular; (3) diminuição da adesividade de neutrófilos e reticulócitos circulantes; (4) redução da falcização dos eritrócitos; (5) liberação de óxido nítrico (NO) que atua como potente vasodilatador local.

Fonte: Adaptado de Ware, 2010.

Atualmente, a única terapia curativa para a AF é o transplante de células-tronco hematopoiéticas, indicado principalmente para pacientes com complicações graves e de idade mais jovem. No entanto, essa abordagem envolve riscos significativos, como rejeição do enxerto e infecções pós-operatórias. Outra estratégia terapêutica que tem sido explorada em pesquisas recentes é a terapia gênica, que visa corrigir a variante patogênica responsável pela doença, representando uma perspectiva importante para o futuro do tratamento da AF (Kapoor; Little; Pecker, 2018; Krishnamurti, 2021; Ballantine; Tisdale, 2024).

O manejo terapêutico da AF aliado ao diagnóstico precoce, por meio da triagem neonatal, implementada no Brasil em 2001 pela Portaria GM/MS nº 822, promoveu mudanças significativas no perfil de morbimortalidade desses pacientes. A expectativa de vida foi ampliada e as complicações na infância foram reduzidas. Entretanto, os eventos hemolíticos, vaso-oclusivos e lesões de isquemia-reperfusão continuam impactando a saúde desses

indivíduos na idade adulta, ainda que de forma leve ou assintomática, se tornando mais evidentes complicações crônicas da AF, dentre elas, destaca-se a doença renal (Silva, 2019; Han et al., 2022).

1.3 Doença Renal na Anemia Falciforme

Os rins estão entre os sistemas orgânicos mais comumente afetados em pacientes com AF, apresentando um ambiente de baixo pH, baixa pressão de oxigênio e alta osmolaridade, favorecendo a falcização das hemácias e os processos de hemólise e vaso-oclusão, que culminam na inflamação local e lesão renal. Esta condição é denominada nefropatia falciforme (NF), que é definida como sendo o conjunto de disfunções renais associadas a AF, incluindo injúria renal aguda (IRA), doença renal crônica (DRC) e doença renal terminal (DRT) (Lima et al., 2015; Ataga; Saraf; Derebail, 2022). Embora mais evidente na fase adulta, a NF acomete os pacientes desde a infância, podendo chegar a DRC no fim da adolescência ou início da fase adulta e evoluir para DRT na quarta ou quinta década de vida, e, estima-se que 15% das mortes em pacientes com AF são atribuídas à insuficiência renal (Adebayo et. al., 2022; Han et al., 2022).

Na AF, o mecanismo de lesão renal se inicia com os repetidos eventos de falcização, que desencadeiam hemólise crônica e vaso-oclusão, comprometendo a estrutura vascular, lavando a um paradoxo de hiperperusão do córtex e/ou hipoperusão da medula renal. A hipoperusão medular, que é a redução do fluxo sanguíneo local promovendo a oferta insatisfatória de nutrientes e oxigênio, leva a isquemia medular, causada pelas obstruções nas pequenas arteríolas renais devido a falcização das hemácias, resultando em microinfartos isquêmicos no tecido renal, que culmina na necrose papilar, caracterizado pela ocorrência de hematúria, que é a perda de hemácias pela urina, e hipostenúria, que refere-se a perda da capacidade de concentração da urina (Chen et al., 2014; Adebayo et. al., 2021; Payán-Pernía et. al., 2021).

Enquanto a hiperperusão do córtex, que é o aumento anormal do fluxo sanguíneo local, sendo induzida por hipóxia tecidual e mediada por vasodilatadores como prostaglandinas e NO, levando a eventos de hiperfiltração glomerular, que é o aumento da taxa de filtração glomerular aumentada sobrecarregando os néfrons, proteinúria, que é a presença aumentada de proteínas na urina, e glomeruloesclerose, que é a perda de função glomerular devido ao processo de fibrose tecidual (Adebayo et. al., 2021; Payán-Pernía et. al., 2021; Ataga; Saraf; Derebail,

2022). As manifestações clínicas associadas aos eventos de hipoperfusão e hiperperfusão são marcadores de dano renal, podendo variar em intensidade, desde episódios ocasionais até manifestações persistentes (Aygün et al., 2011; Chen et al., 2014; Han et al., 2022).

Além da vaso-oclusão, a hemólise intravascular presente na AF libera Hb na circulação. Em condições normais, esta hemoglobina livre (Hb livre) é removida pelas proteínas haptoglobina e hemopexina, por meio da formação de complexos que são internalizados por macrófagos do sistema retículo endotelial e células hepáticas, respectivamente, onde será degradada e seus componentes redirecionados para a síntese de novas moléculas (Smith; McCulloh, 2015; Belcher et al, 2018).

No entanto, devido à hemólise exacerbada presente na AF, esse sistema de remoção é insuficiente, de forma que uma parte desta hemoglobina livre se mantém em circulação, chegando aos rins, onde induz lesão renal através da própria Hb livre e por meio de seus derivados, que inclui o grupo heme e ferro livre. No glomérulo, a hemoglobina é filtrada atingindo os túbulos renais onde é reabsorvida pelos receptores multiligantes megalina e cubilina, que também são responsáveis pela reabsorção dos baixos níveis de albumina que normalmente ultrapassa a barreira de filtração glomerular. Esse mecanismo faz com que aumente a excreção urinária de albumina, além de induzir inflamação e fibrose no tecido renal (Eshbach et al., 2017; Payán-Pernía et. al., 2021).

A reabsorção de Hb livre leva ao acúmulo desta nas células tubulares causando toxicidade direta, pois ao ser degradada libera o grupo heme e ferro livre. Além disso, a Hb livre interage com o NO, impedindo a sua ação vasodilatadora. Este fenômeno reduz o calibre dos vasos sanguíneos e, por consequência, a perfusão renal, contribuindo para a ocorrência de novos eventos vaso-oclusivos e de hemólise, favorecendo a instalação de lesão glomerular e necrose tubular aguda (Payán-Pernía et. al., 2021; Monte Neto; Kirsztajn, 2024).

Ademais, o ferro livre e o grupo heme derivados da Hb livre, interagem com as células endoteliais (CEs) e podócitos, que são células localizadas na cápsula de Bowman e que revestem os capilares glomerulares e atuam na manutenção da barreira de filtração glomerular, evitando a perda excessiva de proteínas. Nas CEs, a interação do grupo heme com os TLR 4 desencadeiam respostas pró-inflamatórias, pela liberação de citocinas como IL-6 e fator de necrose tumoral α (TNF- α), levando a processos de inflamação e posterior fibrose nos compartimentos glomerular e tubulointersticial (Mahmud et al., 2020; Conger et al., 2023). Nos

podócitos, a exposição ao grupo heme e às EROs, provenientes do ferro livre, pode danificar componentes celulares, como as proteínas do citoesqueleto e a membrana basal glomerular, resultando em disfunção e perda dessas células, induzindo o aumento da permeabilidade da barreira de filtração glomerular e, conseqüentemente, à proteinúria e progressão para DRC (Bozza; Janey, 2020).

A persistência dos eventos associados a NF pode induzir ao dano renal progressivo, caracterizado por albuminúria persistente, que é a excreção de albumina na urina devido a danos glomerulares, sobretudo nos podócitos, permitindo a passagem dessas macromoléculas para a urina, e um declínio na taxa de filtração glomerular estimada, que reflete a incapacidade do rim em executar suas funções de filtração e excreção de água, eletrólitos e outros metabólitos, caracterizando a DRC (Chen et al., 2014; Han et al., 2022).

1.3.1 Estado pro-angiogênico e doença renal na AF

Outro fator que influencia na ocorrência de complicações renais na AF é o estado pró-angiogênico, que é uma condição em que ocorre um aumento da produção e liberação de fatores que induzem a angiogênese, que é definida como a formação de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existentes, sendo essencial no desenvolvimento embrionário (Duits et al., 2006; Kretschmer; Rüdiger; Zahler, 2021). Após este período, a angiogênese participa da manutenção dos processos fisiológicos, sendo ativada em condições de hipóxia, isquemia e lesão tecidual, atuando principalmente no processo de cicatrização e reparo tecidual (Lopes et al., 2015; Ito et al., 2020).

Os eventos hemolíticos, vaso-oclusivos e as lesões de isquemia-reperfusão que ocorrem de maneira crônica nos pacientes acometidos pela AF, afetam principalmente a microcirculação, desencadeando dano vascular devido a hipóxia, além de processos inflamatórios, induzindo a produção descontrolada de fatores pró-angiogênicos e desequilíbrio da angiogênese que promove a formação de vasos sanguíneos desorganizados e instáveis, com maior fragilidade e permeabilidade vascular, e facilitando a passagem de macromoléculas, como leucócitos e proteínas para o meio extravascular, de forma a potencializar a inflamação e lesão tecidual, exacerbando ainda mais o fenômeno da angiogênese (Fallah et al., 2019; Akwii et al., 2019).

A regulação da angiogênese se dá através do equilíbrio entre fatores anti e pró angiogênicos, que são ativados e modulam as células endoteliais para a formação e estabilização

de novos vasos sanguíneos (Lopes et al., 2015). Dentre os principais fatores envolvidos na angiogênese temos o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento transformador (TGF)- β e Angiopietinas (Ang) (Fallah et al., 2019; Akwii et al., 2019).

Em relação as Angiopietinas, temos que estas constituem um grupo de 4 biomoléculas, angiopoietina-1 (Ang-1), angiopoietina-2 (Ang-2), angiopoietina-3 (Ang-3) e angiopoietina-4 (Ang-4). Entretanto, as mais estudadas no contexto da angiogênese são Ang-1 e Ang-2, ambas interagem com o mesmo receptor, denominado Tie-2, que é um receptor do tipo tirosino-quinase presente em células endoteliais e tem papel central na regulação da angiogênese (Hilbert et al., 2016; Lee; Hong; Kim, 2021; Li et al., 2023).

A Ang-1 é expressa em células mesenquimais, como pericitos, células musculares lisas e fibroblastos, e age de maneira parácrina sobre o endotélio, ligando-se ao receptor Tie-2 e atuando como agonista, induzindo um estado antiapoptótico, impedindo a degeneração dos vasos sanguíneos, e anti-inflamatório, atuando na manutenção da integridade e estabilidade endotelial e evitando a hiper permeabilidade e a passagem transendotelial de leucócitos que induzem as reações inflamatórias (Hilbert et al., 2016; Lee; Hong; Kim, 2021; Li et al., 2023).

A Ang-2 é expressa em células musculares lisas, epiteliais e estocada em CEs, nos corpos de Weibel-Palate (WPB) e, quando exocitada, atua de forma autócrina sobre o endotélio, ligando-se ao receptor Tie-2 e atuando como antagonista, possuindo ação oposta à de Ang-1, levando a um comprometimento da integridade endotelial e estimulando a resposta inflamatória, induzindo uma maior expressão de moléculas de adesão e facilitando a transmigração de leucócitos (Lee; Hong; Kim, 2021; Akwii et al., 2016; Li et al, 2023; Luo; Chang; Lin, 2024).

A Ang-3 é uma proteína secretada exclusivamente pelo fígado, tendo como principal função a inibição da lipoproteína lipase e da lipase endotelial, influenciando diretamente o metabolismo lipídico, impedindo a hidrólise de triglicerídeos e fosfolípidios circulantes. No contexto da angiogênese, a Ang-3 atua na adesão e migração de células endoteliais por meio da interação com a integrina $\alpha\beta_3$, induzindo a proliferação celular, migração e angiogênese (Kersten, 2017; Zhong; Tang; He, 2022).

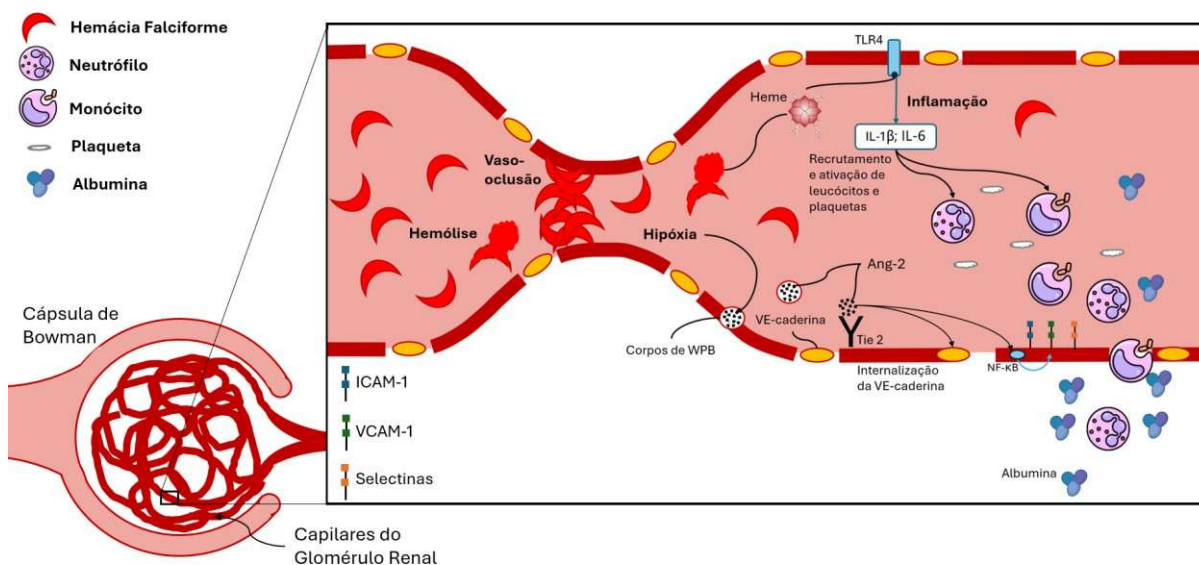
A Ang-4, assim como a Ang-2, tem ação pró-angiogênica, atuando de forma autócrina e antagonizando o receptor Tie-2, no entanto sua atuação principal é sobre os vasos linfáticos, promovendo a vasodilatação linfática e ativando a sinalização proliferativa e de sobrevivência dependente de Tie2 em células endoteliais linfática (CELS), além de aumentar a permeabilidade endotelial dos vasos sanguíneos, sua ação é dependente de hipóxia tecidual (Kesler et al., 2015; Babapoor-Farrokhran et al., 2015).

1.3.2 Angiopietina-2 e doença renal na AF

Em condições patológicas como a AF, o estado pró-angiogênico contribui para diversas complicações associadas a doença, os episódios recorrentes de vaso-oclusão e hemólise intravascular levam a hipóxia tecidual e induzem a liberação de mediadores angiogênicos, como a Ang-2, que, somada a ação do VEGF, leva a hiperativação endotelial e aumento da permeabilidade e fragilidade vascular que são fenômenos recorrentes nessa população, favorecendo danos vasculares progressivos e complicações crônicas, incluindo, retinopatia, AVC e NF (Antwi-Boasiako et al., 2018; Andrawes et al., 2019).

A Ang-2 participa da fisiopatologia da NF a partir dos eventos de vaso-oclusão e hemólise nos capilares glomerulares, desencadeando inflamação, sobretudo mediada pela interação entre o grupo heme livre e TLR4 com liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β e IL-6 que atuam no recrutamento e sensibilização de leucócitos, e hipóxia local, estimulando a exocitose de Ang-2 pelos WPB, que se ligam aos receptores Tie-2, presentes nas CEs, e induzem a internalização da VE-caderina, molécula de adesão responsável pela interação entre células endoteliais, desestabilizando o endotélio e levando ao aumento da permeabilidade vascular (Figura 3) (Hilbert et al., 2016; Lee; Hong; Kim, 2021).

Figura 3. Mecanismo de ação da Ang-2 na nefropatia falciforme.



Legenda: Os eventos de hemólise e vaso-oclusão desencadeiam o processo inflamatório mediado pela interação entre o grupo heme livre, advindo da hemólise, e TLR4 induzindo a liberação de IL-1β e IL-6 que promovem o recrutamento e sensibilização de leucócitos. Além disso, a hipóxia tecidual estimula a liberação de Ang-2 pelos WPB, que interage com o receptor Tie 2 da CE, induzindo a internalização da VE-caderina, e ativando a via do NF-κB, promovendo a maior expressão de moléculas de adesão, incluindo ICAM-1, VCAM-1 e Selectinas, facilitando a adesão e transmigração de leucócitos e macromoléculas, como a albumina.

Fonte: Autoria própria.

Ademais, a Ang-2 atua sensibilizando as células endoteliais à ação do VEGF ou TNF-α, ativando a via do NF-κB que é essencial para o processo angiogênico, pois induz uma maior expressão de moléculas de adesão, como ICAM-1, VCAM-1 e selectinas, facilitando a adesão e transmigração de leucócitos e macromoléculas, como a albumina (Figura 3) (Hilbert et al., 2016; Li et al, 2023; Luo; Chang; Lin, 2024).

Este processo induz uma resposta inflamatória no ambiente renal, exacerbando os danos ao endotélio e aos podócitos (Tsai et al., 2014; Li et al, 2023). Os danos aos podócitos leva a disfunção e perda destas células, contribuindo para a redução da integridade da barreira de filtração glomerular, aumentando a permeabilidade dos capilares glomerulares e facilitando o extravasamento de proteínas, como a albumina, refletindo em hiperfiltração glomerular, proteinúria e fibrose, levando ao declínio da função renal (David et al., 2010; Lee; Hong; Kim, 2021; Luo; Chang; Lin, 2024).

Na nefropatia associada a outras etiologias, como diabetes e hipertensão arterial, a maior expressão de Ang-2 está associada ao aumento dos níveis de albuminúria e a inflamação no

ambiente renal, sugerindo seu papel como um biomarcador precoce da disfunção glomerular, se destacando como um fator de risco para a progressão de doenças renais (Chang et al., 2013). Além disso, foi demonstrado que níveis elevados de Ang-2 estão associados com a necessidade de diálise em pacientes com DRC, reforçando o potencial deste biomarcador como preditor de complicações renais (Szymczak et al., 2023).

No contexto da AF, a Ang-2 se apresenta com níveis elevadas em complicações como retinopatia falciforme e úlceras de perna, apontando o envolvimento da Ang-2 na vasculopatia e complicações associadas a doença, desta forma, é possível associar a elevação dos níveis de Ang-2 com a NF e sua progressão, podendo atuar como um biomarcador, levando em consideração o envolvimento do estado pró-angiogênico nesta complicação (Antwi-Boasiako et al., 2018; Andrawes et al., 2029)

Além de atuar como um biomarcador da angiogênese anormal e preditor de complicações associadas a este fenômeno, nos últimos anos vem se intensificando as pesquisas de medicamentos moduladores da Ang-2 em diversas patologias e complicações, como a retinopatia diabética e câncer, sobretudo os de tumores sólidos, como o de mama e ovário, que necessitam de neovascularização para obtenção de oxigênio e nutrientes essenciais para sua sobrevivência e proliferação, de forma que a Ang-2 também se apresenta como potencial alvo terapêutico nestas condições clínicas (Gillen; Richardson; Moore, 2019).

Atualmente está aprovado para uso na retinopatia diabética, sobretudo no edema macular diabético, o anticorpo monoclonal faricimabe, que atua bloqueando a ação de Ang-2 e VEGF, impedindo o processo de angiogênese mediada por estes fatores (Ferro Desideri et al., 2023). No entanto, estudos clínicos estão sendo conduzidos para outro anticorpo monoclonal, o trebananibe, que se demonstrou promissor quando empregado de forma complementar a terapia já existente para o tratamento de tumores de ovário, reduzindo o processo angiogênico e reduzindo a velocidade de progressão tumoral (Gillen; Richardson; Moore, 2019; Zhang et al., 2024).

Dessa forma, a Ang-2 pode ser explorada não só no contexto da sua participação da fisiopatologia de complicações da AF, como a NF, tendo potencial como um biomarcador para diagnóstico precoce desta complicação, mas também assume o papel de alvo terapêutico, possibilitando o manejo do estado pró-angiogênico destes pacientes utilizando medicamentos

direcionados já existentes ou em desenvolvimento, com o objetivo de modular a ação da Ang-2 e contribuir na redução da velocidade de progressão das complicações da AF, incluindo a NF.

A fisiopatologia da doença renal na AF vem sendo amplamente estudada em nosso grupo de pesquisa, o estudo de Santos e colaboradores (2015) evidenciou o aumento dos níveis da proteína quimiotática de monócitos – 1 (MCP-1) em pacientes com AF sem uso de HU em comparação aos pacientes que utilizavam o fármaco. Além disso, o estudo de Abreu e colaboradores (2024) demonstrou que nos pacientes com AF ocorreu aumentos nos níveis de fosfato sérico e na taxa de reabsorção renal de fosfato e que valores mais altos de HbF e Hb juntamente com o uso de HU foram associados a melhor controle destes parâmetros, demonstrando a contribuição da HU na proteção contra complicações renais associadas a alterações no fosfato em pacientes com AF. Também foi realizado o estudo de biomarcadores preditivos de IRA tais como MCP-1 e molécula de injúria renal 1 (KIM-1) e sua relação com o dano endotelial, através de biomarcadores como VCAM-1 e Sindecano-1, além de avaliar a influência da HU neste processo (Laurentino, 2020).

Neste cenário, é evidenciado o impacto da disfunção endotelial e angiogênese na fisiopatologia da AF, a avaliação da Ang-2 no contexto da nefropatia falciforme e sua associação com o uso de HU e com biomarcadores de hemólise e de dano renal, surge como uma estratégia promissora para compreender o estado pro-angiogênico nesses pacientes, assim como as alterações fisiopatológicas associadas à doença renal nesse contexto clínico.

Até o presente momento, não foram identificados na literatura científica estudos que explorem a relação entre Angiopoietina-2 e a nefropatia falciforme, o que confere caráter inédito a este trabalho, justificando sua relevância para a compreensão de mecanismos fisiopatológicos ainda não elucidados em relação as complicações renais na AF.

Os achados deste estudo podem ter impacto na estratificação de risco e no manejo terapêutico da AF, possibilitando intervenções direcionadas, como o uso de inibidores bioespecíficos de Ang-2 como possíveis estratégias voltadas à redução de complicações relacionadas a angiogênese anormal na AF, incluindo o desenvolvimento e progressão da DRC nestes pacientes.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo Geral

Analisar o papel da angiopoietina-2 em pacientes com anemia falciforme em acompanhamento ambulatorial associando com o uso de hidroxiureia, biomarcadores de hemólise e de dano renal.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar as dosagens de creatinina sérica e urinária, albuminúria e proteinúria dos pacientes com AF
- Determinar os níveis de Ang-2 em pacientes com AF e no grupo controle;
- Determinar a associação dos níveis de Ang-2, marcadores de hemólise e de dano renal em pacientes com AF quanto ao uso de HU;
- Determinar a associação dos níveis de Ang-2, marcadores de hemólise e de dano renal em pacientes com AF em relação aos níveis de albuminúria e a estratificação de risco de DRC;
- Avaliar a associação dos níveis de Ang-2 e dos parâmetros idade, sexo, LDH, HbS, reticulócitos e bilirrubina somente no grupo de paciente com elevado risco de DRC.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo do tipo transversal, de caráter analítico e descritivo, realizado nos pacientes com anemia falciforme acompanhados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (Hemoce) de Fortaleza, Ceará.

3.2 Local do estudo

O estudo foi realizado no Hemocentro Coordenador do Hemoce, que fica localizado no município de Fortaleza – CE. A Hemorrede Pública Estadual é formada pelo Hemocentro Coordenador, localizado em Fortaleza, e os Hemocentros Regionais nas cidades de Quixadá, Iguatu, Sobral, Crato e Juazeiro do Norte, que são responsáveis pelo atendimento de pacientes e doadores em sua área de cobertura.

Todos os Hemocentros contam com ambulatórios de hemoglobinopatias, onde são realizados os atendimentos clínicos, sejam consultas de rotina ou demanda de intercorrências. Após os atendimentos, o medicamento utilizado para controle das manifestações clínicas, atualmente a HU, fica disponível na Farmácia do Hemocentro para os pacientes assistidos pelo ambulatório, mediante prescrição médica. Desta forma, o Hemocentro Coordenador foi o escolhido por ser o centro responsável pelo atendimento de pacientes adultos com anemia falciforme e pela localização mais acessível para a coleta de dados dos pacientes.

3.3 População e amostra

3.3.1 Seleção da População Amostra

Foram incluídos no estudo 76 pacientes com idade ≥ 18 anos, de ambos os sexos com diagnóstico de anemia falciforme confirmado por meio de eletroforese de hemoglobina e/ou cromatografia líquida de alta eficiência e em estado estacionário de acordo com os critérios de BALLAS, 2011, que são:

- Ausência de episódio doloroso agudo que necessitasse de tratamento ambulatorial ou hospitalar por pelo menos quatro semanas consecutivas.
- Sem história de internação hospitalar nos últimos 2 a 3 dias.
- Sem história de transfusão de sangue durante os 4 meses anteriores.

- Sem história de intercorrências, como infecção ou inflamação, durante as 4 semanas anteriores.
- Nenhum tratamento medicamentoso, como antibióticos, que possam afetar o hemograma durante as 3 semanas anteriores.

Foram excluídos do estudo os pacientes com diagnóstico de doença renal, gestantes, tabagistas, hipertensos, diabéticos, etilistas e portadores de neoplasias malignas, por conta de possíveis interferências que estas condições podem ocasionar na análise dos biomarcadores. A amostra foi determinada por conveniência.

Dos 76 pacientes incluídos, 10 não forneceram amostra de urina, impactando na análise de parâmetros urinários, que incluem creatinina urinária, proteinúria, albuminúria e risco de DRC, sendo, portanto, considerado N = 66 para estas análises.

3.3.2 Seleção do Grupo Controle

Foram incluídos no estudo 24 indivíduos com idade ≥ 18 anos, de ambos os sexos, doadores de sangue e que se apresentaram de forma espontânea para doar sangue no HEMOCE. Foram excluídos do estudo indivíduos com diagnóstico de doença renal, tabagistas, hipertensos, diabéticos e etilistas, por conta de possíveis interferências que estas condições podem ocasionar na análise dos biomarcadores. O grupo controle foi determinado por conveniência.

3.4 Coleta de dados e amostras

Os indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão foram convidados a participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) após receberem todas as informações e orientações necessárias. O processo de coleta envolveu amostras de sangue total em tubo com EDTA, amostras de soro em tubo com gel separador e amostras de urina recente em coletor apropriado. Essas amostras foram armazenadas em recipiente térmico com gelo para o transporte até o laboratório de pesquisa, onde foram processadas e mantidas em freezer a -80°C até o momento das análises.

As informações demográficas e clínicas dos pacientes, incluindo idade, sexo e uso de HU, assim como os dados laboratoriais, como contagem de reticulócitos, lactato desidrogenase (LDH), bilirrubina total (BT), bilirrubina direta (BD) e bilirrubina indireta (BI), foram extraídos dos registros em prontuários realizados nas consultas de rotina e acompanhamento.

3.5 Avaliação Laboratorial

3.5.1 Creatinina sérica e urinária

Para a análise de creatinina urinária foi utilizada amostra de urina recente, enquanto para análise de creatinina sérica foi utilizada amostra de soro.

- 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®). O resultado foi utilizado para calcular proteinúria e albuminúria.
- Creatinina sérica: Determinada pelo método enzimático colorimétrico (kit comercial da Bioclin - Quibasa®). O resultado foi utilizado para cálculo da TFGe.

3.5.2 Proteinúria e albuminúria

- Proteinúria: Determinada pelo método vermelho de pirogalol (Sensiprot - Labtest®) e analisada por espectrometria. Os resultados foram normalizados pela creatinina urinária, sendo expressos na forma de mg de proteína/g de creatinina urinária.
- Albuminúria: Determinada pelo método de imunoturbidimetria automatizado (Cobas C111, Roche®). Os resultados foram normalizados pela creatinina urinária, sendo expressos na forma de mg de albumina/g de creatinina urinária.

3.5.3 Taxa de Filtração Glomerular Estimada (TFGe)

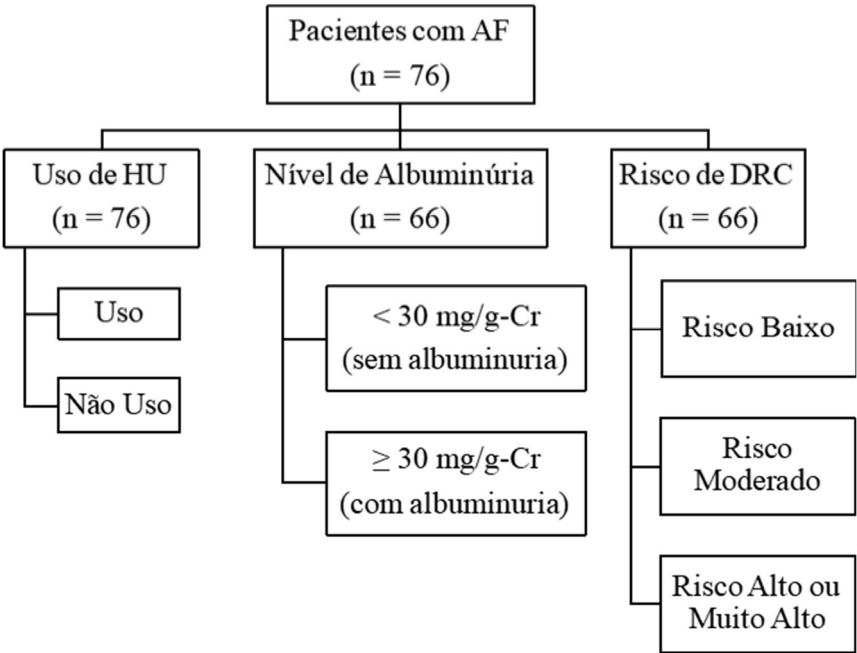
Para o cálculo da taxa de filtração glomerular estimada, foi utilizada a equação CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) sem ajuste para raça por ser o método mais adequado para estimar o valor de indivíduos com doença falciforme (Arlet et al., 2012) e em populações miscigenadas (Almeida; Mill, 2024). Os valores foram expressos em mL/min/1,73 m².

3.5.4 Angiopoietina 2

Para avaliação de Angiopoietina 2 (Ang-2), a quantificação foi realizada pela técnica de Ensaio Imunoenzimático (ELISA) sanduíche (kit comercial DuoSet® ELISA). Os resultados foram expressos em pg/mL.

3.6 Estratificação dos pacientes

Figura 3: Fluxograma de estratificação dos pacientes quanto ao uso de HU, nível de albuminúria e Risco de DRC.



Fonte: Autoria própria

3.6.1 Uso de hidroxiuréia (HU)

Os pacientes com AF foram estratificados de acordo com o uso ou não de HU.

3.6.2 Níveis de Albuminúria

Os indivíduos foram estratificados quanto aos níveis de albuminúria, sendo classificados quanto a ausência ou presença de albuminúria, de acordo com a tabela abaixo (KDIGO, 2024):

Quadro 1. Valores de referência para níveis de albuminúria.

VALORES DE REFERÊNCIA PARA ALBUMINÚRIA		
Categoria	Taxa de excreção	Classificação
A1	< 30 mg/g	Normal ou leve aumento
A2	30 a 300 mg/g	Aumento moderado
A3	> 300 mg/g	Aumento grave

Fonte: Adaptado de KDIGO, 2024

3.6.3 Risco de desenvolver Doença Renal Crônica (DRC)

A avaliação do risco de Doença Renal Crônica (DRC) de acordo com KDIGO (2013) desempenha um papel crucial na identificação e manejo precoce de alterações renais. Essa avaliação abrange dois marcadores essenciais: a TFGe e a albuminúria.

Os indivíduos foram estratificados quanto ao risco de desenvolver DRC da seguinte forma (Figura 3) (KDIGO, 2024):

Figura 4. Tabela de risco e prognóstico de doença renal crônica (DRC).

KDIGO: Prognóstico da DRC por categoria de TFG e albuminúria				Categorias de Albuminúria persistente		
				Descrição e faixa		
				A1	A2	A3
				Normal a levemente aumentada	Moderadamente aumentada	Gravemente aumentada
				<30 mg/g	30–300 mg/g	>300 mg/g
Categorias de TFG (mL/min/1,73m ²)	Descrição e faixa					
	G1	Normal ou alto	≥ 90			
	G2	Redução leve	60–89			
	G3a	Redução leve a moderada	45–59			
	G3b	Redução moderada a grave	30–44			
	G4	Redução grave	15–29			
	G5	Insuficiência renal	<15			

Verde: baixo risco (se não houver outros marcadores de doença renal, sem DRC); Amarelo: risco moderadamente aumentado; Laranja: alto risco; Vermelho: risco muito alto. TFG, taxa de filtração glomerular.

Fonte: Adaptado de KDIGO, 2024.

3.7 Análise Estatística

Os dados coletados foram armazenados em bancos de dados no Programa Excel - *Microsoft Corporation*. Posteriormente, os dados foram analisados no software SPSS para Macintosh (Versão 23.0. Armonk, NY: IBM Corp) e o software R (R Core Team, 2023).

Na análise descritiva as variáveis qualitativas foram expressas como contagem absoluta e porcentagens, sendo comparadas através do teste do qui-quadrado ou exato de Fisher. Todas as variáveis quantitativas foram testadas para distribuição normal usando o teste de Shapiro-

Wilk. Dados normais foram então expressos como média±desvio e dados não normais, como mediana e amplitude interquartil.

A existência de interação entre as variáveis do estudo foi verificada utilizando o teste de Kruskal-Wallis, Teste T para duas amostras e Teste Exato de Fisher. O teste paramétrico ANOVA com pós-teste de Tukey foi usado para comparações entre 3 ou mais grupos para dados normais, e para dados não normais foi usado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

Além disso, foram feitas análises de regressão logística, usando como desfecho dependente o risco alto de DRC. Para os modelos multivariados foram selecionadas as variáveis que apresentaram $p < 0,2$ na análise bivariada. Variáveis quantitativas com colinearidade elevada, mais de 20% de casos omissos e variáveis categóricas com menos de 10 casos por evento foram excluídas dos modelos. As variáveis selecionadas foram expostas ao método stepwise do tipo backward para alcançar o modelo final com variáveis apresentando $p < 0,20$.

3.8 Aspectos éticos

Esta pesquisa faz parte de um projeto guarda-chuva que foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, recebendo o parecer favorável de número 4.424.203, seguindo a Resolução nº 466 do conselho Nacional de Saúde – CNS do Ministério da Saúde, considerando o respeito pela dignidade humana e pela especial proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos.

4 RESULTADOS

Foram avaliados o total de 76 pacientes com AF, sendo 42 (55,3%) do sexo feminino, com a mediana de idade de 29,5 (22,0 - 39,5) anos. Em relação ao uso de HU, o total de 65 (85,5%) estava fazendo uso. (Tabela 1).

Em relação aos parâmetros hematológicos temos medianas percentual de reticulócitos igual a 8,7 (6,8 – 10,8) % e valor absoluto de reticulócitos igual a 211.600,0 (177.518,0 - 267.400,0) /mm³, percentual de Hemoglobina S igual a 76.4 (65.8 - 84.8) % e percentual de Hemoglobina F igual a 14.2 (8.4 - 16.8) %. Nos parâmetros bioquímicos, os resultados obtidos foram expressos em medianas de LDH igual a 402.5 (300.0 - 504.0) U/L, BT igual a 2,2 (1,4 – 3,3) mg/dL, BD igual a 0,4 (0,2 - 0,5) mg/dL, BI igual a 1,8 (1,1 - 2,8) mg/Dl.

Em relação aos parâmetros renais temos que a mediana de Proteinúria foi igual a 162,5 (96,2 – 287,6) mg/g-Cr, Albuminúria igual a 44,1 (15,5 – 143,0) mg/g-Cr, TFGe igual a 135,7 (127,4 – 144,3) mL/min/1,73m². Em relação a estratificação de risco de desenvolvimento de DRC de acordo com os parâmetros de KDIGO (2024), foram avaliados 66 pacientes, devido à ausência de amostra urinária de 10 pacientes, e como resultados temos 29 (43,9%) pacientes com risco baixo, 26 (39,4%) com risco moderado, 11 (16,7%) com risco alto ou muito alto (Tabela 1).

Tabela 1. Variáveis sociodemográficas, clínicas e laboratoriais dos pacientes com AF.

Variáveis avaliadas	Grupo total (n=76) ¹
Sexo ¹	
F	42 (55,3%)
M	34 (44,7%)
Idade ²	29,5 (22,0 - 39,5)
Uso de Hidroxiureia ¹	
Não	11 (14,5%)
Sim	65 (85,5%)
Hemoglobina S (%) ¹	76.4 (65.8 - 84.8)
Hemoglobina F (%) ¹	14.2 (8.4 - 16.8)
Reticulócitos (%) ²	8,7 (6,8 - 10,8)
Reticulócitos (/mm³) ²	211.600,0 (177.518,0 - 267.400,0)
LDH (U/L) ²	402,5 (300,0 - 504,0)
BT (mg/dL) ²	2,2 (1,4 - 3,3)
BD (mg/dL) ²	0,4 (0,2 - 0,5)
BI (mg/dL) ²	1,8 (1,1 - 2,8)
Proteinúria (mg/g-Cr) ²	162,5 (96,2 - 287,6)
Albuminúria (mg/g-Cr) ²	44,1 (15,5 - 143,0)
TFGe (mL/min/1,73m²) ²	135.7 (127.4 - 144.3)
Risco de DRC ¹	
BAIXO	29 (43,9%)
MODERADO	26 (39,4%)
ALTO	10 (15,2%)
MUITO ALTO	1 (1,5%)

¹n (%); ²Mediana (Q1 – Q3)

Nota 1: Para dosagens de proteinúria e albuminúria e Risco de DRC, n = 66 pacientes.

Nota 2: Para as análises, os indivíduos que apresentaram Alto risco ou Muito alto risco foram classificados apenas como grupo de alto risco.

4.1 Níveis de Ang-2 nos pacientes com AF em comparação com GC

Quanto aos valores de Ang-2, obtivemos mediana igual a 2,70 (1,82 – 4,28) ng/mL para os pacientes com AF, sendo superior aos valores obtidos no grupo controle, que apresentou mediana de 0,51 (0,32 – 1,25) ng/mL. Demonstrando diferença significantes entre os valores, com $p < 0,001$ (Tabela 2).

Tabela 2. Níveis de Ang-2 nos pacientes com AF e no GC.

	Pacientes (n=76) ¹	Controles (n=24) ¹	p-value ²
Ang-2 (ng/mL)	2,70 (1,82 – 4,28)	0,51 (0,32 – 1,25)	<0,001

¹Mediana (Q1 – Q3); ²Teste de Mann-Whitney

4.2 Níveis de Ang-2 e variáveis laboratoriais de hemólise e dano renal quanto ao uso de HU

Após a estratificação dos pacientes em relação ao uso de HU, podemos destacar os seguintes resultados, em relação a Ang-2, os resultados obtidos demonstraram valores elevados deste biomarcador em ambos os grupos, no entanto em pacientes que não utilizavam HU, o valor de mediana obtida foi de 3,28 (1,17 – 5,05) ng/mL, e para pacientes que utilizavam HU a mediana foi de 2,69 (1,86 – 4,18) ng/mL, apresentando valor de $p = 0,3$ (Tabela 3).

Quanto aos parâmetros hematológicos, temos que a mediana do percentual de reticulócitos foi 8,4 (6,2 - 8,9) % para os pacientes sem uso de HU e 8,8 (6,8 - 10,8) % para os pacientes em uso de HU, apresentando valor de $p = 0,4$. Para o valor absoluto de reticulócitos a mediana foi de 223.372,0 (211.600,0 – 269.333,0) /mm³ para os pacientes sem uso de HU e 210.500,0 (170.759,0 – 263.411,5) /mm³ para pacientes em uso de HU, valor de $p > 0,9$ (Tabela 3).

Quanto aos parâmetros bioquímicos, a mediana de LDH apresentada para os pacientes sem uso de HU foi de 419,0 (279,0 - 612,0) U/L e para os pacientes em uso de HU foi de 396,0 (300,0 - 504,0) U/L, obtendo $p = 0,6$. Para BT temos a mediana de 2,2 (1,4 - 3,2) mg/dL para pacientes sem uso de HU e 2,1 (1,3 - 3,6) mg/dL para pacientes em uso de HU, apresentando valor de $p = 0,3$. BD e indireta as medianas para pacientes sem uso de HU foram de 0,3 (0,2 - 0,5) mg/dL e 1,9 (1,1 - 2,7) mg/dL, respectivamente, e para pacientes em uso de HU foram 0,4 (0,3 - 0,5) mg/dL e 1,7 (1,1 - 3,0) mg/dL, respectivamente, obtendo $p = 0,069$ para BD e $p = 0,4$ para BI (Tabela 3).

Em relação aos parâmetros de dano renal temos que a proteinúria nos pacientes que não utilizavam HU foi 122,2 (81,5 – 239,9) mg/g-Cr e nos que utilizavam HU foi 163,3 (96,5 – 290,6) mg/g-Cr, apresentando valor de $p = 0,047$. Para albuminúria, os resultados obtidos foram 40,3 (12,0 – 74,5) mg/g-Cr nos que não utilizavam e 46,2 (17,7 – 144,0) mg/g-Cr nos que utilizavam, obtendo valor de $p = 0,14$. Para a TFGe, os resultados obtidos foram 143,4 (131,5 – 151,6) mL/min/1,73m² para os que não utilizavam HU e 135,6 (124,7 – 143,9) mL/min/1,73m² nos que utilizavam HU, obtendo valor de $p = 0,3$. Quanto ao risco de DRC, dentre os pacientes que não utilizavam, 55,6% apresentaram baixo risco para DRC, 33,3% risco moderado e 11,1% com risco alto ou muito alto, dentre os pacientes que utilizavam, 42,1%

apresentaram baixo risco para DRC, 40,4% risco moderado para DRC e 17,6% risco alto ou muito alto para DRC, obtendo valor de $p > 0,9$ (Tabela 3).

Tabela 3. Variáveis laboratoriais quanto ao uso de HU.

Variáveis avaliadas	Sem uso de HU (n=11) ²	Em uso de HU (n=65) ²	p-value ³
Ang-2 (ng/mL)	3,28 (1,17 – 5,05)	2,69 (1,86 – 4,18)	0,3
Reticulócitos (%)	8,4 (6,2 - 8,9)	8,8 (6,8 - 10,8)	0,4
Reticulócitos (/mm ³)	223.372,0 (211.600,0 – 269.333,0)	210.500,0 (170.759,0 – 263.411,5)	>0,9
LDH (U/L)	419,0 (279,0 - 612,0)	396,0 (300,0 - 504,0)	0,6
BT (mg/dL)	2,2 (1,4 - 3,2)	2,1 (1,3 - 3,6)	0,3
BD (mg/dL)	0,3 (0,2 - 0,5)	0,4 (0,3 - 0,5)	0,069
BI (mg/dL)	1,9 (1,1 - 2,7)	1,7 (1,1 - 3,0)	0,4
Proteinúria (mg/g-Cr)	122,2 (81,5 - 239,9)	163,3 (96,5 - 290,6)	0,047
Albuminúria (mg/g-Cr)	40,3 (12,0 - 74,5)	46,2 (17,7 - 144,0)	0,14
TFGe (mL/min/1,73m ²)	143,4 (131,5 - 151,6)	135,6 (124,7 - 143,9)	0,3
Risco de DRC ¹			>0,9
BAIXO	5 (55.6%)	24 (42.1%)	
MODERADO	3 (33.3%)	23 (40.4%)	
ALTO	1 (11.1%)	10 (17,5%)	

¹n (%); ²Mediana (Q1 – Q3); ³Teste exato de Fisher; Teste T para duas amostras

4.3 Níveis de Ang-2 e parâmetros laboratoriais quanto ao nível de albuminúria e risco de DRC

Após a estratificação dos pacientes em relação aos valores de albuminúria, em relação aos valores de Ang-2, temos que para pacientes com albuminúria <30 mg/g-Cr (sem albuminúria) a mediana obtida foi de 2,56 (1,72 – 5,05) ng/mL e para pacientes com albuminúria ≥30 (com albuminúria) a mediana obtida foi de 2,70 (1,86 – 4,18) ng/mL, apresentando valor de $p > 0,9$ (Tabela 4).

Quanto aos parâmetros de hemólise, as medianas do percentual de reticulócitos os valores obtidos foram 8,1 (6,8 - 10,0) % para pacientes sem albuminúria e 8,8 (6,7 - 11,3) % para pacientes com albuminúria. Para o valor absoluto de reticulócitos foram obtidas medianas de 210.700,0 (164.000,0 – 247.918,0) /mm³ para pacientes sem albuminúria e 213.590,0 (177.938,5 – 270.330,0) /mm³ para pacientes com albuminúria. Em relação aos valores de LDH as medianas obtidas foram de 329,0 (247,0 - 416,0) U/L para pacientes com pacientes sem albuminúria e 464,0 (342,0 - 612,0) U/L para pacientes com albuminúria, apresentando valor de $p < 0,001$. Para BT temos valores de 1,5 (1,0 - 2,1) mg/dL para pacientes sem albuminúria e

2,7 (1,8 - 3,7) mg/dL para pacientes com albuminúria, obtendo valor de $p < 0,001$. Para BD temos valores de 0,3 (0,2 - 0,4) mg/dL para pacientes sem albuminúria e 0,4 (0,3 - 0,6) mg/dL para pacientes com albuminúria, obtendo valor de $p = 0,001$. Para BI temos valores de 1,3 (0,8 - 1,7) mg/dL para pacientes sem albuminúria e 2,2 (1,5 - 3,1) mg/dL para pacientes com albuminúria, obtendo valor de $p < 0,001$ (Tabela 4).

Em relação aos parâmetros renais, temos a mediana dos valores de proteinúria igual a 94,8 (75,9 - 105,6) mg/g-Cr para pacientes sem albuminúria e 239,3 (161,8 - 541,6) mg/g-Cr para pacientes com albuminúria, obtendo valor de $p < 0,001$. Nos pacientes avaliados, o valor de mediana de albuminúria parâmetro foi de 12,6 (7,0 - 20,1) mg/g-Cr para o grupo com pacientes sem albuminúria e de 108,7 (49,3 - 382,3) mg/g-Cr, para o grupo com pacientes com albuminúria. Os valores de TFG_e foram 136,2 (129,3 - 143,9) mL/min/1,73m² para pacientes sem albuminúria e 133,9 (120,0 - 145,2) mL/min/1,73m² para pacientes com albuminúria, apresentando valor de $p 0,5$ (Tabela 4).

Também obtemos os seguintes resultados em relação ao risco de DRC, todos os 29 (100%) pacientes que apresentaram pacientes sem albuminúria foram classificados no grupo de baixo risco, enquanto os pacientes com albuminúria, 1 (2,6%) apresentou risco baixo, 26 (68,4%) risco moderado, 11 (28,9%) risco alto, obtendo valor de $p < 0,001$ (Tabela 4).

Tabela 4. Parâmetros laboratoriais quanto aos níveis de albuminúria.

Variáveis avaliadas	<30 mg/g-Cr (n=29) ²	≥30 mg/g-Cr (n=47) ²	p-value ³
Ang-2 (ng/mL)	2,56 (1,72 - 5,05)	2,70 (1,86 - 4,18)	>0,9
Reticulócitos (%)	8,1 (6,8 - 10,0)	8,8 (6,7 - 11,3)	0,3
Reticulócitos (/mm ³)	210.700,0 (164.000,0 - 247.918,0)	213.590,0 (177.938,5 - 270.330,0)	0,6
LDH (U/L)	329,0 (247,0 - 416,0)	464,0 (342,0 - 612,0)	<0,001
BT (mg/dL)	1,5 (1,0 - 2,1)	2,7 (1,8 - 3,7)	<0,001
BD (mg/dL)	0,3 (0,2 - 0,4)	0,4 (0,3 - 0,6)	0,001
BI (mg/dL)	1,3 (0,8 - 1,7)	2,2 (1,5 - 3,1)	<0,001
Proteinúria (mg/g-Cr)	94,8 (75,9 - 105,6)	239,3 (161,8 - 541,6)	<0,001
Albuminúria (mg/g-Cr)	12,6 (7,0 - 20,1)	108,7 (49,3 - 382,3)	<0,001
TFG _e (mL/min/1,73m ²)	136,2 (129,3 - 143,9)	133,9 (120,0 - 145,2)	0,5
Risco de DRC (KDIGO) ¹			<0,001
BAIXO	29 (100,0%)	1 (2,6%)	
MODERADO	0 (0,0%)	26 (68,4%)	
ALTO	0 (0,0%)	11 (28,9%)	

¹n (%); ²Mediana (Q1 - Q3); ³Teste exato de Fisher; teste de Kruskal-Wallis

Para a estratificação dos pacientes em relação ao risco de desenvolvimento de DRC (KDIGO, 2024), em relação aos valores de Ang-2, os resultados das medianas foram 2,56 (1,72 – 5,05) ng/mL para baixo risco, 2,39 (1,75 – 3,58) ng/mL para risco moderado e 3,97 (2,01 – 11,56) ng/mL para risco alto, apresentando valor de $p = 0,3$ (Tabela 5).

Quanto aos resultados obtidos em relação a parâmetros de hemólise, podemos destacar as medianas do percentual de reticulócitos, que foram de 8,1 (6,8 - 9,6) % para pacientes de baixo risco, 8,4 (6,7 - 10,9) % para risco moderado e 10,1 (7,9 - 11,3) % para risco alto, obtendo valor de $p = 0,2$. Para o valor absoluto de reticulócitos os valores de mediana foram 210.700,0 (164.000,0 – 247.918,0) /mm³ para risco baixo, 212.554,5 (184.715,0 –

259.550,0) /mm³ para risco moderado e 213.590,0 (177.593,0 – 259.423,0) /mm³ para risco alto, apresentando valor de $p = 0,9$ (Tabela 5).

Em relação ao LDH, as medianas encontradas foram 326,0 (247,0 - 416,0) U/L para baixo risco, 406,5 (317,0 - 498,5) U/L para risco moderado e 580,0 (395,0 - 726,0) U/L para risco alto, obtendo $p = 0,002$. Para BT os resultados obtidos foram 1,4 (1,0 - 2,0) mg/dL para baixo risco, 2,5 (1,9 - 3,5) mg/dL para risco moderado e 2,4 (1,6 - 3,8) mg/dL para risco alto, apresentando valor de $p = 0,004$. Para BD os resultados obtidos foram 0,3 (0,2 - 0,4) mg/dL para baixo risco, 0,4 (0,3 - 0,6) mg/dL para risco moderado e 0,4 (0,3 - 0,7) mg/dL para risco alto, apresentando valor de $p = 0,008$. Para BI os resultados obtidos foram 1,2 (0,8 - 1,6) mg/dL para baixo risco, 2,1 (1,6 - 3,0) mg/dL para risco moderado e 2,1 (1,3 - 2,7) mg/dL para risco alto, apresentando valor de $p = 0,003$ (Tabela 4).

Em relação aos parâmetros renais e de angiogênese temos valores de proteinúria igual a 94,8 (75,9 - 105,6) mg/g-Cr para baixo risco, 188,2 (148,8 - 264,2) mg/g-Cr para risco moderado e 703,9 (541,6 - 1,625,2) mg/g-Cr para risco alto, obtendo valor de $p < 0,001$. Para albuminúria os valores obtidos foram 12,6 (7,0 - 21,4) mg/g-Cr para baixo risco, 66,0 (46,2 - 130,8) mg/g-Cr para risco moderado e 493,5 (386,4 - 1,446,6) mg/g-Cr para risco alto, apresentando valor de $p < 0,001$. Em relação a TFGe os resultados foram iguais a 135,9 (129,3 – 143,6) mL/min/1,73m² para baixo risco, 138,0 (129,8 – 151,5) mL/min/1,73m² para risco moderado e 132,3 (87,8 – 145,2) mL/min/1,73m² para risco alto, obtendo valor de $p < 0,3$ (Tabela 5).

Tabela 5. Parâmetros laboratoriais quanto ao risco de DRC.

Variáveis avaliadas	Risco Baixo de DRC (n=29) ²	Risco Moderado de DRC (n=26) ²	Risco Alto de DRC (n=11) ²	p-value ³
Ang-2 (ng/mL)	2,56 (1,72 – 5,05)	2,39 (1,75 – 3,58)	3,97 (2,01 – 11,56)	0,3
Reticulócitos (%)	8,1 (6,8 - 9,6)	8,4 (6,7 - 10,9)	10,1 (7,9 - 11,3)	0,2
Reticulócitos (/mm ³)	210.700,0 (164.000,0 – 247.918,0)	212.554,5 (184.715,0 – 259.550,0)	213.590,0 (177.593,0 – 259.423,0)	0,9
LDH (U/L)	326,0 (247,0 - 416,0)	406,5 (317,0 - 498,5)	580,0 (395,0 - 726,0)	0,002
BT (mg/dL)	1,4 (1,0 - 2,0)	2,5 (1,9 - 3,5)	2,4 (1,6 - 3,8)	0,004
BD (mg/dL)	0,3 (0,2 - 0,4)	0,4 (0,3 - 0,6)	0,4 (0,3 - 0,7)	0,008
BI (mg/dL)	1,2 (0,8 - 1,6)	2,1 (1,6 - 3,0)	2,1 (1,3 - 2,7)	0,003
Proteinúria (mg/g-Cr)	94,8 (75,9 - 105,6)	188,2 (148,8 - 264,2)	703,9 (541,6 - 1,625,2)	<0,001
Albuminúria (mg/g-Cr)	12,6 (7,0 - 21,4)	66,0 (46,2 - 130,8)	493,5 (386,4 - 1,446,6)	<0,001
TFGe (mL/min/1,73m ²)	135,9 (129,3 – 143,6)	138,0 (129,8 – 151,5)	132,3 (87,8 – 145,2)	0,3

¹n (%); ²Mediana (Q1 – Q3); ³Teste exato de Fisher; teste de Kruskal-Wallis

4.4 Níveis de Ang-2 e variáveis associadas ao alto risco de DRC na AF

Na análise bivariada, as variáveis Sexo (feminino), Idade, HbS (%), Reticulócitos (/mm³), LDH, BT e Ang-2 apresentaram associação significativa com o alto risco de DRC (p< 0,20), sendo incluídas no modelo multivariado.

No modelo inicial da regressão logística multivariada foram incluídas todas as variáveis selecionadas na análise bivariada. Os resultados mostraram que Idade (OR = 1,057; IC95%: 0,989 – 1,131; p = 0,103), HbS (OR = 1,077; IC95%: 0,972 – 1,193; p = 0,157), LDH (OR = 3,65; IC95%: 0,967 – 13,769; p = 0,056), Ang-2 (OR = 1,478; IC95%: 1,076 – 2,028; p = 0,016) permaneceram significativamente associadas ao alto risco de DRC. No entanto, Sexo (OR = 3,196; IC95%: 0,467 – 21,899; p = 0,237), Reticulócitos (OR = 0,664; IC95%: 0,281 – 1,57; p = 0,351) e BT (OR = 0,837; IC95%: 0,365 – 1,919; p = 0,675) perderam significância no modelo ajustado, sugerindo que seus efeitos podem ser explicados por outras variáveis.

Após a exclusão das variáveis não significativas, o modelo final foi ajustado com Idade (OR = 1,052; IC95%: 0,991 – 1,116; p = 0,096), LDH (OR = 3,302; IC95%: 1,253 – 8,702; p

= 0,016), Ang-2 (OR = 1,341; IC95%: 1,020 – 1,762; p = 0,035). HbS (%) foi excluída do modelo por não ter relevância quando avaliada a sua interação com as demais variáveis.

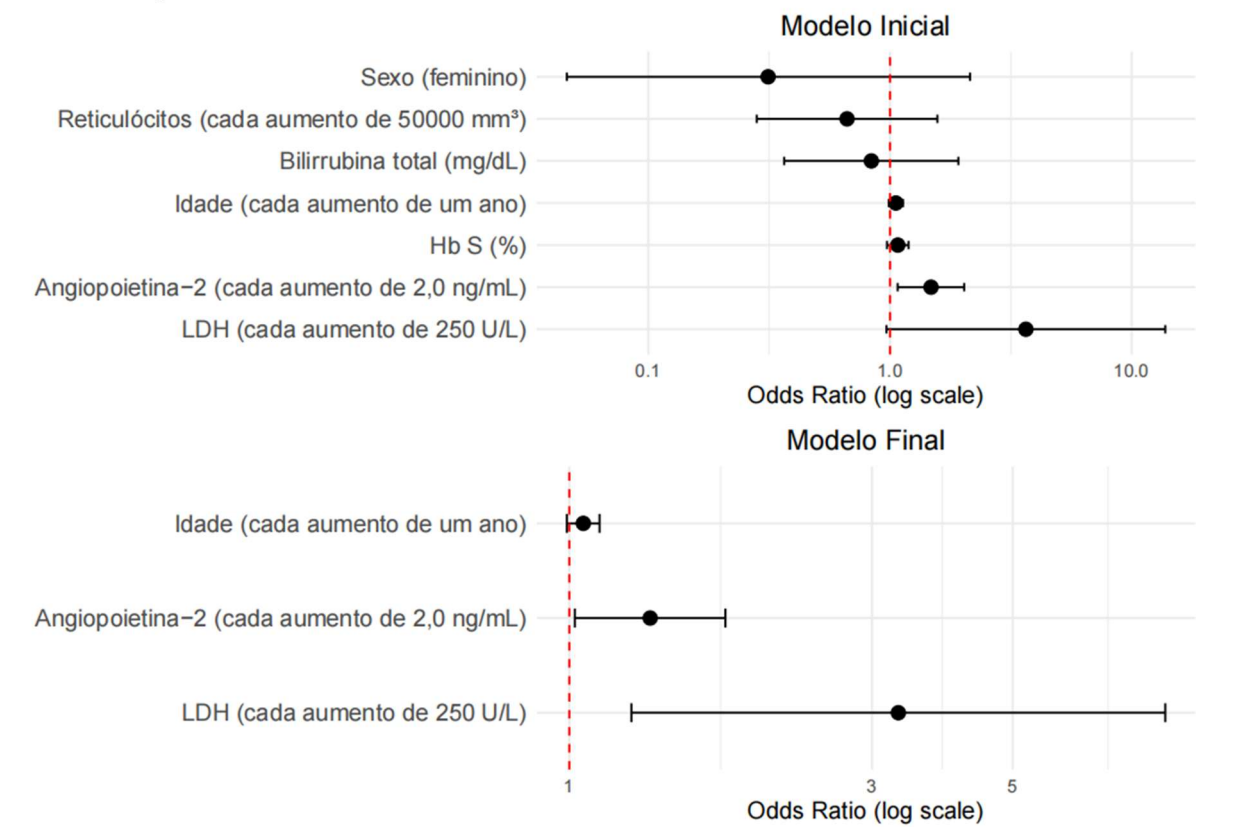
Tabela 6. Regressão Logística para identificação de variáveis associadas ao Risco Alto de DRC na AF.

	Alto Risco de DRC			
	Modelo inicial		Modelo final	
	Odds ratio (IC 95%)	p	Odds ratio (IC 95%)	p
Sexo (feminino)	3,196 (0,467; 21,899)	0,237	-	-
Idade (cada aumento de um ano)	1,057 (0,989; 1,131)	0,103	1,052 (0,991; 1,116)	0,096
HbS (%)	1,077 (0,972; 1,193)	0,157	-	-
Reticulócitos (a cada aumento de 50000/mm3)	0,664 (0,281; 1,57)	0,351	-	-
LDH (a cada aumento de 250 U/L)	3,65 (0,967; 13,769)	0,056	3,302 (1,253; 8,702)	0,016
BT (mg/dL)	0,837 (0,365; 1,919)	0,675	-	-
Ang-2 (cada aumento de 2,0 ng/mL)	1,478 (1,076; 2,028)	0,016	1,341 (1,020; 1,762)	0,035

Nota: Foi utilizado o método stepwise backward para alcançar o modelo final.

Os resultados foram representados em gráficos do tipo forest plot (Gráfico 1).

Gráfico 1: Representação das variáveis associadas ao alto risco de DRC na AF.



Fonte: Autoria própria.

5 DISCUSSÃO

A AF é uma hemoglobinopatia caracterizada por uma anemia hemolítica crônica e por episódios recorrentes de CVOs, que conferem um quadro clínico heterogêneo. Dentre os órgãos afetados estão os rins. A nefropatia falciforme é responsável pelas elevadas taxas de morbimortalidade na doença. A literatura tem demonstrado que as CVOs são desencadeadas pelos eventos hemólise, inflamação e dano endotelial, associado ao estado pro-angiogênico.

O perfil dos pacientes em estudo apresentou predominância do sexo feminino, com a mediana relativa a idade de 29,5 anos e a maioria com histórico de uso de HU. Perfil semelhante ao encontrado no trabalho de Knisely e colaboradores (2020) realizado nos Estados Unidos com 2201 pacientes, que apresentou predominância do sexo feminino, correspondendo a 57,6 % dos pacientes avaliados, média de idade de 29,5 (\pm 7,2) anos e a maioria com histórico de uso atual ou anterior de HU, correspondendo a 74,1% do total de pacientes avaliados. Também podemos destacar os estudos de Ilunga e colaboradores (2022) e Igala e colaboradores (2022) que também apresentam perfil de pacientes semelhante ao encontrado no presente estudo.

A doença não é ligada ao sexo, a população em estudo é de adultos e o uso da HU tem sido uma prática comum na grande maioria dos ambulatórios, onde o medicamento é disponível. Portanto a reduzida taxa de pacientes sem uso de HU está mais associada a falta do medicamento no serviço do que a fatores como a não indicação clínica deste. O uso da HU não é curativo, mas aumenta os níveis de HbF, que por sua vez reduz os principais eventos da doença, hemólise e CVOs (Allard et al., 2021; Montalembert et al., 2021).

Nesse contexto, podemos observar que no presente estudo os pacientes apresentam anemia de natureza hemolítica, devido ao aumento dos marcadores de hemólise tais como os reticulócitos, LDH, BT e BD, e que existe um comprometimento renal através do aumento da albuminúria e da TFG_e, e, por se tratar de pacientes adultos, apresentam um comprometimento maior do ponto de vista das complicações crônicas da AF.

Minniti e colaboradores (2011), descreveram um quadro semelhante em pacientes adultos com AF apresentando como complicação úlceras dos membros inferiores. Além disso, os resultados encontrados foram consistentes com os achados de Feugray e colaboradores (2023) e Santos e colaboradores (2023), em estudos realizados em pacientes com AF em estado estacionário, assim como a população avaliada no presente estudo.

No presente estudo, foi realizado o estudo da angiogênese, que é definida como sendo o crescimento de vasos sanguíneos a partir da vasculatura existente, podendo ocorrer ao longo da vida, em situações fisiológicas ou patológicas (Kretschmer; Rüdiger; Zahler, 2021). Nesse cenário, o presente estudo se propôs a estudar um marcador pro-angiogênico, a Ang-2, nos pacientes com AF, adultos em estado basal, além de verificar a associação da Ang-2 com o quadro hemolítico, risco de dano renal e com o uso da HU.

Foi verificado um aumento nos níveis séricos da Ang-2 na referida população e esse aumento foi significativo em relação ao grupo controle. Resultado esse que corrobora com os dados de Antwi-Boasiako e colaboradores (2018), que demonstrou valores de Ang-2 aumentados em pacientes com AF adultos de Gana, em relação ao grupo controle, neste estudo os pacientes com AF foram estratificados quanto ao estado estacionário ou em crise aguda com complicações de natureza vascular, como úlcera de pernas e priapismo, e os níveis de Ang-2 se apresentaram elevados de forma significativa mesmo nos pacientes em estado estacionário, reforçando a teoria de que na AF, mesmo no estado estacionário, os pacientes apresentam um estado pró-angiogênico devido principalmente ao processo inflamatório crônico presente nestes pacientes, estando ainda em níveis mais elevados quando associados a complicações clínicas características da AF (Duits et al., 2006; Yuan et al., 2009).

Os níveis de Ang-2 não apresentaram diferença em relação ao uso de HU no presente estudo, reforçando o comprometimento da angiogênese na doença, independente do uso de HU. No entanto, o grupo que não fez uso de HU apresentou valores mais elevados da Ang-2, indicando que o tratamento com HU possa ter um efeito benéfico reduzindo a ativação endotelial, angiogênese e comprometimento vascular associada a AF, resultado semelhante ao de Siegert e colaboradores (2024) que mostrou valores menores de Ang-2 em pacientes com AF que faziam uso de HU. Além disso, o estudo de Lopes e colaboradores (2014) realizado in vitro utilizando plasma de pacientes com AF com e sem uso de HU, demonstrou que nos pacientes tratados com HU houve menor atividade angiogênica quando comparada com o grupo sem uso de HU, indicando que o uso deste medicamento é benéfico para a redução de complicações relacionadas a disfunção da angiogênese na AF.

Dentre as hipóteses para a não diferença da Ang-2 entre os grupos em estudo podemos citar a pequena amostragem dos pacientes sem uso da HU, também o elevado grau de variabilidade clínica dos pacientes, ausência de informações sobre complicações clínicas

associadas ao processo pro-angiogênico, assim como a amostragem não probabilística, ou seja, por conveniência, sendo estes, fatores limitantes no presente estudo.

As demais variáveis analisadas quanto ao uso ou não da HU tais como contagem de reticulócitos e níveis de LDH se apresentaram da mesma forma que a Ang-2. Este achado é corroborado pelo estudo de Chenou e colaboradores (2021) realizado com 55 pacientes com AF, sendo 30 sem uso de HU e 25 em uso de HU, onde a diferença na contagem de reticulócitos não foi estatisticamente significativa entre os grupos, mas os níveis de LDH se apresentaram menores no grupo em uso de HU em comparação ao grupo sem uso de HU ($p = 0,045$). Indicando que embora o valor de reticulócitos se mantenha elevado em ambos os grupos, os pacientes em uso de HU apresentam redução do processo hemolítico.

Nos parâmetros renais, a proteinúria foi significativamente maior no grupo em uso de HU, a albuminúria não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos e a TFG_e foi menor no grupo em uso de HU. O estudo de Silva Junior e colaboradores (2014) realizado com 26 pacientes com AF, sendo 12 em uso de HU e 14 sem uso de HU, apresentou resultado semelhante para albuminúria, não havendo diferença entre os grupos, no entanto apresentou resultado divergente em relação a proteinúria, demonstrando valores menores no grupo em uso de HU em comparação ao grupo sem uso de HU ($p = 0,0001$), em relação a TFG_e o resultado foi semelhante, com TFG_e menor no grupo em uso de HU, mas sem diferença significativa. O estudo de Bartolucci e colaboradores (2016) realizado com 58 pacientes com AF de forma prospectiva, demonstrou que o uso de HU foi associado a uma redução da albuminúria no decorrer de seis meses de uso e consequente melhora do comprometimento renal nestes pacientes.

Uma provável explicação para essa divergência no resultado quanto à proteinúria pode ser atribuída a maior gravidade do quadro clínico dos pacientes que constituiu o grupo que faz uso de HU, a utilização deste medicamento se dá devido a presença de complicações associadas a AF, incluindo complicações renais. O fato de os resultados de albuminúria e TFG_e não apresentarem diferença entre os grupos explicam a distribuição semelhantes de risco de desenvolvimento de DRC, com a maioria dos pacientes classificados como baixo risco em ambos os grupos, indicando que o tratamento com HU não teve um impacto significativo na estratificação do risco renal.

No presente estudo, os resultados obtidos foram semelhantes nas estratificações quando aos níveis de albuminúria (sem albuminúria e com albuminúria) e quanto ao risco de DRC (risco baixo, risco moderado e risco alto), este fato pode ser explicado pelo fato de que se utiliza o valor de albuminúria para classificar o risco de DRC. Portanto, ambos os resultados refletem o comprometimento renal presente nos pacientes com AF avaliados, apresentando uma associação estatisticamente significativa entre os níveis de albuminúria e o risco de DRC.

Em relação a estratificação dos níveis de albuminúria e do risco de DRC, os níveis da Ang-2 encontrados mostraram-se elevados no grupo com albuminúria e apresentando aumento nos níveis de forma diretamente proporcional ao aumento do risco de DRC, mas sem significância estatística em ambas as estratificações. Resultado diferente foi demonstrado no estudo de Chang e colaboradores (2013) onde medianas de Ang-2 igual a 1,8632 (1,4345 – 2,4487) ng/mL para pacientes sem albuminúria e 2,2523 (1,6797 – 2,9646) ng/mL para pacientes com albuminúria ($p < 0,0001$). Este achado demonstra que embora no presente estudo não tenha sido demonstrada essa diferença de forma significativa, a associação entre Ang-2 e albuminúria se faz presente, sendo este um dos principais biomarcadores que reflete o comprometimento renal.

Os resultados apresentados em relação aos parâmetros de hemólise, como reticulócitos, LDH e bilirrubinas, evidenciam uma relação significativa entre os níveis desses biomarcadores e a albuminúria, refletindo o impacto da hemólise na função renal em pacientes com AF. Os valores de LDH foram significativamente mais elevados no grupo com albuminúria, sugerindo que uma maior intensidade de hemólise nos pacientes com AF está associada ao aumento do risco de complicações renais, incluindo a progressão para DRC. Achado corroborado por Itokua e colaboradores (2016) que evidenciaram a correlação entre LDH e albuminúria ($p = 0,033$), demonstrando que a hemólise crônica, com a liberação de hemoglobina livre podem levar a disfunção e progressão da nefropatia. De forma semelhante, o estudo de Day e colaboradores (2012) demonstrou a correlação entre LDH e albuminúria ($p < 0,00001$).

Além disso, os níveis de bilirrubinas apresentaram uma diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. As bilirrubinas, sobretudo a BI é um subproduto da degradação da hemoglobina, e a elevação de seus níveis demonstra maior hemólise, que faz parte da fisiopatologia da AF. O estudo de Niss e colaboradores (2020) demonstrou uma associação significativa entre a BT e a albuminúria ($p = 0,002$). O aumento das bilirrubinas,

assim como a LDH, reflete o impacto da hemólise crônica na ativação endotelial e o aumento da permeabilidade vascular, podendo agravar a albuminúria e, por consequência, elevar o risco de DRC em pacientes com AF, demonstrando que pacientes com maior risco renal apresentam uma hemólise mais pronunciada e reforçando a importância do monitoramento de parâmetros de hemólise, como LDH e bilirrubinas, em pacientes com AF, principalmente nos que apresentam risco elevado de desenvolver DRC (Maier-Redelsperger et al., 2010; Nath; Hebbel, 2015).

A mediana dos valores de proteinúria foi significativamente mais alta no grupo com albuminúria em comparação com o grupo sem albuminúria, sugerindo um grau mais elevado de dano renal, entretanto a TFG_e não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Além disso, verificamos que os níveis de albuminúria foram proporcionalmente crescentes de acordo com o aumento do risco de DRC, com predominância de risco moderado e risco alto. Esses achados são consistentes com o estudo de Menye e colaboradores (2019), que apresentou albuminúria alterada em 92,5% dos pacientes com diagnóstico de DRC na AF, mesmo com a TFG_e estando dentro do valor de referência preconizado, demonstrando que a albuminúria é um marcador precoce de lesão renal, em pacientes com AF, onde o dano endotelial pode levar à alteração da permeabilidade glomerular e ao aumento da excreção de proteínas, incluindo a albumina, sendo importante na estratificação do risco de DRC.

O estudo de Sundaram e colaboradores (2011), demonstra que a TFG_e só apresenta redução quando os valores de albuminúria são ≥ 300 mg/g-Cr (macroalbuminúria), evento explicado devido a hiperfiltração glomerular presente nos pacientes com AF, tornando este parâmetro superestimado e reduzindo sua sensibilidade na detecção de alterações na função renal, de forma que avaliação deste parâmetro isolado não é suficiente para a detecção precoce da DRC na AF, fazendo-se necessário o uso de ferramentas como a estratificação de risco de DRC para a detecção precoce desta complicação.

Os dados apresentados indicam que os parâmetros renais, como a proteinúria e a albuminúria, demonstram diferença significativa entre os grupos estratificados de acordo com a albuminúria. A mediana dos valores de proteinúria foi significativamente mais alta no grupo com albuminúria em comparação com o grupo sem albuminúria, sugerindo um grau mais elevado de dano renal, entretanto a TFG_e não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Além disso, verificamos que os níveis de albuminúria foram

proporcionalmente crescentes de acordo com o aumento do risco de DRC, com predominância de risco moderado e risco alto ou muito alto.

Em relação a análise dos fatores associados ao alto risco de DRC, no modelo inicial o sexo feminino se apresenta como fator de proteção, indicando que os pacientes do sexo masculino apresentam maior risco de DRC. No entanto, no modelo final, este fator perde a significância estatística, achado corroborado por Ataga e colaboradores (2022), em uma coorte multicêntrica que incluiu 699 pacientes, sendo 53,5% do sexo feminino, em estado estacionário, que avaliou a progressão da DRC a partir do declínio TFG_e em relação ao sexo dos pacientes e, embora tenha apresentado uma tendência de associação entre o sexo masculino e a progressão da DRC, o resultado não foi estatisticamente significativo ($p = 0,29$).

No modelo inicial o aumento do número de reticulócitos e a dosagem de BT elevada também aparecem como fatores de proteção, indicando que estes pacientes apresentam menor risco de DRC. No entanto, estudos como o de Brewin e colaboradores (2017) que avaliam a associação de biomarcadores de hemólise com a nefropatia em crianças a partir da associação destes biomarcadores com a TFG_e e a albuminúria, demonstram que uma maior atividade hemolítica está associada a danos renais, apresentando valores estatisticamente significantes para reticulócitos aumentados ($r = 0,35$, $P < 0,001$) e bilirrubina ($r = 0,22$, $P = 0,019$).

Embora o número de reticulócitos reflita a capacidade compensatória da medula óssea, valores elevados de reticulócitos juntamente com a BT demonstram um grau de hemólise elevado, estando relacionada a diversas complicações na AF, incluindo complicações renais. Desta forma, o número aumentado de reticulócitos e de BT aparecerem como fator de proteção para DRC podem ser explicados pela presença de fatores de confusão, como idade e sexo, ou pelo número reduzido de casos de alto risco de DRC a serem avaliados.

Em relação aos fatores de risco apresentados no modelo inicial a HbS se apresenta com valor estatisticamente significativo, indicando que quanto maiores os níveis de HbS, maior o risco de DRC. Este achado está em consonância com Drawz e colaboradores (2016) em um estudo com pacientes com AF e Hemoglobinopatia SC (HbSC), onde foi demonstrado que pacientes com HbSS apresentavam maior comprometimento renal quando comparado com pacientes com HbSC, demonstrado pela albuminúria ($p = 0,001$) e TFG_e ($p = 0,001$). No entanto, quando avaliada a interação entre HbS e as demais variáveis que foram significativas no modelo inicial, HbS não se mostrou relevante como fator associado ao alto risco de DRC,

isto pode ser explicado devido a heterogeneidade da distribuição dos valores de HbS entre os pacientes, não apresentando uma associação independente com o alto risco de DRC, embora seja o fator central da fisiopatologia da AF e de suas complicações.

No presente estudo, as variáveis idade, LDH e Ang-2 foram significativamente associadas ao alto risco de DRC nos modelos inicial e final da análise de regressão logística multivariada, apresentando-se como fatores de risco para DRC na AF.

A idade se mostrou como um fator que aumenta o risco de DRC a cada ano, achado que está em concordância com Drawz e colaboradores (2016), que avaliaram o comprometimento renal na AF por meio do declínio da TFG e albuminúria. Em relação a TFG demonstrou que em pacientes com AF declínio da TFG foi de 1,69 a 1,75 mL/min/1,73m² ao ano em comparação com a população sem AF que apresentou declínio da TFG de 0,49 mL/min/1,73m² ao ano. Em relação a albuminúria, houve maior prevalência de microalbuminúria (30 a 300 mg/g-Cr) até a quarta década de vida, evoluindo para macroalbuminúria (≥ 300 mg/g-Cr) a partir da quinta década de vida, estando mais evidente na sexta década de vida. Estes achados demonstram a relação entre a idade e o risco de DRC na população com AF e, embora se saiba que mesmo na população sem AF o declínio da função renal avança com a idade, nos pacientes com AF esse declínio é mais evidente, demonstrando o risco elevado de DRC nesta população.

Em relação aos níveis de LDH que apresentaram associação significativa com o alto risco de DRC no presente estudo, Gurkan e colaboradores (2010) demonstraram que o LDH é um preditor de comprometimento renal na AF através da associação do LDH com a albuminúria por meio de uma análise multivariada em paciente com AF, apresentando resultado estatisticamente significativo ($p=0,041$). Este achado evidencia o papel da hemólise no desenvolvimento da NF, estando envolvida diretamente no mecanismo desta complicação.

Em relação a Ang-2, esta apresentou associação significativa como fator de risco para DRC. Embora não existam estudos avaliando a Ang-2 em relação a DRC na AF, a literatura demonstra uma associação entre Ang-2 e DRC de outras etiologias. O estudo de David e colaboradores (2010) demonstrou o aumento progressivo dos níveis de Ang-2 de acordo com o estágio da DRC e em comparação com GC ($p < 0,0001$), além disso, também apresentou correlação inversa com a TFG ($r = -0,54$; $p = 0,03$). O estudo de Tsai e colaboradores (2014) apresentou níveis crescentes de Ang-2 de acordo com o declínio da TFG, demonstrado pela associação significativa em um modelo ajustado (OR = 2,96; $p = 0,03$).

Os dados da literatura corroboram os achados do presente estudo, demonstrando que existe uma associação entre os níveis de Ang-2 e o risco de DRC, de forma que este biomarcador pode atuar como um preditor de DRC nos pacientes com AF. Portanto, a monitorização de Ang-2 pode ser útil na avaliar sua relação com complicações renais e vasculares em pacientes com AF. Além disso, Ang-2 apresentou associação com o alto risco de DRC de forma independente, demonstrando uma associação entre este biomarcador e o dano renal, no entanto ainda se faz necessária a utilização de outros biomarcadores, como a albuminúria, com o intuito de identificar alterações renais de forma precoce, permitindo a utilização de estratégias para evitar a sua progressão.

Uma das estratégias a ser empregada é o manejo terapêutico com o objetivo de reduzir a albuminúria, o tratamento medicamentoso usualmente empregado é por meio de inibidores da Enzima Conversora de Angiotensina (iECA) ou Bloqueadores dos Receptores de Angiotensina (BRA), sendo recomendado o uso destes fármacos na AF quando o paciente apresentar proteinúria > 100 mg/g-Cr (Sharpe; Thein, 2014).

No entanto, é necessário o investimento em estudos de terapias medicamentosas direcionadas à Ang-2, como é o caso de anticorpos monoclonais, como faricimabe e Trebananibe, que agem bloqueando a ação de Ang-2, impactando diretamente no estado pró-angiogênico crônico presente nos pacientes com AF, mesmo em estado estacionário, demonstrado pelos níveis criticamente elevados de Ang-2 nessa população.

No presente estudo, algumas das limitações apresentadas foram o número reduzido de pacientes com AF avaliados, o caráter transversal do estudo, impossibilitando uma melhor avaliação dos parâmetros de hemólise, dano renal e Ang-2 e sua variação ao longo do tempo e o fato de que a maioria dos pacientes fez uso de HU, dificultando a comparação com aqueles que não usavam o medicamento.

Apesar das limitações, este estudo é de grande relevância, principalmente por abordar a associação entre Angiopoietina-2 e a nefropatia falciforme, temática ainda não explorada na literatura científica. A ausência de estudos prévios evidencia a originalidade e a contribuição inédita deste trabalho para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nas complicações renais em pacientes com AF, abrindo espaço para futuras investigações.

Desta forma, sugere-se a realização de novos estudos numa população maior de pacientes com AF e em um estudo longitudinal, com o objetivo de reduzir vieses e permitir uma melhor compreensão da relação entre Ang-2 e o dano renal na AF. Assim como avaliar o emprego da dosagem de Ang-2 associada à análise de risco de DRC na prática clínica, como uma estratégia de diagnóstico precoce das complicações renais associadas a AF, além de avaliar a aplicação de terapêuticas focadas na atenuação de estado pró-angiogênico.

6 CONCLUSÃO

- Os níveis de Ang-2 em pacientes com AF se apresentaram significativamente elevados em comparação com o grupo controle.
- A proteinúria aparece significativamente elevada nos pacientes em uso de HU. No entanto, os demais parâmetros de hemólise e dano renal se apresentam elevados no grupo sem uso de HU;
- Os parâmetros de hemólise, que incluem LDH e bilirrubinas, foram significativamente mais elevados no grupo com Albuminúria ≥ 30 mg/g-Cr. No entanto, embora os valores de Ang-2 estivessem elevados no grupo com Albuminúria ≥ 30 mg/g-Cr, não houve diferença significativa entre os grupos;
- Os parâmetros de hemólise, que incluem LDH e bilirrubinas, e os parâmetros renais, que incluem albuminúria e proteinúria, apresentaram diferença significativa entre os grupos de risco de DRC. Embora a mediana de Ang-2 estivesse elevada no grupo de alto ou muito alto risco de DRC, não houve diferença significativa entre os grupos;
- Os fatores associados ao alto risco de DRC foram idade, níveis de LDH e níveis de Ang-2, que se apresentaram como fatores de risco para DRC.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para estudos futuros, sugere-se que a avaliação da Ang-2 seja realizada numa população maior de pacientes com AF e em um estudo longitudinal, com o objetivo de reduzir vieses e permitir uma melhor compreensão da relação entre Ang-2 e o dano renal na AF.

Avaliar o uso da estratificação de Risco de DRC como triagem para monitoramento dos pacientes com AF em relação ao dano renal é importante para o diagnóstico precoce e o uso de medidas para evitar a DRC ou a sua progressão, como a terapia medicamentosa com iECA ou BRA.

Além disso, o uso de anticorpos monoclonais direcionados ao bloqueio da ação da Ang-2 ainda não foram explorados no contexto da AF, sobretudo em relação a complicações renais, surgindo como uma estratégia promissora para o tratamento destes pacientes, reduzindo o estado pró-angiogênico e, por consequência, as complicações relacionadas, como é o caso da nefropatia falciforme.

REFERÊNCIAS

- ABREU, G. A. et al. Influence of hydroxyurea on tubular phosphate handling in sickle cell nephropathy. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, 2024.
- ACCIOLY, Jessé. Anemia falciforme: apresentação de um caso com infantilismo. *Arquivos da Universidade da Bahia, Faculdade de Medicina*, v. 2, n. 01, p. 169-169, 1947.
- ADEBAYO, O. C. et al. Sickle cell nephropathy: insights into the pediatric population. *Pediatric Nephrology*, v. 37, n. 6, p. 1231-1243, 2022.
- AKWII, R. G. et al. Role of angiotensin-2 in vascular physiology and pathophysiology. *Cells*, v. 8, n. 5, p. 471, 2019.
- ALMEIDA, W. L. C.; MILL, J. G. Validação das equações para estimativa da filtração glomerular ajustáveis por raça/cor em adultos de Vitória, Espírito Santo, Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 29, n. 1, p. e15752022, 2024.
- ANDRAWES, N. G. et al. Angiotensin-2 as a marker of retinopathy in children and adolescents with sickle cell disease: relation to subclinical atherosclerosis. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, v. 41, n. 5, p. 361-370, 2019.
- ANTWI-BOASIAGO, C. et al. Elevated proangiogenic markers are associated with vascular complications within Ghanaian sickle cell disease patients. *Medical sciences*, v. 6, n. 3, p. 53, 2018.
- 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, 2012.
- ATAGA, Kenneth I. et al. Sex differences in progression of kidney disease in sickle cell disease. *Haematologica*, v. 108, n. 5, p. 1436, 2022.
- ATAGA, K. I.; SARAF, S. L.; DERBAIL, V. K. The nephropathy of sickle cell trait and sickle cell disease. *Nature Reviews Nephrology*, v. 18, n. 6, p. 361-377, 2022.
- AYGUN, B. et al. Glomerular hyperfiltration and albuminuria in children with sickle cell anemia. *Pediatric nephrology*, v. 26, p. 1285-1290, 2011.
- BABAPOOR-FARROKHAN, Savalan et al. Angiotensin-like 4 is a potent angiogenic factor and a novel therapeutic target for patients with proliferative diabetic retinopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 112, n. 23, p. E3030-E3039, 2015.
- BALLANTINE, Josiah; TISDALE, John F. Gene Therapy for Sickle Cell Disease: Recent Advances, Clinical Trials, and Future directions. *Cytherapy*, 2024.
- BARTOLUCCI, P. et al. Six months of hydroxyurea reduces albuminuria in patients with sickle cell disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, v. 27, n. 6, p. 1847-1853, 2016.
- BELCHER, J. D. et al. Haptoglobin and hemopexin inhibit vaso-occlusion and inflammation in murine sickle cell disease: Role of heme oxygenase-1 induction. *PloS one*, v. 13, n. 4, p. e0196455, 2018.

BOZZA, M. T.; JENEY, V. Pro-inflammatory actions of heme and other hemoglobin-derived DAMPs. *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 1323, 2020.

BRANDOW, A. M.; LIEM, R. I. Advances in the diagnosis and treatment of sickle cell disease. *Journal of hematology & oncology*, v. 15, n. 1, p. 20, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Portaria ° 872 de 06 de novembro de 2002. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme: Hidroxiureia, Brasília-DF, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Perfil das hemoglobinopatias: doença falciforme - dados 2016. Brasília: Ministério da Saúde, p. 39, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Portaria ° 16 de 01 de novembro de 2024. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme, Brasília-DF, 2024.

BREWING, John et al. Early markers of sickle nephropathy in children with sickle cell anemia are associated with red cell cation transport activity. *HemaSphere*, v. 1, n. 1, p. e2, 2017.

CHANG, F. et al. Angiopoietin-2 is associated with albuminuria and microinflammation in chronic kidney disease. *PloS one*, v. 8, n. 3, p. e54668, 2013.

CHEN, G. et al. Heme-induced neutrophil extracellular traps contribute to the pathogenesis of sickle cell disease. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, v. 123, n. 24, p. 3818-3827, 2014.

CHENOU, F. et al. Effect of hydroxyurea therapy on intravascular hemolysis and endothelial dysfunction markers in sickle cell anemia patients. *Annals of Hematology*, v. 100, n. 11, p. 2669-2676, 2021.

CHIMUCO, K. S. M. A doença falciforme como factor protector contra a Malária. *Revista Angolana de Ciências da Saúde/Angolan Journal Of Health Sciences*, v. 3, n. 2, p. 4-9, 2022.

COHEN, Alan; SCHWARTZ, Elias. Iron chelation therapy in sickle cell anemia. *American journal of hematology*, v. 7, n. 1, p. 69-76, 1979.

CONGER, A. K. et al. Hemoglobin increases leukocyte adhesion and initiates lung microvascular endothelial activation via Toll-like receptor 4 signaling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 324, n. 3, p. C665-C673, 2023.

DAVID, Sascha et al. Circulating angiopoietin-2 levels increase with progress of chronic kidney disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, v. 25, n. 8, p. 2571-2579, 2010.

DAY, T. G. et al. Association between hemolysis and albuminuria in adults with sickle cell anemia. *Haematologica*, v. 97, n. 2, p. 201, 2012.

DOVER, George J. et al. Individual variation in the production and survival of F cells in sickle-cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 299, n. 26, p. 1428-1435, 1978.

DRAWZ, Paul et al. Kidney disease among patients with sickle cell disease, hemoglobin SS and SC. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, v. 11, n. 2, p. 207-215, 2016.

DUIITS, Ashley J. et al. Serum levels of angiogenic factors indicate a pro-angiogenic state in adults with sickle cell disease. *British journal of haematology*, v. 134, n. 1, p. 116-119, 2006.

ELSHERIF, L. et al. Associação de biomarcadores de função endotelial, ativação de coagulação e lesão renal com albuminúria persistente na anemia falciforme. *British Journal of Haematology*, v. 205, n. 5, p. 1963-1973, 2024.

EMMEL, Victor E. A study of the erythrocytes in a case of severe anemia with elongated and sickle-shaped red blood corpuscles. *Archives of Internal Medicine*, v. 20, n. 4, p. 586-NP, 1917.

ESHBACH, M. L. et al. Hemoglobin inhibits albumin uptake by proximal tubule cells: implications for sickle cell disease. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, v. 312, n. 6, p. C733-C740, 2017.

ESOH, K.; WONKAM, A. Evolutionary history of sickle-cell mutation: implications for global genetic medicine. *Human molecular genetics*, v. 30, n. R1, p. R119-R128, 2021.

FALLAH, A. et al. Therapeutic targeting of angiogenesis molecular pathways in angiogenesis-dependent diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 110, p. 775-785, 2019.

FERRO DESIDERI, Lorenzo et al. Faricimab for the treatment of diabetic macular edema and neovascular age-related macular degeneration. *Pharmaceutics*, v. 15, n. 5, p. 1413, 2023.

GILLEN, Jessica; RICHARDSON, Debra; MOORE, Kathleen. Angiopoietin-1 and angiopoietin-2 inhibitors: clinical development. *Current oncology reports*, v. 21, p. 1-7, 2019.

GURKAN, Sevgi et al. Lactate dehydrogenase as a predictor of kidney involvement in patients with sickle cell anemia. *Pediatric nephrology*, v. 25, p. 2123-2127, 2010.

HAHN, E. Vernon; GILLESPIE, Elizabeth Biermann. Sickle cell anemia: report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental study of sickle cell formation. *Archives of Internal Medicine*, v. 39, n. 2, p. 233-254, 1927.

HAN, J. et al. Voxelotor and Albuminuria in Adults with Sickle Cell Anemia. *British journal of haematology*, v. 197, n. 5, p. e63, 2022.

HERRICK, James B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Archives of internal medicine*, v. 6, n. 5, p. 517-521, 1910.

HILBERT, T. et al. Endothelial permeability following coronary artery bypass grafting: an observational study on the possible role of angiopoietin imbalance. *Critical Care*, v. 20, n. 1, p. 1-13, 2016.

INGRAM, Vernon M. Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature*, v. 180, n. 4581, p. 326-328, 1957.

ITO, M. T. et al. Angiogenesis-related genes in endothelial progenitor cells may be involved in sickle cell stroke. *Journal of the American Heart Association*, v. 9, n. 3, p. e014143, 2020.

ITOKUA, K. E. et al. Albuminuria, serum antioxidant enzyme levels and markers of hemolysis and inflammation in steady state children with sickle cell anemia. *BMC nephrology*, v. 17, p. 1-6, 2016.

KAPOOR, Sargam; LITTLE, Jane A.; PECKER, Lydia H. Advances in the treatment of sickle cell disease. In: *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier, 2018. p. 1810-1824.

KATO, G. J. et al. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *The Journal of clinical investigation*, v. 127, n. 3, p. 750-760, 2017.

KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. *Nature reviews Disease primers*, v. 4, n. 1, p. 1-22, 2018.

KDIGO. Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney international*, v. 105, n. 4, p. S117-S314, 2024.

KEIKHAEI, Bijan; YOUSEFI, Homayon; BAHADORAM, Mohammad. Hydroxyurea: clinical and hematological effects in patients with sickle cell anemia. *Global journal of health science*, v. 8, n. 3, p. 252, 2015.

KERSTEN, Sander. Angiopoietin-like 3 in lipoprotein metabolism. *Nature Reviews Endocrinology*, v. 13, n. 12, p. 731-739, 2017.

KESLER, Cristina T. et al. Angiopoietin-4 increases permeability of blood vessels and promotes lymphatic dilation. *The FASEB Journal*, v. 29, n. 9, p. 3668, 2015.

KNISELY, M. R. et al. Patient-reported outcomes in sickle cell disease and association with clinical and psychosocial factors: report from the sickle cell disease implementation consortium. *American journal of hematology*, v. 95, n. 9, p. 1066-1074, 2020.

KRISHNAMURTI, Lakshmanan. Hematopoietic cell transplantation for sickle cell disease: updates and future directions. *Hematology*, v. 2021, n. 1, p. 181-189, 2021.

LEE, H. J.; HONG, Y. J.; KIM, M. Angiogenesis in chronic inflammatory skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 21, p. 12035, 2021.

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, 2022.

LI, M. et al. Impact of angiopoietin-2 on kidney diseases. *Kidney Diseases*, v. 9, n. 3, p. 143-156, 2023.

LIMA, L. C. et al. Fisiopatologia da doença renal crônica em adultos com doença falciforme. *Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto (TÍTULO NÃO-CORRENTE)*, v. 14, n. 3, 2015.

LOPES, F. C. M et al. Key endothelial cell angiogenic mechanisms are stimulated by the circulating milieu in sickle cell disease and attenuated by hydroxyurea. *haematologica*, v. 100, n. 6, p. 730, 2015.

LUO, A.; CHANG, F.; LIN. Exploring Angiopoietin-2: Clinical Insights and Experimental Perspectives in Kidney Diseases. *Kidney International Reports*, 2024.

MAHMUD, S. et al. Hemoglobin cast nephropathy. *Kidney International Reports*, v. 5, n. 9, p. 1581-1585, 2020.

MAIER-REDELSPERGER, M. et al. Strong association between a new marker of hemolysis and glomerulopathy in sickle cell anemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, v. 45, n. 4, p. 289-292, 2010.

MENYE, H. D. F. et al. Chronic kidney disease in sickle cell disease: prevalence and associated factors in Cameroon. 2019.

- MINNITI, C. P. et al. Laboratory and echocardiography markers in sickle cell patients with leg ulcers. *American journal of hematology*, v. 86, n. 8, p. 705, 2011.
- MONTE NETO, J. T.; KIRSZTAJN, G. M. O papel da injúria podocitária na patogênese da nefropatia da doença de Fabry. *Brazilian Journal of Nephrology*, v. 46, p. e20240035, 2024.
- NASCIMENTO, A. F. et al. Retinopatia em pacientes com doença falciforme: uma revisão de literatura. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, p. e2839108602-e2839108602, 2020.
- NEEL, James V. The clinical detection of the genetic carriers of inherited disease. *Medicine*, v. 26, n. 2, p. 115-154, 1947.
- NICKEL, Robert Sheppard et al. Adding hydroxyurea to chronic transfusion therapy for sickle cell anemia reduces transfusion burden. *Transfusion*, v. 65, n. 1, p. 38-49, 2025.
- NISS, O. et al. Progression of albuminuria in patients with sickle cell anemia: a multicenter, longitudinal study. *Blood advances*, v. 4, n. 7, p. 1501-1511, 2020.
- OWUSU-OFORI, Shirley; REMMINGTON, Tracey. Splenectomy versus conservative management for acute sequestration crises in people with sickle cell disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 11, 2017.
- PAULING, Linus et al. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science*, v. 110, n. 2865, p. 543-548, 1949.
- PAYÁN-PERNÍA, S. et al. Nefropatía falciforme. Manifestaciones clínicas y nuevos mecanismos implicados en el daño renal. *nefrologia*, v. 41, n. 4, p. 373-382, 2021.
- 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, 2019.
- RANKINE-MULLINGS, Angela E.; OWUSU-OFORI, Shirley. Prophylactic antibiotics for preventing pneumococcal infection in children with sickle cell disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, n. 3, 2021.
- RIBAU, A. I. C. O papel da imunidade na lesão renal induzida por isquemia/reperfusão. 2015.
- RUSSELL, Marie Olivier et al. Transfusion therapy for cerebrovascular abnormalities in sickle cell disease. *The Journal of pediatrics*, v. 88, n. 3, p. 382-387, 1976.
- SANTOS, T. E. J. et al. Monocyte chemoattractant protein-1: a potential biomarker of renal lesion and its relation with oxidative status in sickle cell disease. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, v. 54, n. 3, p. 297-301, 2015.
- SHINDE, Swati; BAKSHI, Arun P.; SHRIKHANDE, A. Infections in sickle cell disease. *IAIM Int ArchIntegr Med IAIM*, v. 2, p. 34-26, 2015.
- SIEGERT, T. F. et al. Angiopoietin-2 is associated with sickle cell complications, including stroke risk, and decreases with hydroxyurea therapy. *Blood Vessels, Thrombosis & Hemostasis*, v. 1, n. 1, p. 100001, 2024.
- SILVA, M. A. C. Uso de Hidroxiureia em pacientes com anemia falciforme acompanhados no hospital universitário de Sergipe. 2019.

SHARPE, Claire C.; THEIN, Swee Lay. How I treat renal complications in sickle cell disease. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, v. 123, n. 24, p. 3720-3726, 2014.

SMITH, A.; MCCULLOH, R. J. Hemopexin and haptoglobin: allies against heme toxicity from hemoglobin not contenders. *Frontiers in physiology*, v. 6, p. 187, 2015.

STEVENS, Alexander R. Splenectomy in sickle cell anemia. *Archives of Internal Medicine*, v. 125, n. 5, p. 883-884, 1970.

SUNDD, P.; GLADWIN, M. T.; NOVELLI, Enrico M. Pathophysiology of sickle cell disease. *Annual review of pathology: mechanisms of disease*, v. 14, n. 1, p. 263-292, 2019.

SUNDARAM, N. et al. Biomarkers for early detection of sickle nephropathy. *American journal of hematology*, v. 86, n. 7, p. 559-566, 2011.

SZYMCAK, A. et al. High plasma angiopoietin-2 levels predict the need to initiate dialysis within two years in patients with chronic kidney disease. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 24, n. 12, p. 10036, 2023.

TEIXEIRA, R. S.; LADEIA, A. M. DISFUNÇÃO ENDOTELIAL NA ANEMIA FALCIFORME: UMA AGRESSÃO VASCULAR PELA ATIVAÇÃO DO ENDOTÉLIO. *Anemia Falciforme e Comorbidades Associadas na Infância e na Adolescência*, p. 4, 2020.

TELEN, Marilyn J.; MALIK, Punam; VERCELLOTTI, Gregory M. Therapeutic strategies for sickle cell disease: towards a multi-agent approach. *Nature reviews Drug discovery*, v. 18, n. 2, p. 139-158, 2019.

TISDALE, John F.; THEIN, Swee Lay; EATON, William A. Treating sickle cell anemia. *Science*, v. 367, n. 6483, p. 1198-1199, 2020.

TSAL, Yi-Chun et al. Association of angiopoietin-2 with renal outcome in chronic kidney disease. *PloS one*, v. 9, n. 10, p. e108862, 2014.

VALLELIAN, F.; BUEHLER, P. W.; SCHAER, D. J. Hemolysis, free hemoglobin toxicity, and scavenger protein therapeutics. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, v. 140, n. 17, p. 1837-1844, 2022.

WALIA, R.; FERTRIN, K. Y.; SABATH, D. E. History, Advances, and Challenges of Sickle Cell Disease Treatment. *Clinics in Laboratory Medicine*, 2024.

YUAN, H. T. et al. Angiopoietin 2 is a partial agonist/antagonist of Tie2 signaling in the endothelium. *Molecular and cellular biology*, v. 29, n. 8, p. 2011-2022, 2009.

ZHANG, Jialin et al. Evaluating the efficacy and safety of trebananib in treating ovarian cancer and non-ovarian cancer patients: A meta-analysis and systematic review. *Expert Review of Anticancer Therapy*, v. 24, n. 9, p. 881-891, 2024.

ZHONG, Lijun; TANG, Lin; HE, Xiaoxia. Angiopoietin-like 3 (ANGPTL3) drives cell proliferation, migration and angiogenesis in cervical cancer via binding to integrin alpha v beta 3. *Bioengineered*, v. 13, n. 2, p. 2971-2980, 2022.

ILUNGA, Alain KK et al. Sociodemographic Profile and Clinic of Polytransfused Sick Cell Patients in Kinshasa: Case of the Center for Mixed Medicine and SS Anemia. Open Access Library Journal, v. 9, n. 12, p. 1-11, 2022.

IGALA, Marielle et al. Socio-demographic and economic profile of adult patients with sickle cell disease followed up on a regular basis at the University Hospital Center of Libreville. The Pan African Medical Journal, v. 41, p. 294-294, 2022.

ALLARD, Pierre et al. Genetic modifiers of fetal hemoglobin affect the course of sickle cell disease in patients treated with hydroxyurea. Haematologica, v. 107, n. 7, p. 1577, 2021.

MONTALEMBERT, Mariane et al. Real-life experience with hydroxyurea in patients with sickle cell disease: results from the prospective ESCORT-HU cohort study. American journal of hematology, v. 96, n. 10, p. 1223-1231, 2021.

FEUGRAY, Guillaume et al. Lactate dehydrogenase and hemolysis index to predict vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. Scientific Reports, v. 13, n. 1, p. 21198, 2023.

SANTOS, Edvan do Carmo et al. Leg Ulcers in Sickle Cell Disease: A Multifactorial Analysis Highlights the Hemolytic Profile. Hematology Reports, v. 15, n. 1, p. 119-129, 2023.

KRETSCHMER, Maibritt; RÜDIGER, Daniel; ZÄHLER, Stefan. Mechanical aspects of angiogenesis. Cancers, v. 13, n. 19, p. 4987, 2021.