

Terapia gênica e transplante de células tronco como alternativas de cura para pacientes com anemia falciforme

Gene therapy and stem cells as cure alternatives for sickle cell disease patients

DOI:10.34117/bjdv8n4-542

Recebimento dos originais: 21/02/2022

Aceitação para publicação: 31/03/2022

Heloísa Garcia Rocha Foroni

Especialista em Hematologia Clínica e Banco de Sangue

Instituição: Faculdade Monte Pascoal

Endereço: SQS 315, Bloco G Apartamento 303 - Asa Sul – Brasília - DF

E-mail: helogarciabiomed@yahoo.com.br

Joyce de Carvalho Vieira

Especialista em Hematologia Clínica e Banco de Sangue

Instituição: Faculdade Monte Pascoal

Endereço: Quadra QI 16, Bloco T, Apartamento 112 - Guará I - Brasília - DF

E-mail: joy.cvieira@gmail.com

Thaíssa Rodrigues Marçal

Especialista em Hematologia Clínica e Banco de Sangue

Instituição: Faculdade Monte Pascoal

Endereço: QNM 40 Conjunto S Casa 39 - M Norte - Brasília - DF

E-mail: thrmarcal@gmail.com

Verônica Carolina Amorim Souza

Mestre em Zoologia

Instituição: Universidade de Brasília

Endereço: CAS 135 Lote E - Vicente Pires - Brasília - DF

E-mail: vero.caro.as@gmail.com

Érico Meirelles de Melo

Doutorando em Ciências Biomédicas

Instituição: Instituto Universitário Italiano de Rosário

Endereço: Rua R6, nº 85 - Setor Oeste – Goiânia – GO

E-mail: erico@gruporameiro.com

Danillo Rodrigues de Sá Godoi

Mestre em Atenção à Saúde

Instituição: Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Endereço: Rua 21, nº 342 – Vila Jaraguá – Goiânia – GO

E-mail: danillo.professor@gmail.com

RESUMO

As Hemoglobinopatias constituem um grupo de distúrbios genéticos, em que ocorre alteração na estrutura da hemoglobina, sendo consideradas um problema mundial de saúde. Estima-se que ocorram mais de 330 mil nascidos afetados pelo distúrbio por ano. Desses, 83% são de pessoas com anemia falciforme. A abordagem terapêutica resume-se em medidas preventivas, como transfusão de sangue regular e uso de antibióticos, a fim de evitar a progressão da doença em casos mais severos. O objetivo do estudo foi analisar as publicações sobre terapias definitivas para a anemia falciforme e avaliar se houve avanço na aplicação dos métodos terapêuticos no período de 2010 - 2020. Para isso, realizou-se buscas nas bases de dados PubMed, BIREME, SciELO e Lilacs selecionando artigos com o tema proposto. Foram utilizados 64 artigos, sendo 20 relacionados ao tratamento da doença. Conclui-se que apesar dos benefícios alcançados com avanço das terapias de suporte, a maioria dos pacientes ainda sofrem com comorbidades e apresenta mortalidade precoce. A única opção curativa para pacientes falciforme tem sido o transplante de células-tronco hematopoéticas, embora o tratamento não seja acessível por diversos motivos. Uma forma de contornar certas barreiras é a investida em novas abordagens terapêuticas, como a terapia geneticamente direcionada, em que as próprias células do paciente, previamente modificadas, são usadas no transplante.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias, Células-Tronco Hematopoéticas, Terapia Gênica, Terapia Celular, β -globina.

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are a group of genetic disorders, that is characterized by changes in the hemoglobin structure, being considered a global health problem. It is estimated that more than 330 thousand newborns are affected by the disorder each year. 83% of them are people with sickle cell anemia. Therapeutic approach is summarized in preventative interventions, as regular blood transfusions and antibiotics prophylaxis, to avoid progression disease in severe cases. The study aim was analyzing published research about curative therapies to sickle cell anemia to evaluate whether there has been progress in the application of therapeutic methods at the period 2010 - 2020. Searches were conducted in the PubMed, BIREME, SciELO and Lilacs databases and the articles were selected based on the proposed theme. 64 articles were used, 20 of it were related to the treatment of the disease. Despite the benefits achieved with the advancement of supportive therapies, most patients still suffer from comorbidities and present early mortality. The only curative option for sickle cell patients is hematopoietic stem cell transplantation, although treatment is not accessible for several reasons. However, new approaches are emerging as a way of overcoming those hassles. Genetically targeted therapy shows promise as a future curative therapeutic option, in which the patient's own cells, previously modified, are used in transplantation.

Keywords: Hemoglobinopathies, Hematopoietic Stem Cell, Gene Therapy, Cell Therapy, β -globin.

1 INTRODUÇÃO

As hemoglobinopatias constituem um grupo de distúrbios de natureza genética, em que ocorre alteração na estrutura da hemoglobina, sendo considerada um problema

mundial de saúde. Estima-se que ocorram mais de 330 mil nascidos afetados pelo distúrbio por ano. Desses, 83% são de pessoas com anemia falciforme (GOONASEKERA; PATHTHINIGE; DISSANAYAKE, 2018). Como consequência das migrações forçadas nos processos de escravatura, os indivíduos com anemia falciforme estão em todos os continentes, apesar de as hemoglobinopatias serem mais frequentes em povos africanos. No Brasil, estima-se que haja de 20 a 30 mil brasileiros com doença falciforme, com base nos dados do Programa Nacional de Triagem Neonatal - PNTN (SIMÕES *et al.*, 2010). A maior prevalência da doença no Brasil é nas regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 2018).

As hemácias de pacientes com anemia falciforme apresentam a hemoglobina S, HbS (do Inglês, *Sickle*), causada por uma mutação pontual no sexto códon do gene da β -globina. É uma condição autossômica recessiva, na qual os pacientes herdam uma mutação materna e paterna, obrigatoriamente. A alteração ocorre no cromossomo 11 e há substituição de um nucleotídeo timina por um adenina, e por consequência é codificado o aminoácido valina em vez do ácido glutâmico, assim a HbS é produzida (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2013).

A HbS, na forma desoxigenada, sofre o processo de polimerização hemoglobínica, em que perde sua estrutura quaternária e adquire uma estrutura primária. A partir da sua polimerização, a HbS torna-se insolúvel, alterando a forma eritrocitária normal para uma estrutura que lembra uma foice: fenômeno da eritrofalciformação ou afoçamento (BRASIL, 2018). Como consequência de afoçamentos e de danos às membranas eritrocitárias sucedem-se obstruções microvasculares generalizadas. Essas obstruções podem causar dano tecidual isquêmico e crises de dor: crises vaso-oclusivas. Dar-se ainda anemia crônica, resultado da ocorrência de hemólise intra e extravascular (ZAGO; FALCÃO; PASQUINI, 2013).

A hemólise intravascular compromete o metabolismo do óxido nítrico, o que ocasiona vasculopatia proliferativa. Há alterações endoteliais que geram um estado inflamatório crônico. O endotélio lesado expõe o fator tecidual, que desencadeia a cascata da coagulação e libera múltiplos de Fator de *von Willebrand* (SPARKENBAUGH; PAWLINSKI, 2013; NASIMUZZAMAN; MALIK, 2019). Além disso, a expressão irregular de moléculas de adesão acentua a interação indesejada entre os elementos celulares sanguíneos e o endotélio vascular (NASIMUZZAMAN; MALIK, 2019), o que potencializa o fenômeno da vaso-oclusão.

Embora a origem genética da anemia falciforme seja comum a todos os portadores da doença, a variabilidade clínica é bem alta. Vários fatores podem influenciar nas características clínicas da anemia falciforme, como hemoglobina fetal (HbF), os haplótipos de β hemoglobina e co-associação com talassemia (LAURENTINO *et al.*, 2014). A homozigose da hemoglobina S, HbSS, é o que caracteriza a anemia falciforme, as heterozigoses da hemoglobina S de média gravidade são as HbS/ β talassemia, HbSC e HbSD e a heterozigose assintomática é o traço falciforme HbAS (ALMEIDA; BERETTA, 2017).

No Brasil, conforme estabelecido no Programa Nacional de Triagem Neonatal e na Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com Doença Falciforme (PNAIPDF), o diagnóstico precoce dá-se na Atenção Básica, por meio da triagem neonatal (“teste do pezinho”), a partir de então deve-se vincular a criança à unidade básica de saúde e encaminhá-la para o Serviço de Atenção Especializada. Para crianças e adultos que não tiveram acesso à triagem neonatal, o SUS deve ofertar o exame de eletroforese de hemoglobina na Atenção Básica e na rotina do pré-natal, sendo assegurada por legislação, a atenção aos indivíduos com diagnóstico confirmado, independentemente da idade do paciente (BRASIL, 2018). A partir desse momento inicia-se o tratamento.

É consenso entre os comitês técnicos, científicos e os especialistas em hemoglobinopatias, a exemplo da NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute, USA) e da ABHH (Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e terapia Celular), que o tratamento para a anemia falciforme se baseia no uso de fármacos para a prevenção de crises vaso-oclusivas e de infecções recorrentes, bem como no controle da analgesia em episódios de dor. Além disso, a transfusão sanguínea como medida terapêutica é necessária para evitar quadros muito severos de anemia e, em alguns casos, evitar complicações decorrentes da eritrofalciformação, como acidente vascular cerebral e outras manifestações clínicas, como apontam os estudos (FREED *et al.* 2011; SANTOS & CHIN, 2012; GLUCKMAN, 2013; FERREIRA; GOUVÊA, 2018; BALLAS, 2020).

Segundo Ballas (2020), o fármaco ideal para anemia falciforme precisa ter propriedades analgésicas, ser capaz de prevenir crises vaso-oclusivas ou possuir ação de eliminá-las com rapidez após a instalação do episódio, diminuir a severidade e a frequência delas, ter o mínimo de efeitos colaterais perigosos possíveis, ser efetivo em todos os pacientes e estar disponível globalmente. Até o momento, apenas três fármacos atendem parte desses critérios e foram aprovados pela FDA (*Food and Drug Administration*): Hidroxiureia (HU), Crizanlizumab e Voxelotor.

Apesar dos benefícios alcançados com o uso de medicações como a hidroxiureia, e do avanço nas terapias de suporte, nem todos os pacientes são responsivos ao tratamento, uma vez que pacientes com anemia falciforme de diferentes grupos étnicos apresentam diferentes grau de severidade da doença, sugerindo que os haplótipos da β S-globina estejam correlacionados com a sobrevivência de pacientes que fazem uso da hidroxiureia (LAURENTINO *et al.*, 2014). A maioria dos pacientes sofre com comorbidades consideráveis em decorrência da doença e apresenta mortalidade precoce (YAWN *et al.*, 2015).

A única opção curativa para indivíduos com anemia falciforme tem sido o transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH), embora esse tratamento não seja acessível por diversos motivos, entre eles, disponibilidade de doadores, condição clínica do paciente, barreira econômica, condições socioculturais, entre outros (GLUCKMAN *et al.*, 2017).

O transplante de células tronco hematopoéticas precisa ser visto como uma técnica a ser mais bem aprimorada para se tornar mais eficaz, pois ainda ocorrem complicações sérias e alto índice de mortalidade (FERREIRA; GOUVÊA, 2018) e apenas 18% dos casos apresentam irmãos doadores compatíveis (OEVERMANN; SODANI, 2020).

Uma forma de contornar as barreiras existentes no TCTH é a investida em novas abordagens terapêuticas mais recentes, como a terapia geneticamente direcionada, em que as próprias células do paciente, previamente modificadas, são usadas no transplante. Dessa forma, o risco de doença do enxerto contra hospedeiro (DECH) e de rejeição do transplante pode ser praticamente eliminado. Além disso, a falta de doador compatível deixa de ser um problema, pois as células usadas provêm do próprio paciente (DEMIRCI; UCHIDA; TISDALE, 2018).

A terapia gênica vem sendo estudada em ensaios clínicos com a finalidade de regular ou expressar genes do grupamento β -globina. Essa técnica consiste em inserir vírus, lentivírus ou plasmídeos como vetores contendo genes humano funcionais para a correção dos genes afetados, a exemplo das enzimas: nucleases dedo-de-zinco (ZFN), nucleases efetoras semelhantes a ativadores de transcrição (TALENs), meganucleases e CRISPR (repetições palindrômicas curtas agrupadas regularmente interespaçadas) associada à nuclease Cas9 (CRISPR-Cas9) (FERREIRA; GOUVÊA, 2018).

Na pesquisa experimental de terapia gênica da Universidade da Califórnia e Utah foi demonstrada a correção da mutação do gene da hemoglobina, precursor da anemia falciforme. Os pesquisadores isolaram as células CD34+ de indivíduos com anemia

falciforme, editaram CRISPR-Cas9 e 16 semanas depois obtiveram resultados satisfatórios na redução dos níveis de expressão do gene mutado e aumento da expressão do gene manipulado (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

A terapia gênica, por enquanto, só está disponível em ensaios clínicos nos laboratórios de pesquisa, contudo, o avanço nessa área disponibilizará um tratamento potencial para anemia falciforme, dentre outras doenças. E nesse sentido, a edição gênica, a utilização de RNA terapêutico e outras manipulações genéticas emergem como promissoras técnicas para o tratamento curativo da anemia falciforme (GONÇALVES; PAIVA, 2017; ESRICK *et al.*, 2021).

Diante disso, o objetivo do artigo é analisar as publicações sobre terapias definitivas para a doença falciforme e avaliar se houve avanço na aplicação dos métodos terapêuticos no período de 2010 - 2020. Além disso, busca-se analisar as principais terapias da anemia falciforme utilizadas no Brasil e no mundo, bem como verificar se houve avanço na terapêutica da anemia falciforme, que resultasse em melhora na qualidade de vida dos pacientes por meio dos casos descritos na literatura. Ademais, o estudo propõe-se em realizar uma comparação entre tratamentos paliativos e curativos da doença, além de analisar se os casos de cura definitiva na anemia falciforme foram bem-sucedidos e viáveis.

2 MÉTODOS

O estudo trata-se de uma revisão da literatura. A pergunta base do estudo foi elaborada com o método que relaciona as variáveis do evento dentro do anagrama PIO, em que P contém a população com anemia falciforme, I corresponde a intervenção médica que propõe a alternativa de tratamento e O diz respeito aos *outcomes*, desfecho ou resultados da intervenção (GALVÃO; PEREIRA, 2014).

As buscas pelos artigos foram realizadas por quatro integrantes do grupo de pesquisa, com intuito de evitar o enviesamento na seleção dos estudos. Foram seguidos critérios pré-estabelecidos para que as informações mais relevantes fossem incluídas na pesquisa. A seleção se deu da seguinte forma: os descritores foram pesquisados no site de Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), do Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde (BIREME). A partir disso, foram utilizadas as palavras-chave para as buscas das publicações nas bases de dados *PubMed*, *SciELO* e *Lilacs*.

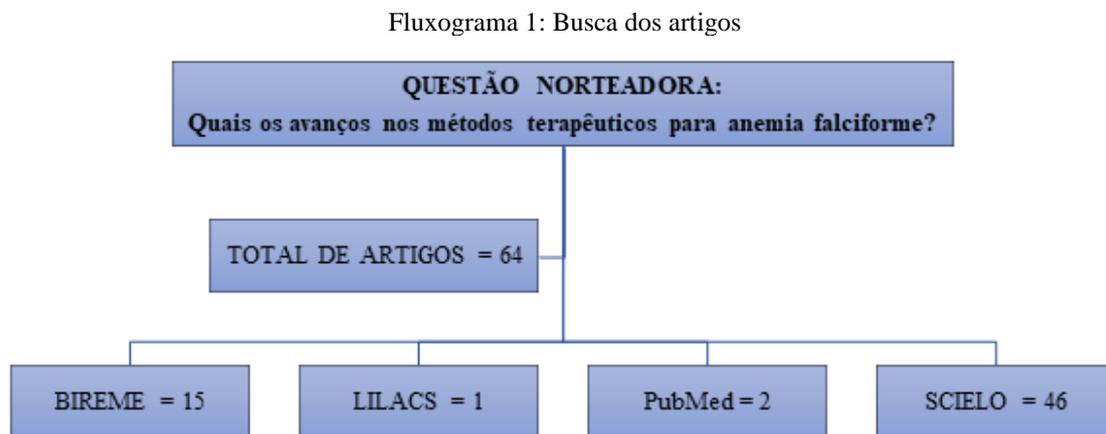
Para os descritores do mesmo grupo (variáveis) do anagrama foi utilizado o operador booleano OR, ou seja, para as palavras-chave sinônimas usou-se OR; e para buscar o assunto entre os grupos, usou-se AND, com o propósito de interligar os assuntos, conforme proposto por Pereira & Galvão (2014).

Utilizou-se os seguintes descritores e suas combinações nas bases de dados: *Sickle Cell* OR *HbS Disease* OR *Hemoglobin S Disease* OR *Sickle Cell Anemia* OR *Sickle Cell Disease* OR *Sickle Cell Disorders* OR *Sickling Disorder* AND *Therapy* OR *Gene Therapy* OR *Bone Marrow Transplant* OR *Stem Cell Therapy* OR *Genome Editing Molecular Therapy* OR *Therapeutic RNA* OR *Hydroxyurea*.

Foram incluídos artigos que abordassem a fisiopatologia, o tratamento, as intervenções e a mortalidade em pessoas acometidas pela doença, tanto no idioma inglês quanto em português, entre o período de 2010 a 2020, a fim de explorar as publicações mais relevantes que contemplassem a temática de forma ampla no escopo do presente estudo.

Foram excluídos artigos sobre Talassemias, sobre danos em outros tecidos decorrentes da anemia falciforme, bem como terapias paliativas e tratamento de complicações secundárias da anemia falciforme.

O resultado da busca e seleção dos artigos utilizados encontra-se a seguir:



Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

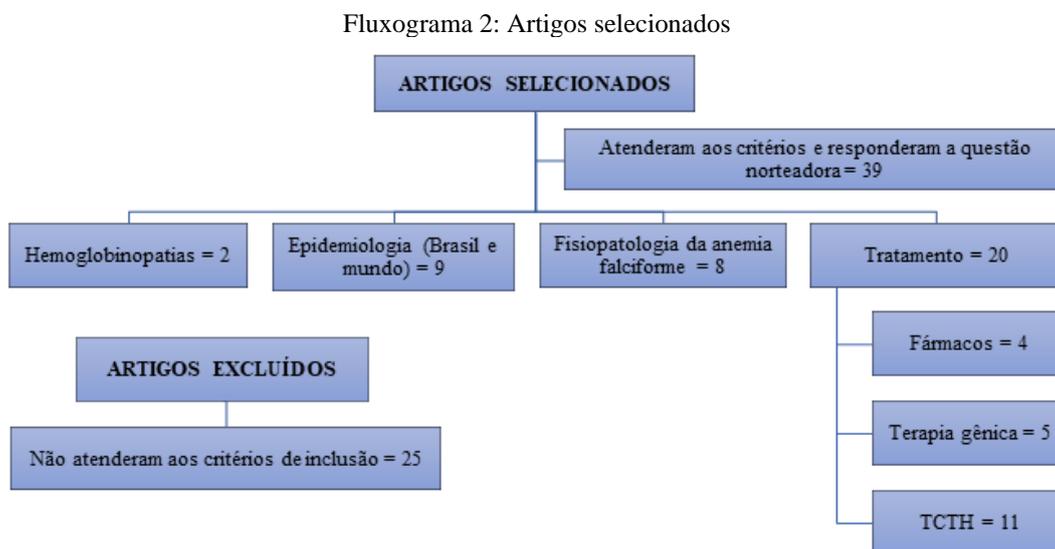
Os artigos selecionados foram categorizados em quatro grupos, sendo eles:

- I. Hemoglobinopatias;
- II. Epidemiologia (Brasil e mundo);
- III. Fisiopatologia da anemia falciforme; e

IV. Tratamento e Intervenções.

Os artigos do grupo I foram utilizados no intuito de contextualizar a questão principal do estudo. O grupo IV foi subdividido em 3 subgrupos com a finalidade de elucidar a questão norteadora de forma mais clara e objetiva, são eles:

- Fármacos;
- Transplante de Células Tronco Hematopoéticas; e
- Terapia Gênica.



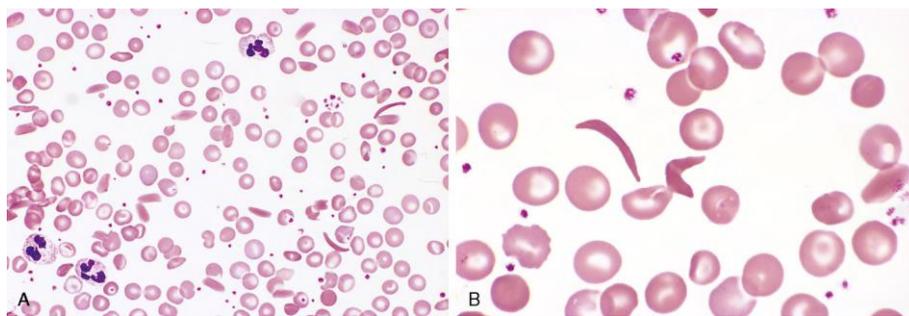
Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 FISIOPATOLOGIA DA ANEMIA FALCIFORME

A anemia falciforme é uma hemoglobinopatia que se caracteriza pela presença de eritrócitos falcizados (figura 1) na corrente sanguínea de indivíduos que recebem dois genes da hemoglobina HbS de seus pais. Essas células sofrem falcização e desfalcização de forma reversível, conforme recebem ou liberam oxigênio. Contudo, esse processo torna-se irreversível após vários episódios de alteração da morfologia celular, independente da oferta de oxigênio, tornando-se então desoxigenada e falcizada. Dessa forma, sofre ataques a sua membrana por espécies de radicais livres, e por esse motivo tornam-se células mais frágeis, quando comparadas às células bicôncavas, diminuindo seu período médio de vida (NAOUM, 2010).

Figura 1: Distensão sanguínea e microscopia óptica. A - Em aumento de 40x, eritrócitos falciformes; B - Em aumento de 100x, observam-se células eritrofacilzadas.



Fonte: KUMAR; ABBAS; ASTER, (2013).

O quadro hemolítico da anemia falciforme favorece o estado constante de inflamação em decorrência da liberação de moléculas pró-inflamatórias para o meio extracelular, dentre as quais destacam-se as proteínas de fase aguda, as interleucinas IL-1 β , IL-6, IL-8, e o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α). Essas moléculas são citocinas que promovem ainda mais a adesão das células ao endotélio vascular desencadeando lesões na vasculatura do paciente, e conseqüentemente, obstrução do fluxo sanguíneo e vaso-oclusão (LAURENTINO *et al.*, 2014).

A HbS tem sido implicada nos níveis aumentados de superóxido e radical hidroxila em hemácias de pacientes falciformes. Os leucócitos podem servir como alvos e fontes do ambiente oxidativo na patologia. A NADPH oxidase é a principal enzima que produz superóxido e leucócitos, sendo uma fonte importante de espécies que reagem ao oxigênio na anemia falciforme. Algumas conseqüências do estresse oxidativo são: hemólise, adesão de glóbulos vermelhos, adesão leucocitária, adesão de plaquetas, e prejuízo na vasodilatação dependente de células endoteliais (NUR *et al.*, 2011).

Em razão da complexidade da doença, para acompanhar os pacientes e suas famílias, seja no tratamento ou aconselhamento genético, é indispensável considerar a relação entre os seguintes aspectos: características genéticas, heterogeneidade mutacional, fatores ambientais e sociais, pois a anemia falciforme apresenta certa amplitude em suas manifestações e complicações clínicas (BRASIL, 2018).

Estudos apontam que pacientes falciformes de diferentes grupos étnicos apresentam diferentes grau de severidade da doença, sugerindo que os haplótipos da β S-globina, independentemente do nível de HbF, esteja correlacionado com a sobrevivência de pacientes que fazem uso da HU. O estudo concluiu que os níveis de TNF- α variam de acordo com o polimorfismo genético do indivíduo e que esse é um fator principal de surgimento das formas severas da doença (LAURENTINO *et al.*, 2014), o que leva a

entender o motivo de alguns indivíduos falciformes não se beneficiarem da HU tão bem quanto outros.

Os haplótipos variantes da β S-globina são: CAR (Central African Republic) ou Bantu, Benin (África oriental), Senegal - Sen (África oriental), Camarões (África oriental), Saudi (Ásia, Índia, e Península Arábica). No Brasil os mais comuns são o CAR (Bantu) e Benin e estão associados às manifestações clínicas mais severas e intermediárias, respectivamente. Os haplótipos Sen e Saudi apresentam manifestações clínicas mais brandas e são menos frequentes na população brasileira (CAMILO-ARAÚJO *et al.*, 2014).

Com o avanço do conhecimento sobre a biologia molecular e a fisiopatologia da anemia falciforme, pesquisadores empenham-se na busca de moléculas que atuem com foco no aumento da HbF, nas vias complexas da adesão celular, na inflamação, no estresse oxidativo e na polimerização para que o tratamento seja mais efetivo. Por ser uma doença com significado clínico muito heterogêneo, existe um desafio em desenvolver ensaios clínicos, sendo assim, uma abordagem multifatorial de agentes envolvidos pode ser uma estratégia mais bem sucedida em encontrar novas fórmulas para o tratamento da patologia (BALLAS, 2020).

Assim, é possível compreender que se faz necessário conhecer a fisiopatologia da doença a fim de se elaborar estratégias terapêuticas mais efetivas. A anemia falciforme é uma condição hereditária complexa, na qual são tomadas medidas profiláticas para retardar a progressão da doença e minimizar a morbidade causada por ela. Percebe-se que a complexidade de fatores envolvendo a patologia, especialmente nos episódios de crise vaso-oclusivas, leva ao entendimento de que é necessária uma equipe multidisciplinar com abordagens direcionadas à prevenção de eventos desencadeadores de dor, a fim de se evitar a complicação da doença, como disfunções orgânicas, em decorrência de processos isquêmicos e de hipóxias.

Por esse motivo, o paciente falciforme que recebe os devidos cuidados a partir da triagem neonatal fica mais bem assistido e apresenta expectativa de vida maior comparado ao paciente que não recebe atenção integral nos vários aspectos da vida, que abrangem a saúde, o socioambiental, o cultural e o afetivo. Dessa forma, o avanço no conhecimento da doença pode proporcionar que o paciente falciforme receba tratamento adequado, enquanto resiste em melhores condições à espera de tratamento definitivo para a cura da doença.

3.2 DESAFIOS E AVANÇOS NA BUSCA DE NOVOS FÁRMACOS

No que tange à farmacoterapia no Brasil, atualmente o único fármaco usado no tratamento da anemia falciforme é a hidroxiureia, embora a FDA já tenha aprovado o uso de L-glutamina, Crizanlizumab e Voxelotor nos EUA. No contexto de poucas alternativas de farmacoterapia, busca-se novas moléculas que constituam uma alternativa ao tratamento, além das já mencionadas, mas não somente, substâncias químicas que apresentem a capacidade de modificar a estrutura da HbS, de aumentar a biodisponibilidade do óxido nítrico ou de alterar as propriedades reológicas do sangue (SANTOS; CHIN, 2012). Os fármacos já aprovados atendem a alguns desses parâmetros.

A hidroxiureia é um agente quimioterápico que aumenta a concentração de HbF por inibir o gene que silencia a síntese da γ -globina. Esse medicamento age diminuindo a polimerização da hemoglobina, assim reduzindo o processo inflamatório. Além disso, a HU contribui reduzindo a expressão plasmática de adesão de moléculas, bem como reduzindo episódios clínicos de síndrome torácica aguda e crises dolorosas (LAURENTINO *et al.*, 2014). Estudos realizados com crianças sobre os efeitos terapêuticos da hidroxiureia apontam que a sobrevivência entre crianças tratadas com o medicamento foi significativamente maior do que entre pacientes não tratados (ARDUINI; RODRIGUES; MARQUI, 2016).

Embora o uso da HU possa oferecer benefícios, nem todos os pacientes apresentam critérios clínicos e laboratoriais suficientes para serem incluídos no protocolo de tratamento. Além disso, alguns pacientes recusam o tratamento por temerem os riscos potenciais e os efeitos adversos relacionados ao uso de HU (LAURENTINO *et al.*, 2014).

E apesar de haver avanços da farmacoterapia, muitos pacientes não têm acesso aos medicamentos. Um estudo relatou casos de pacientes que não aderiram ao tratamento por não possuírem condições financeiras para comparecerem às consultas ambulatoriais, tampouco para realizar os exames que são exigidos antes de iniciar as doses de HU (SANT'ANA *et al.*, 2017). Existe ainda a possibilidade de tolerância do fármaco exigindo que sejam usadas doses cada vez mais altas, o que aumenta o risco de mutagênese, teratogênese e carcinogênese, bem como apresentam riscos de mielossupressão, ou mielotoxicidade (SANTOS; CHIN, 2012).

Dessa forma, a maioria das medidas terapêuticas na anemia falciforme é de suporte e muda muito pouco a fisiopatologia e o curso da doença. Além disso, as medidas profiláticas, por exemplo, antibioticoterapia, vacinação, regime de transfusão sanguínea,

são tomadas para retardar a progressão da doença e minimizar a morbidade causada pela patologia (ANGELUCCI *et al*, 2014; FERREIRA; GOUVÊA, 2018).

Entende-se, portanto, que a disponibilidade e a oferta de fármacos capazes de melhorar a condição dos acometidos pela anemia falciforme foi indispensável para o aumento da sobrevivência desses pacientes. Entretanto, o uso em longo prazo pode se tornar um problema a mais para o indivíduo que faz uso contínuo das medicações, uma vez que são substâncias que trazem efeitos adversos potencialmente lesivos ao organismo quando utilizados por vários anos.

Além disso, o custo financeiro dessa abordagem se torna mais alto, tanto para o Estado, quanto para o paciente e familiares, pois além do custo das medicações, há ainda o custo do acompanhamento clínico e laboratorial ao longo da vida do falciforme.

3.3 MORTALIDADE POR DOENÇA FALCIFORME NO BRASIL

Em virtude dos fatores mencionados, a média da expectativa de vida não aumentou muito nas últimas duas décadas para portadores da doença (SHETH; LICURSI; BHATIA, 2013), e a taxa nacional de mortalidade continua alta, sendo a mais alta no estado do Goiás e da Bahia com 0,48 óbitos por 100.000 habitantes (POMPEO *et al.*, 2020).

As principais causas de morte na doença falciforme são infecção, síndrome torácica aguda e sequestro esplênico. No Brasil, as infecções são as causas mais comuns de morte (ARDUINI; RODRIGUES; MARQUI, 2016).

Os estudos realizados por Arduini, Rodrigues e Marqui (2016), relatam que no Maranhão, com a implantação da triagem neonatal, observou-se alta da taxa de mortalidade de 0,115 para 0,216 e a idade mediana na morte aumentou de 10 para 14 anos. Na Bahia, em 2011, foram relatados 74 óbitos correspondendo a um coeficiente de mortalidade de 0,54 por 100.000 pessoas, sendo 42% dos óbitos na idade entre 20 e 39 anos. Em Minas Gerais, do total de 2.591 crianças diagnosticadas com a Doença Falciforme, entre 1998 e 2012, ocorreram 193 mortes, sendo que 56,5% dos óbitos ocorreram em crianças com menos de dois anos. Dessas 193 mortes: 153 crianças apresentaram HbS/ β^0 talassemia, 34 apresentaram HbSC e 6 apresentaram HbS/ β^+ talassemia. No Rio de Janeiro, no período de 2000 a 2010, 912 recém-nascidos com anemia falciforme (639 com HbSS, 201 com HbSC, 26 com HbSD e 46 com HbS/ β^+ talassemia) foram encaminhados para a Fundação Hemorio. Neste período 34 crianças

morreram: 14 em decorrência de síndrome torácica aguda; 12 de sepse e; 8 de sequestro esplênico.

A expectativa de vida dos pacientes falciformes que têm dupla heterozigose com hemoglobina C é maior dos que têm a hemoglobina S. Os pacientes mais sintomáticos têm um maior risco de morte precoce. Fatores de risco significativos: nível mais baixo de hemoglobina fetal, insuficiência renal, síndrome torácica aguda, convulsões e contagem de leucócitos acima de $15.000/\text{mm}^3$ (da GUARDA *et al.*, 2020; ESRICK *et al.*, 2021). Estudos evidenciaram que adultos que tiveram um nível menor de hemoglobina fetal na infância têm maior chance de morte precoce. O nível de hemoglobina fetal deve ser considerado como um critério importante para seleção de tratamentos de alto risco, como TCTH e tratamentos estimuladores de hemoglobina fetal (da GUARDA *et al.*, 2020).

Apesar de todo conhecimento e do avanço acerca dos cuidados na anemia falciforme, fatores socioambientais agravam a incidência da mortalidade, que ainda se mantém em níveis altos, especialmente em pacientes que não aderem ao tratamento farmacológico, e que estão distantes dos centros urbanos.

Observa-se que há lacunas a serem preenchidas sobre mortalidade no território brasileiro, visto que a maioria dos estudos sobre o tema concentra-se no sudeste do País. A falta desses dados dificulta a implementação de políticas públicas voltadas para os pacientes mais vulneráveis, que representam a maior parte da população falciforme.

3.4 MODALIDADES DE TRANSPLANTE E CRITÉRIOS DE INDICAÇÕES

Nesse contexto, o Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas constitui a única opção de cura em pacientes que apresentam distúrbios genéticos de hemoglobina, pois ele substitui a medula óssea disfuncional de um indivíduo falciforme com hematopoese ineficaz (GLUCKMAN *et al.*, 2017).

Existem diferentes modalidades de transplante: o alogênico, em que as células precursoras provêm de irmão totalmente compatível, o alogênico aparentado, com células provenientes de mãe ou pai e os alogênicos não aparentados, em que as células são provenientes de medula óssea ou de cordão umbilical de doadores voluntários não aparentados, mas que apresentam compatibilidade 100%, entre outros (JEEVANI, 2011). Os alogênicos haploidênticos são aqueles provenientes de doadores aparentados, mas não totalmente compatíveis, no qual ocorre depleção linfocitária farmacológica, na tentativa de evitar DECH. As diferentes modalidades surgiram como uma alternativa de transplante

para pacientes que não possuem irmãos ou que não são totalmente compatíveis (SARMIENTO *et al.*, 2020).

Estudos mostram que dentre os tipos de transplantes, o que apresenta tratamento mieloablativo com infusão de células provenientes de irmãos compatíveis tem se mostrado o mais eficiente em pessoas com anemia falciforme nos EUA, na França e no Centro Internacional de Pesquisa com Transplante de Medula Óssea – CIBMTR, onde a taxa de sobrevivência média e de sobrevida livre da doença ficaram acima de 90% e 73%, respectivamente (FREED *et al.* 2011).

O transplante de células-tronco hematopoéticas alogênicas proveniente de irmãos continua sendo o tratamento padrão ouro para a doença, com altas taxas de sucesso, entretanto, essa modalidade terapêutica apresenta a desvantagem da baixa disponibilidade de doadores compatíveis, e do risco de desenvolver a doença do enxerto contra o hospedeiro aguda, entre outros entraves (FREED *et al.* 2011; GLUCKMAN, 2013).

Pela variabilidade clínica da anemia falciforme, a indicação do TCTH é mais restrita a alguns sinais clínicos de maior gravidade, como o Acidente Vascular Cerebral (AVC) e a Síndrome Torácica Aguda (STA). O TCTH apresenta bons resultados, mas deve ser analisado com precisão. Os efeitos tardios como consequência do procedimento e da doença devem ser reconhecidos e avaliados, para melhor decisão de indicação do transplante (SEBER *et al.*, 2010).

Segundo o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme, Brasil (2018), o TCTH alogênico aparentado mieloablativo com células provenientes de sangue de cordão umbilical, ou de sangue periférico ou de medula óssea de doador familiar HLA idêntico é o indicado. O paciente tem que ser diagnosticado com a doença falciforme, apresentar hemoglobina homozigótica, HbSS, ou hemoglobina heterozigótica beta talassêmica, HbS β , estar em uso de HU e apresentar pelo menos uma das seguintes condições:

- Alteração neurológica em razão de acidente vascular encefálico, com alteração neurológica que persista por mais de 24 horas ou alteração de exame de imagem;
- Doença cerebrovascular associada à doença falciforme;
- Mais de duas crises vaso-oclusivas (inclusive síndrome torácica aguda) graves no último ano;
- Mais de um episódio de priapismo;

- Presença de mais de dois anticorpos em pacientes sob hipertransfusão ou um anticorpo de alta frequência; ou
- Osteonecrose em mais de uma articulação.

O Centro Internacional para pesquisa de transplante de sangue e medula óssea e a Sociedade Europeia de transplante de sangue e medula óssea, apontaram que apenas um pouco mais de 1.200 crianças e jovens adultos se submeteram ao transplante de células tronco hematopoética halogênico até 2015 no mundo, desde o primeiro realizado em pacientes com anemia falciforme, em 1984. Um dos motivos para o número inexpressivo é que apenas 18% dos pacientes possuem irmão compatível, o que limita a aplicação da terapia (OEVERMANN; SODANI, 2020).

Para Eapen e colaboradores (2019), os protocolos de transplantes que envolvem doadores sem irmãos compatíveis e os regimes de condicionamento de baixa intensidade estão sendo cada vez mais usados para restaurar a hematopoiese eficaz em pacientes falciformes.

Contudo, vários ensaios clínicos mostraram resultados não aceitáveis para esses protocolos de tratamento por não serem considerados seguros, visto que houve altas taxas de rejeição e óbitos (OEVERMANN; SODANI, 2020, EAPEN *et al.*, 2019). A partir desses ensaios clínicos, conclui-se que os transplantes provenientes de doadores não aparentados para pacientes com anemia falciforme não é uma terapia recomendada fora de ensaios clínicos controlados. Todos os estudos mostraram altas taxas de DECH agudas e crônicas, altas taxas de rejeição e aumento de complicações linfoproliferativas (KAMANI *et al.*, 2012; OEVERMANN; SODANI, 2020; EAPEN *et al.*, 2019). Resultados mais promissores são encontrados em transplantes haploidênticos, oferecendo uma alternativa na ausência de doadores irmãos compatíveis (GLUCKMAN *et al.*, 2017; FREED *et al.* 2011).

No cenário de poucas opções de tratamento eficiente que promova a qualidade de vida, a sobrevida livre da doença, e até mesmo a possibilidade de ter uma vida normal, o transplante de medula óssea convencional parece uma medida válida para os pacientes sem perspectiva de vida. Contudo, é uma intervenção que apresenta risco considerável de morbimortalidade, uma vez que não é possível prever a resposta do indivíduo ao procedimento em decorrência da amplitude de manifestações clínicas característica da anemia falciforme.

Observou-se que o TCTH apresenta bons resultados em pacientes jovens que apresentam quadro clínico de bom prognóstico, sem disfunções orgânicas graves, porém esses critérios excluem a maior parte dos adultos acometidos pela doença. Portanto, as limitações desse procedimento são grandes. A medida terapêutica seria mais bem-sucedida em cada paciente se houvesse meio de identificar a evolução da doença antes que as complicações se manifestassem. Dessa forma, poderia oferecer possibilidade de cura e de prevenir quadros clínicos debilitantes de maneira mais eficiente.

3.5 TÉCNICAS PROMISSORAS, DESENVOLVIMENTO E DESAFIOS

Todos esses obstáculos relacionados à farmacoterapia e ao TCTH levam a comunidade científica a estudar novas intervenções adicionais. A terapia gênica é uma das alternativas que vem se demonstrando um potencial método de terapia definitiva em busca da cura para a doença falciforme (DEMIRCI; UCHIDA; TISDALE, 2018). Um dos princípios fundamentais da terapia gênica é a identificação e acessibilidade das células a serem melhoradas. Além disso, é preciso ter o total conhecimento sobre a interação dos genes com a patologia (GONÇALVES; PAIVA, 2017). O tipo celular alvo da terapia gênica é dividido em: linhagem germinativa (com alterações hereditárias), na qual os genes funcionais são introduzidos nas células gaméticas para serem feitas as modificações; e células somáticas (sem modificações herdadas por gerações), em que as células somáticas do paciente recebem transferência de genes terapêuticos (GONÇALVES; PAIVA, 2017), na qual a anemia falciforme se encaixa.

Diante disso, estudos de adição de genes já demonstraram que modificações gênicas para favorecer a expressão de alto nível de β -globina anti-falciforme pode reverter as complicações da anemia falciforme (ROMERO *et al.*, 2013; HOBAN; ORKIN; BAUER, 2016; ERISCK *et al.*, 2020).

A terapia gênica visa à introdução de vetores, que são carreadores moleculares, com a finalidade de silenciar ou expressar genes (chamados fatores de transcrição) envolvidos na síntese de HbF, a princípio, por meio de células provenientes do próprio indivíduo falciforme (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

Há estudos que utilizaram vetores com gene da Hb humana com a finalidade de aumentar a expressão de Hb normal (HBB) em indivíduos falciformes, porém, os níveis de expressão necessários quando se usa a HBB são maiores comparados aos níveis de HbF para alcançar os benefícios terapêuticos, por essa razão a engenharia genética desenvolve vetores capazes de inserir β -globina em células tronco hematopoéticas na

dose adequada e de forma segura. Entretanto, vetores γ -retroviral não são capazes de entregar β -globina intacta da forma como os lentivírus o fazem com eficiência, contudo os títulos desse vetor são reduzidos (ROMERO *et al.*, 2013).

Com as melhorias no processamento de células, de vetores virais e de métodos de transdução, a validação dos resultados de ensaios clínicos foi antecipada, permitindo uma aplicação mais ampla de estratégias potencialmente curativas para pacientes com anemia falciforme.

Desde 2012 o sistema CRISPR e Cas são os métodos biotecnológicos principais de edição genômica. Esse sistema tem origem no sistema imune-adaptativo de procariontes, onde ocorre reconhecimento de material genético invasor, clivagem em fragmentos e integração ao seu DNA próprio. Em caso de reinfecção pelo mesmo agente, há transcrição do *locus* CRISPR, processamento do RNAm e criação de fragmentos de RNA (crRNAs) sendo formados complexos com as proteínas Cas, que identificam e destroem os ácidos nucleicos estranhos. Baseado nisso, foi criada a técnica CRISPR que possibilita a edição de sequências de DNA alvo-específica do genoma pela ação de moléculas: a nuclease (Cas9), que faz a clivagem do DNA dupla fita; o RNA, que guia o complexo para o alvo, e; o DNA alvo. Com essa técnica, houve sucesso na correção da mutação do gene da hemoglobina que dá origem à anemia falciforme. A descoberta foi feita por pesquisadores da Universidade da Califórnia e Utah utilizando células CD34+ isoladas de pacientes com anemia falciforme. Essas células foram editadas por CRISPR-Cas9 e os níveis de expressão do gene mutado reduziram após 16 semanas, com aumento da expressão gênica do tipo selvagem (GONÇALVES; PAIVA, 2017).

Um estudo conduzido por Esrick e colaboradores (2021), demonstrou que pacientes falciformes com altos títulos de HbF têm menos crises vaso-oclusivas em razão da afinidade ao oxigênio por essa Hb. Mas para exercer a função protetiva contra a eritrofalcoformação, a HbF precisa estar amplamente distribuída em cada eritrócito. Sabe-se que um fator de transcrição envolvido na repressão da síntese de HbF é o BCL11A. Acerca disso, por meio de inserção de células CD34+ modificadas com vetor lentivírus espera-se diminuir a inibição do BCL11A em pacientes falciformes, levando a uma maior proteção contra eventos agudos ou crônicos da doença causados pela polimerização da HbS, uma vez que HbF evita o processo de afoiçamento (BRENDDEL *et al.*, 2016). Os pacientes que se submeteram à terapia gênica tiveram taxas estáveis e elevadas de HbF após a infusão comparadas ao período anterior da infusão. Além disso, HbF se mostrou amplamente distribuída nos eritrócitos dos pacientes. As manifestações clínicas da

eritrofalci formação também foram reduzidas ou ausentes após o tratamento, portanto o risco benefício se mostra favorável nessa modalidade de gene terapia (ESRICK *et al.*, 2021).

De acordo com Hoban e colaboradores (2016), existe uma diversidade de vetores capazes de carrear genes da β -globina com o propósito de garantir a expressão adequada de genes responsáveis pela transdução da hemoglobina e dessa forma assegurar a reconstituição da hematopoiese. Entretanto, é necessário fazer o mapeamento correto das posições em que os genes estão inseridos para que a transferência seja feita de forma segura e assim evitar a expressão ou o silenciamento de genes adjacentes.

Embora vários dos obstáculos iniciais à terapia genética pareçam ter sido superados, é prudente reconhecer as barreiras que permanecem. A transdução eficiente de Células Tronco Hematopoéticas com vetores lentivirais tornou-se, portanto, cada vez mais confiável. Contudo, ainda existem componentes complicados que apresentam desafios para a produção de vetores de alto título capazes de oferecer uma robusta transdução dos genes. Também existem algumas incertezas quantitativas e qualitativas sobre qual seria o nível de modificação celular adequado que resultam na cura efetiva do paciente. Ampliar os procedimentos para vários pacientes é um desafio a ser superado. A segurança e a eficácia só podem ser estabelecidas por meio de testes clínicos cuidadosos com acompanhamento prolongado do paciente. Os métodos de engenharia genética estão evoluindo rapidamente e devem facilitar o desenvolvimento de abordagens de terapia genética de “segunda geração” nos próximos anos (HOBAN; ORKIN; BAUER, 2016).

Por conseguinte, estudos com reengenharia genética apresentaram resultados promissores para a cura definitiva da anemia falciforme, apesar de ser uma abordagem recente que precisa ser mais bem aprimorada, a fim de apresentar aplicabilidade segura e evitar riscos de mutagênese ao paciente. Presume-se que ainda levará tempo até que a terapia gênica seja uma realidade para pacientes falciformes, especialmente nos países em desenvolvimento, onde a doença ainda é fortemente negligenciada.

Por ser uma terapia de manipulação direcionada e individualizada há a necessidade de padronizar os protocolos e viabilizar a técnica, os custos, entre outras questões, para que tão logo possa ser ampliada e seu uso difundido globalmente.

4 CONCLUSÃO

Portanto, os tratamentos para a anemia falciforme não são o suficiente para diminuir a taxa de mortalidade e aumentar a qualidade de vida em indivíduos falciformes, especialmente em razão da variabilidade clínica em decorrência da complexidade de sua fisiopatologia. As transfusões sanguíneas e a hidroxiureia promovem reações com consequências progressivas no paciente falciforme, como a aloimunização, excesso de ferro e alta toxicidade.

A partir da compreensão da história natural da patologia e das experiências com terapias definitivas, não é recomendado esperar a progressão da doença com ocorrência de complicações para começar a implementar terapia definitiva. Há necessidade urgente de definir as estratégias de tratamentos de cura por meio de políticas públicas, de estudos prospectivos e de investimento em ciência e tecnologia, de forma a assegurar que pacientes tenham acesso a novas abordagens terapêuticas com propósito de cura ou de sobrevida livre da doença. Enquanto essa realidade não chega ao Brasil, é importante manter os pacientes esclarecidos a respeito da prevenção a fim de diminuir episódios de vaso-oclusão que possam ser evitados.

O transplante de células-tronco hematopoéticas apesar de trazer algumas desvantagens é uma medida curativa, assim como a terapia gênica também é, mas, nesse caso aparece como uma opção futura, pois ainda não existe aplicação fora de ensaios clínicos em humanos.

Para exercer efeito, a terapia gênica exige que não haja apenas expressão adequada da globina nativa ou anti-falciforme, mas também deve haver número adequado de células corrigidas em circulação para inibir a vaso-oclusão. O TCTH e a terapia gênica de substituição são métodos que continuam sendo investigados como alternativas de cura para a anemia falciforme. Apesar do histórico de sucesso do TCTH, essa modalidade está associada a toxicidades de longo prazo, limitando sua aplicação generalizada. A terapia gênica tem perfil de menor toxicidade em comparação ao transplante, mas sua toxicidade de longo prazo precisa ser mais bem elucidada.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, R. A.; BERETTA, A. L. R. Anemia falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**. São Paulo, 2017.

ANGELUCCI, E. *et al.* Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. **Haematologica**. Italy, v. 99, n. 5, p. 811-820, May. 2014.

ARDUINI, G. A. O.; RODRIGUES, L. P.; MARQUI, A. B. T. Mortality by sickle cell disease in Brazil. **Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy**. Minas Gerais, v. 39, n. 1, p. 52-56, Oct. 2016.

BALLAS, S. K. The evolving pharmacotherapeutic landscape for the treatment of Sickle Cell Disease. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**. U.S.A., v. 12, n. 1, p. 1-24, e2020010, Jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde e Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença Falciforme**. Brasília, 2018.

BRENDEL, C. *et al.* Lineage-specific BCL11A knockdown circumvents toxicities and reverses sickle phenotype. **The Journal of Clinical Investigation**. U.S.A., v. 126, n. 10, p. 3868-3878, Sep. 2016.

CAMILO-ARAÚJO, R., F. *et al.* 2014. Molecular analysis and association with clinical and laboratory manifestations in children with sickle cell anemia. **Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy**. São Paulo, v. 36, n. 5, p. 334-339, Sep.-Oct. 2014.

DEMIRCI, S.; UCHIDA, N.; TISDALE, J. Gene therapy for sickle cell disease: An update. **Cytotherapy**. U.S.A., v. 20, p. 899-910, May. 2018.

EAPEN, M. *et al.* Effect of donor type and conditioning regimen intensity on allogeneic transplantation outcomes in patients with sickle cell disease: a retrospective multicenter, cohort study. **The Lancet Haematology**. U.S.A., v. 6, n. 11, p. 585-596, Nov. 2019.

ESRICK, E. B. *et al.* Post-Transcriptional Genetic Silencing of BCL11A to Treat Sickle Cell Disease. **The New England Journal of Medicine**. U.S.A., Jan. 2021.

FERREIRA, R.; GOUVÊA, C. M. C. P. Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme. **Revista Médica de Minas Gerais**. Minas Gerais, v. 28, p. 1-6, jun. 2018.

FREED, J. *et al.* Allogeneic cellular and autologous stem cell therapy for sickle cell disease: 'whom, when and how'. **Bone Marrow Transplantation**. U.S.A., v. 47, p. 1489-1498, Dec. 2011.

GALVÃO, T. F.; PEREIRA, M. G. Revisões sistemáticas da literatura: passos para sua elaboração. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**. Brasília, v. 23, n. 1, p. 183-184, mar. 2014.

GLUCKMAN, E. Allogeneic transplantation strategies including haploidentical transplantation in sickle cell disease. **American Society of Hematology**. France, v. 2013, n. 1, p. 370-376, Dec. 2013.

GLUCKMAN, E. *et al.* Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. **Blood**. U.S.A., v. 129, n. 11, p. 1548-1556, Mar. 2017.

GONÇALVES, G. A. R.; PAIVA, R. M. A. Terapia Gênica: avanços, desafios e perspectivas. **Einstein**. São Paulo, v. 15, n. 3, p. 369-75, set. 2017.

GOONASEKERA, H., W.; PATHTHINIGE, C. S.; DISSANAYAKE, V. H. W. Population Screening for Hemoglobinopathies. **Annual Review of Genomic and Human Genetics**. Sri Lanka, v. 19, p. 355-380, Aug. 2018.

GUARDA, C. C. *et al* Sickle cell disease: A distinction of two most frequent genotypes (HbSS and HbSC). **Plos One**. Bahia, v. 15, n.1, e0228399, Jan. 2020.

HOBAN, M. D.; ORKIN, S. H.; BAUER, D. E. Genetic treatment of a molecular disorder: gene therapy approaches to sickle cell disease. **Blood**. U.S.A., v. 127, n. 7, p. 839-848, Feb. 2016.

JEEVANI, T. 2011. Stem cell Transplantation- Types, Risks and Benefits. **Journal of Stem Cell Research & Therapy**. India, v. 1, n. 3, Oct. 2011.

KAMANI, N. R. *et al.* Unrelated Donor Cord Blood Transplantation for Children with Severe Sickle Cell Disease: Results of One Cohort from the Phase II Study from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). **Biology of Blood and Marrow Transplantation**. U.S.A., v. 18, n. 8, p. 1265-1272, Aug. 2012.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; ASTER, J. C. **Robbins Patologia Básica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

LAURENTINO, M. R. *et al.* Influence of β S-globin haplotypes and hydroxyurea on tumor necrosis factor-alpha levels in sickle cell anemia. **Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy**. Ceará, v.36, n. 2, p. 121-125, Mar-Apr. 2014.

NAOUM, P. C. **Eletroforeses: hemoglobinopatias, proteínas séricas, lipoproteínas, DNA**. 1. ed. São Paulo: Livraria Santos Editora Ltda., 2010

NASIMUZZAMAN, M.; MALIK P. Role of the coagulation system in the pathogenesis of sickle cell disease. **Blood Advances**. U.S.A., v. 3, n. 20, p. 3170-3180, Oct 2019.

NUR. E. *et al.* Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. **American Journal of Hematology**. Holland, v. 86, p. 484-489, Jun. 2011.

OEVERMANN, L.; SODANI, P. Status quo of allogeneic stem cell transplantation for patients with sickle cell disease using matched unrelated donors. **Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy**. Germany, v. 13, n. 2, p. 116-119, Jun. 2020.

PEREIRA, M. G.; GALVÃO, T. F. Etapas de busca e seleção de artigos em revisões sistemáticas da literatura. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 23 n. 2, p. 369-371, jun. 2014.

POMPEO, C. M. *et al.* Fatores de risco para mortalidade em pacientes com doença falciforme: uma revisão integrativa. **Revista de Enfermagem Escola Anna Nery**. Rio de Janeiro, v. 24, n. 2, p. 1-11, Mar. 2020.

ROMERO, Z. *et al.* β -globin gene transfer to human bone marrow for sickle cell disease. **The Journal of Clinical Investigation**. U.S.A., v. 123, n. 8, p. 3317-3330, Jul. 2013.

SANT'ANA, P. G. S. *et al.* Clinical and laboratory profile of patients with sickle cell anemia. **Brazilian Journal of Hematology and Hemotherapy**. Minas Gerais, v. 39, n. 1, p. 40-45, Mar 2017.

SANTOS, J. L.; CHIN, C. M. Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. **Quim. Nova**. São Paulo, v. 35, n. 4, p. 783-790, jan. 2012.

SARMIENTO, M. *et al.* Haploidentical transplantation outcomes are comparable with those obtained with identical human leukocyte antigen allogeneic transplantation in Chilean patients with benign and malignant hemopathies. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**. Chile, v. 42, n. 1, p. 40-45, Jan.-Mar. 2020.

SPARKENBAUGH, E.; PAWLINSKI, R. Interplay between coagulation and vascular inflammation in sickle cell disease. **British Journal of Haematology**. U.S.A., v. 162, n. 1, p. 3-14, Jul. 2013.

SEBER, A. *et al.* Indicações de Transplante de Células-Tronco hematopoéticas em Pediatria: Consenso apresentado no I Encontro de Diretrizes Brasileiras em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas – Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. Rio de Janeiro, v. 32, n. 3, p. 225-239, jul. 2010.

SHETH, S.; LICURSI, M.; BHATIA, M. Sickle cell disease: time for a closer look at treatment options? **British Journal of Haematology**. U.S.A., v. 162, p. 455-464, Aug. 2013.

SIMÕES, B. P. *et al.* Consenso Brasileiro em Transplante de Células-Tronco Hematopoéticas: Comitê de Hemoglobinopatias. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São Paulo, v. 32, n. 1, p. 46-53, maio 2010.

YAWN, B. P. *et al.* Management of sickle cell disease: summary of the 2014 evidence-based report by expert panel members. **JAMA**. U.S.A., v. 312, n. 10, p. 1033-1048, Feb. 2015.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. **Tratado de Hematologia**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2013.