



UFRJ
UNIVERSIDADE FEDERAL
DO RIO DE JANEIRO



instituto de
ciências farmacêuticas
Universidade Federal do Rio de Janeiro - Macaé

HELEN LESSA MARTINS MAIA

**EFEITO DOS ANTAGONISTAS DE RECEPTOR DO TIPO 1 DE
ANGIOTESINA II NA POLIMERIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA S**

Macaé

2022

HELEN LESSA MARTINS MAIA

**EFEITO DOS ANTAGONISTAS DE RECEPTOR DO TIPO 1 DE
ANGIOTENSINA II NA POLIMERIZAÇÃO DA HEMOGLOBINA S**

Trabalho de conclusão de curso (TCC)
apresentado ao Curso de Farmácia do Centro
Multidisciplinar UFRJ-Macaé, como requisito para
obtenção do título de farmacêutico.

Orientador: Prof. Dr. Clemilson Berto Júnior
Coorientador: Dr. Camila Cristina Guimarães
Nobre

Macaé
2022

CIP - Catalogação na Publicação

M217
Maia, Helen Lessa Martins
Efeito dos antagonistas de receptor do tipo 1 de angiotensina II na polimerização da hemoglobina S / Helen Lessa Martins Maia - Macaé, 2023.
58 f.

Orientador(a): Clemilson Berto Júnior
Coorientador(a): Camila Cristina Guimarães Nobre.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia, 2023.

1. Anemia Falciforme. 2. Hemoglobina S. 3. Fármacos.
. I. Berto Júnior, Clemilson, orient. II. Nobre, Camila Cristina Guimarães, coorient.
III. Título.

CDD 615

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Biblioteca Central do Centro Multidisciplinar UFRJ-Macaé
Bibliotecário: Anderson dos Santos Guarino CRB7 – 5280

Helen Lessa Martins Maia

**Efeito dos antagonistas de receptor do tipo 1 de angiotensina II na
polimerização da hemoglobina S**

Trabalho de conclusão de curso (TCC) defendido e aprovado como
requisito para obtenção do título de farmacêutico.

Macaé, 16 de dezembro de 2022.

Comissão avaliadora:

Prof. Dr. Clemilson Berto Júnior (Presidente da Banca)

CM UFRJ-Macaé

<http://lattes.cnpq.br/7556214371220650>

Prof. Dr. André Gustavo Calvano Bonavita

CM UFRJ-Macaé

<http://lattes.cnpq.br/4396019359399323>

Prof. Dr. Leandro Louback da Silva

CM UFRJ-Macaé

<http://lattes.cnpq.br/3640859565231717>

Dedico esse trabalho a todos que acreditaram e torceram por mim, em especial:

A meu avô João Geraldo que sempre me incentivou a estudar e manter meus sonhos vivos.

Agradecimentos

Agradeço a todos que me incentivaram e estiveram comigo ao longo dessa jornada: a Deus pelo dom da vida, sustento e cuidado. Agradeço à minha mãe, Helia por ser minha primeira professora e fazer meus sonhos possíveis, por todo amor, inspiração e incentivo. À minha avó, Ana por todo cuidado e carinho, não há palavras que traduzam e expressem o tamanho da minha gratidão por essas mulheres. À minha irmã, Ana Julia que esteve sempre ao meu lado, por todo auxílio, risadas e parceria que foram imprescindíveis na produção desse projeto e muitos outros. À minha família e amigos pela torcida e apoio. Aos meus amigos de infância e aos da faculdade que, de forma direta e indireta, me inspiraram a ser um ser humano melhor, tanto pessoal quanto profissionalmente. A todo grupo de pesquisa em Fisiologia Eritroide, principalmente ao meu orientador Dr Clemilson Berto Júnior por acreditar em mim e me acolher, por me incentivar em todos os momentos e servir como inspiração. A minha coorientadora Dr^a Camila Cristina Guimarães Nobre por todo carinho e paciência. A Dr^a Evelyn Mendonça por todo apoio e ensinamento. Vocês me fazem crer que a vida reserva coisas incríveis a todos aqueles fazem o que amam. Ao curso de Farmácia da UFRJ, aos Docentes Dr^a Juliana Montani Raimundo, Dr Leandro Louback da Silva, Dr Leonardo Paes Cinelli, Dr André Gustavo Calvino Bonavita por serem excelentes mestres e aceitarem compor minha banca examinadora. Ao meu orientador acadêmico Dr Arídio Matos Júnior por sempre ser prestativo e a todos professores, comunidade técnica e auxiliares que contribuíram em minha formação.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que
você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”

(Adaptado de Martin Luther King)

Resumo

As hemoglobinas são proteínas presentes nas células vermelhas do sangue (também conhecidas como hemácias ou eritrócitos). Em alguns casos, por conta de doenças genéticas, ocorre a substituição do ácido glutâmico por um resíduo hidrofóbico de valina; acarretando na formação de hemoglobinas modificadas, hemoglobina S (HbS). Pessoas que apresentam homozigose para HbS são diagnosticadas com a anemia falciforme. Essa é uma doença debilitante de alta mortalidade e prevalência onde, em baixas tensões de oxigênio, ocorre a formação de longas fibras de polímeros de HbS, levando a diversas complicações como anemia hemolítica, vaso oclusão e danos crônicos. Apesar dos avanços no tratamento, a anemia falciforme ainda acomete milhares de pessoas no Brasil e em todo mundo, principalmente afrodescendentes. Uma das grandes responsabilidades do setor farmacêutico é a busca constante por fármacos com capacidade de modificar o curso de doenças, promovendo melhorias na qualidade de vida dos indivíduos. Deste modo a polimerização da HbS (ponto chave da anemia falciforme) se tornou alvo de muitas pesquisas. Objetivo: Esse trabalho visa contribuir na pesquisa de novas terapias para DF através da investigação dos efeitos dos antagonistas do receptor do tipo 1 de angiotensina II (losartana e eprosartana) na polimerização da HbS. Materiais e métodos: Foi realizada uma análise da polimerização da HbS tratada com losartana e com eprosartana, nas concentrações finais de 5 nM, 10 nM, 15 nM e 50 nM, para avaliar a formação de polímeros através da turbidez ao decorrer do tempo. Também foi realizado um estudo com modelo *in silico* do docking desses fármacos a molécula de HbS. Resultados e discussão: *In vitro*, a eprosartana retarda o início da polimerização em todas as concentrações testadas (5 nM, 10 nM, 15 nM e 50 nM), já a losartana atrasa o início da polimerização de modo significativo nas concentrações equimolares a HbS (10 nM e 15 nM). A análise *in silico* demonstrou que a interação de cada antagonista do receptor de angiotensina II com a molécula de HbS é diferente devido sua estrutura química distinta, entretanto ambos se ligam em orientações semelhantes e

realizam interações com resíduos críticos que sugerem atuar no bloqueio proteína-proteína, impedindo uma interação hidrofóbica entre as moléculas de HbS. Conclusão: Esse estudo demonstrou que estes antagonistas de receptor de angiotensina II são bons fármacos a serem investigados como futuros agentes anti-falciforme. É importante salientar que a anemia falciforme é uma doença complexa e a polimerização desempenha um papel chave no prognóstico, sendo sua redução capaz de melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes e diminuir as complicações.

Palavras-chave: Anemia Falciforme, HbS, losartana, eprosartana

Lista de figura

Figura 1: Representação da estrutura da hemoglobina saudável e hemoglobina S	13
Figura 2: Representação esquemática das alterações da HbS	14
Figura 3: Representação esquemática das principais diferenças estruturais entre as conformações de HbS oxigenada e desoxigenada	15
Figura 4: Ilustração das desordens provocadas pela DF	16
Figura 5: Custo dos principais medicamentos utilizados na DF	20
Figura 6: Conexão entre cinética e fisiopatologia da doença falciforme	22
Figura 7: – Modelo computacional - ligação da molécula de losartana a proteína HbS	23
Figura 8: Os Antagonistas do receptor do tipo 1 de angiotensina II ATr1.....	26
Figura 9: Ilustração do experimento de polimerização de HbS	30
Figura 10: Polimerização da HbS 5 nM	31
Figura 11: Polimerização da HbS 10 nM.....	32
Figura 12: Polimerização da HbS 15 nM.....	33
Figura 13: Polimerização da HbS 50 nM.....	34
Figura 14:Modelo in sílico ligação da molécula de losartana com receptor HBS	36
Figura 15: Modelo in sílico ligação da molécula de eprosartana com receptor HBS.....	36

Lista de abreviações e siglas

ANG II	Angiotensina II
ANVISA	Agência Nacional da Vigilância Sanitária
ATr1	Antagonistas dos receptores do tipo I
AVC	Acidente vascular cerebral
DF	Doença Falciforme
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FDA	Food and Drug Administration
HU	Hidroxiureia/ Hidroxicarbamida
HbA	Hemoglobina normal
HbAS	Traço falciforme
HbF	Hemoglobina fetal
HbS	Hemoglobina S
HbSS	Homozigoto para a hemoglobina S, anemia falciforme
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IHME	Institute for Health Metrics and Evaluation
LTDA	Limitada
MS/GM	Ministério da Saúde Gabinete do Ministro
OMS	Organização Mundial de Saúde
PAPDF	Programa de Atenção às Pessoas com Doença Falciforme
PBS	Solução tampão fosfato-salina
PCDT	Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticos
PNH	Política Nacional da Habitação
PNTN	Programa De Triagem Nacional Neonatal
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
SCA	Ataxia espinocerebelar
SUS	Sistema Único de Saúde
TCTH	Transplante de células tronco hematopoiética
USA	United States of America

Sumário

1	Introdução.....	12
1.1	Revisão da Literatura.....	13
1.2	Epidemiologia	17
1.3	Tratamentos para doença falciforme:	18
1.4	A polimerização da HbS como alvo no desenvolvimento de novas terapias para DF.....	21
1.5	Os Antagonistas do receptor do tipo 1 de angiotensina II (ATr1) de Ang II).....	25
2	Justificativa.....	27
3	Objetivos.....	28
3.1	Objetivo geral.....	28
3.2	Objetivos específicos.....	28
4	Metodologia.....	29
4.1	Material.....	29
4.2	Experimento de polimerização	29
4.3	Análise estatística.....	30
5	Resultados e discussões	31
6	Conclusão.....	38
7	Referências bibliográficas.....	39

1. Introdução

As hemoglobinas são proteínas presentes nas células vermelhas do sangue, também conhecidas como hemácias ou eritrócitos (SONATI; COSTA, 2008). Em alguns casos como na anemia falciforme, pode acontecer a formação de hemoglobinas modificadas devido a alterações genéticas. (SYSOL; MACHADO, 2016).

Atualmente, entende-se anemia falciforme como:

[. . .] “Uma doença hereditária (passa dos pais para os filhos) caracterizada pela alteração dos glóbulos vermelhos do sangue (eritrocitos), tornando-os parecidos com uma foice, daí o nome falciforme. Essas células têm sua membrana alterada e rompem-se mais facilmente, causando anemia e outras desordens” (Ministério da Saúde, 2007).

No Brasil, a doença falciforme (DF) foi incluída nas ações da Política Nacional de Atenção Integral à Saúde da População Negra, como parte da Política Nacional de Humanização (PNH). Tem como financiamento o Regulamento do Sistema Único de Saúde (SUS), disposto na Portaria MS/GM nº 2.048, artigos 187 e 188, de 3 de setembro de 2009, que definem as diretrizes da Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com DF.

A busca por novos fármacos que sejam relativamente baratos e que possam ser distribuídos pelo SUS para o tratamento da DF é de extrema importância para comunidade acometida pela doença (SANTOS; CHIN, 2012). E esse estudo veio contribuir e fornecer as primeiras evidências a respeito do uso da molécula de losartana e eprosartana para DF como agente anti-polimerizante.

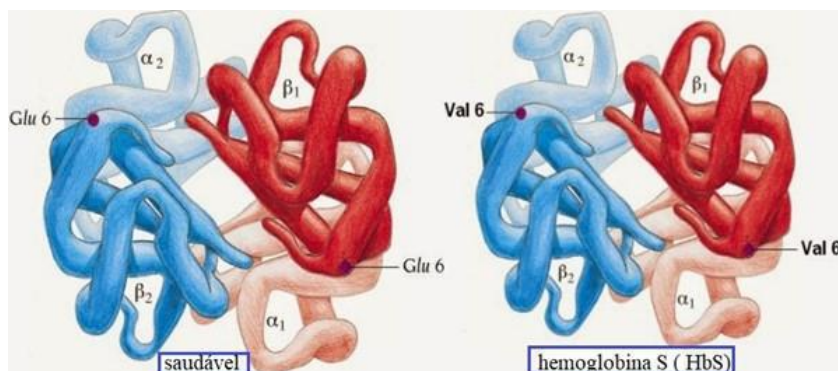
1.1 Revisão da Literatura

Em 1910 foi relatado por Herrick e Irons o primeiro caso de DF, onde após observações clínicas astutas registaram por fotomicrografia a hemácia com forma de foice esguia e estabeleceu a anemia falciforme como a primeira doença molecular descrita (HERRICK E IRONS, 1910).

O que despertou o interesse da comunidade acadêmica, e desencadeou uma sequência de investigações a fim de compreender esse modelo atípico. Em 1933, Diggs distinguiu a diferença de casos sintomáticos, conhecidos como anemia falciforme, indivíduo homozigoto que herdou gene defeituoso de ambos os genitores (DIGGS; AHMANN; BIBB, 1933). De casos assintomáticos, conhecido como traço falciforme, indivíduo heterozigoto o gene defeituoso é herdado apenas de um dos genitores. Revelando que aproximadamente 8% dos americanos de ascendência africana tinham o traço falciforme (TL SAVITT; MF GOLDBERG, 1989).

No final da década de 1950, Hunt e Ingram sequenciaram o peptídeo de globina e vincularam a anormalidade a uma alteração na composição de aminoácidos da cadeia β -globina, uma substituição do ácido glutâmico por valina no resíduo 6 (figura 1) (VM INGRAM; AOW STRETTON, 1959).

Figura 1: Representação da estrutura da hemoglobina saudável e hemoglobina S

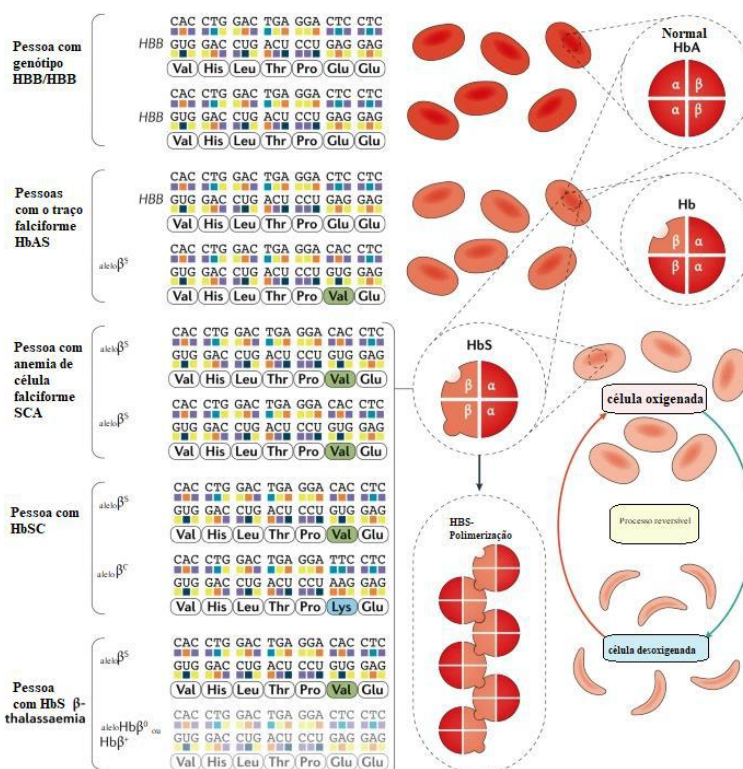


Fonte: 1 Adaptado de Hemoce. Disponível em www.hemoce.ce.gov.br

Em 1977, Marota e colaboradores mostrou que HbS surge da mutação correspondente no códon 6 do gene da β -globina a partir de uma substituição da adenina por timina, GAG→GTG, resultando na codificação da valina em vez do ácido glutâmico, alterando as propriedades físicas e funcionais do eritrócito, o que levaria a complicações e as manifestações clínicas da doença (INGRAM, 2004; MAROTTA et al., 1977; AOW STRETTON, 1959).

As desordens de HbS, SCA, HbSC e HbS beta talassemia estão associadas a mutação no resíduo β Val6 de uma hemoglobina que interage com o grupo heme β Phe85 e β Leu88. Em baixas concentrações de oxigênio ou, em condições de desoxigenação, ocorre uma interação hidrofóbica entre as moléculas de hemoglobina. O resíduo β Val6 de uma hemoglobina interage com o grupo heme β Phe85 e β Leu88 da HbS adjacente, desencadeando a agregação dessas em polímeros devido ao contato intermolecular (figura 2) (OLUBIYI et al., 2018)

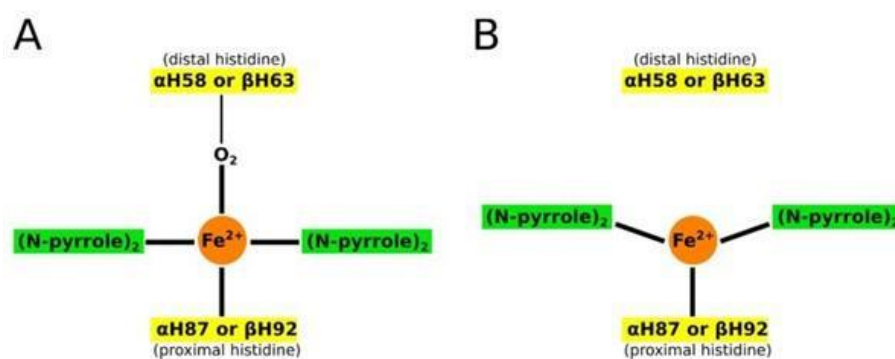
Figura 2: Representação esquemática das alterações da HbS



Fonte: Adaptado de Olubiyi OO, Olagunju MO, Oni JO, Olubiyi AO. Base Estrutural dos Efeitos Anti-falciformes de Medicamentos Aprovados pela FDA Selecionados: Um Estudo de Reaproveitamento de Medicamentos. 2018

A baixa afinidade da HbS pelo oxigênio beneficia cineticamente a conformação tensa, estado T (aumento da fração HbS desoxigenada). Que rapidamente se polimeriza formando os eritrócitos falciformes e promovem a polimerização das moléculas de HbS (figura 3) (OLUBIYI et al., 2018). A polimerização da HbS está subjacente a todas as sequelas deletérias sofridas pelos pacientes falciformes, além de suas complicações múltiplas, marcadas pela rigidez eritrocitária e a vasoclusão (REES; WILLIAMS; GLADWIN, 2010).

Figura 3: Representação esquemática das principais diferenças estruturais entre as conformações de HbS oxigenada e desoxigenada



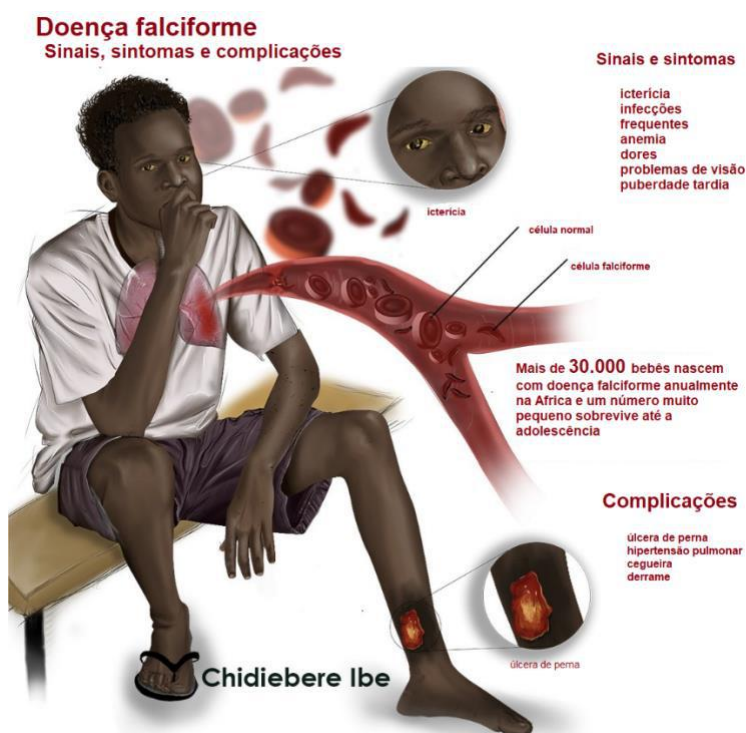
Fonte: Adaptado de Olubiyi OO, Olagunju MO, Oni JO, Olubiyi AO. Base Estrutural dos Efeitos Anti-falciformes de Medicamentos Aprovados pela FDA Selecionados: Um Estudo de Reaproveitamento de Medicamentos. 2018

Os principais sinais e sintomas da DF variam de pessoa para pessoa. E podem mudar com o tempo, sendo eles a icterícia, cor amarelada na pele ou no branco dos olhos devido à hemólise dos glóbulos vermelhos (ALECIA C. NERO et al., 2012), fadiga (SU- ZANNE AMERINGER; WALLY R. SMITH, 2011), dactilite e o inchaço doloroso das mãos e pés (figura 4) (JADAVJI; PROBER, 1985).

As complicações são inúmeras como: crise de dor aguda ou vaso-oclusiva: descrita como dor intensa, lancinante que atinge qualquer parte do corpo em um ou múltiplos locais em simultâneo que pode ser exacerbada por desidratação, estresse, grandes altitudes ou mudança de temperatura (LOBO; MARRA; SILVA, 2007).

A síndrome torácica aguda, infecções, problemas renais, anemia grave, problemas no fígado, lesão cerebral ou acidente vascular cerebral, sequestro esplênico, crises aplásticas, falência dos órgãos, albuminúria, retinopatia e cardiomegalia também são comuns entre essas pessoas com DF (BORHADE; KONDAMUDI, 2021; AEDDULA; BARDHAN; BARADHI, 2022; JULIA XHE ZU, 2022; SANTI et al., 2009; SUDDLE, 2019; KIRKHAM; LAGUNJU, 2021; NISS et al., 2020)

Figura 4: Ilustração das desordens provocadas pela DF



Fonte: Adaptada de National MS Society. Momentummagazin. Making medical illustrations for all. Disponível em; <https://momentummagazineonline.com/making-medical-illustrations-for-all/>

Todas as complicações clínicas surgem devido ao afoiçamento dos eritrócitos, pois esses são mais adesivos ao endotélio do que os eritrócitos não falciformes (GALIZA NETO; PITOMBEIRA, 2003)). A maioria dos neonatos apenas apresenta sintomas da doença a partir dos cinco, seis meses (ATAIDE; RICAS, 2016). Sendo a triagem pré e neonatal fundamental para o manejo, visto que a DF é crônica e progressiva sem o tratamento adequado (RODRIGUES et al., 2010) . Apesar das inúmeras comorbidades que acompanham a DF, as opções de tratamento ainda são limitadas. A maioria das terapias são de suporte, alterando pouco a fisiopatologia, sendo a base dos tratamentos as manifestações clínicas (FERRAZ; MURAO, 2007).

1.2 Epidemiologia

A DF ocupa o nível 4 na hierarquia de causas globais de morte segundo o estudo Global Burden of Disease (IHME, 2019). Dados disponíveis pelo Institute for Health Metrics and Evaluation (IHME) apontam a ocorrência de um total de 605.000 pessoas nascidas com DF em 2019 e um total de 5,69 milhões vivendo com DF. A síndrome falcêmica foi responsável por 41.900 mortes em todas as idades, com a prevalência alta em todas as 484 fontes consultadas pelo IHME, até 2020. (DE FRANCESCHI; CORROCHER, 2004; IHME, 2020).

No Brasil, assim como no resto do mundo, a DF é um dos distúrbios genéticos com grande importância epidemiológica. Indicadores recentes evidenciam um aumento relativo no número de casos notificados de DF (DIAS, 2016).

Conforme o PNTN (Programa Nacional de Triagem Neonatal) do Ministério da Saúde, nascem cerca de 3.500 crianças por ano com DF e 200.000 com traço falciforme no Brasil. Estimativas da Organização Mundial da Saúde apontam a existência de mais de 30.000 indivíduos com DF em todo o país e aproximadamente 70% morrem antes de completar 25 anos, 25% antes dos 5 anos (BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021; ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 2021).

Apesar dos avanços nos estudos estatísticos, existe uma escassez de dados epidemiológicos para refletir a quantidade exata de indivíduos com DF no Brasil, e principalmente em países subdesenvolvidos e que apresentam alta prevalência. Entretanto, a alta letalidade e gravidade da doença medem a seriedade e importância de novas intervenções (FELIX; SOUZA; RIBEIRO, 2010; POMPEO et al., 2022; SEDRAK; KONDAMUDI, 2021)

1.3 Tratamentos para doença falciforme

Atualmente, existem algumas terapias que mudam o curso da DF como, o transplante de células-tronco hematopoiéticas, transfusão de eritrócitos e a hidroxiureia (hidroxicarbamida) (LYNNE D. NEUMAYR; CAROLYN C. HOPPE; CLARK BROWN, 2019).

Pieroni e colaboradores em 2007 reforçaram que o transplante halogênico de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) é atualmente o único tratamento curativo da DF grave. Entretanto existem vieses e limitações que impedem sua aplicabilidade para prevenir complicações na DF sendo apenas recomendadas onde os marcadores de gravidade da doença (síndrome torácica aguda recorrente, nefropatia falciforme, vasculopatia cerebral; doença vaso-oclusiva grave) não estão presentes e quando apresentam poucos benefícios na terapia de suporte (PIERONI et al., 2007).

Além do transplante, a transfusão de eritrócitos é indicada para prevenir os acidentes vasculares cerebrais. Pois reduz o risco de vaso oclusão e diminui a concentração das células falciformes circulantes o que permite um melhor transporte de oxigênio e perfusão de todo o sistema vascular. Contudo, com a necessidade de várias transfusões a pessoa com DF fica mais propensa a desenvolver aloimunização o que faz dessa prática complicada (ESTCOURT et al., 2020;).

Desde a década de 1980, a hidroxiureia (HU) também conhecida como hidroxicarbamida é um dos principais fármacos utilizados para tratar pacientes com DF (BRANDOW; PANEPINTO, 2010). Em 1998 a Food and Drug Administration (FDA) aprovou o tratamento em adultos. E mais recentemente, em 2017 foi aprovada pela mesma instituição seu uso para crianças e por anos a HU foi o único medicamento licenciado para DF.

No Brasil, a partir da portaria n.º 55 de janeiro de 2010 do ministério da saúde a HU foi incluída no protocolo clínico e diretrizes de tratamento da DF. A HU, é um fármaco inibidor reversível da enzima ribonucleosídeo difosfato redutase capaz de catalisar uma etapa essencial da biossíntese do DNA. É um antimetabólito específico da fase S. Também conhecida pela capacidade de induzir γ -globina a síntese de hemoglobina fetal (HbF, $\alpha_2\gamma_2$), em células eritroides humanas; YASARA; PREMAWARDHENA; METTANANDA, 2021).

Em suma, a HU, tem demonstrado excelente eficácia clínica, melhorando as complicações e prolongando a sobrevida dos pacientes. Porém, apesar de ser parte do grupo 1 do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica (CEAF) no SUS e seu financiamento ser de responsabilidade exclusiva da União essa apresenta um alto custo financeiro e alguns efeitos adversos. Como, perturbação gastrointestinal, possível carcinogênese, erupção cutânea, mielossupressão, potencial teratogênico e enxaqueca constante (FERRAZ et al., 2021; SILVA; SHIMAUTI, 2006).

Nos últimos anos, o panorama do tratamento da DF está cada vez melhor devido progressos e fortalecimentos do manejo clínico durante o tratamento e prevenção das complicações.

Em 2017 a FDA aprovou a suplementação de L-GLUTAMINA para diminuir as complicações agudas da DF. Pouco depois em 2019 a ANVISA aprovou sua adesão ao protocolo de tratamento. Sua atuação na melhora do estresse oxidativo fez seu uso favorável no tratamento de pacientes com DF, principalmente na redução das crises de dor. A glutamina está envolvida na troca de nitrogênio via transporte de amônia entre os tecidos. Entretanto, muitas lacunas ainda precisam ser preenchidas para totalizar a compreensão de suas implicações terapêuticas na DF (SADAF; QUINN, 2020; TEIXEIRA et al., 2022).

Em 2019 foi aprovado pelo FDA o uso de Crizanlizumabe para prevenir crises vaso-oclusivas em pacientes falciformes com 16 anos ou mais. O Crizanlizumabe é um anticorpo monoclonal seletivo de IgG2 que inibe as interações mediadas pela P-selectina, fator essencial na patologia das crises vaso-oclusivas. Os efeitos adversos como, dor, nas articulações, costas, febre, dor no estômago, garganta, náusea, vômito e uma única disponibilidade de forma farmacêutica, solução injetável, torna sua adesão custosa (DELGADO et al., 2021; RILEY; RILEY, 2019).

No Brasil foi aprovado em 2020 pela ANVISA o uso de Crizanlizumabe em conformidade as RDC nº 55/2010 e RDC nº 205/17. O Projeto de Lei 4208/21 inclui o medicamento Crizanlizumabe na relação de fármacos disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS) a ser utilizado no tratamento de pacientes com DF (BRASIL PORTAL DA CÂMARA DOS DEPUTADOS, 2021)

Outro fármaco recentemente aprovado pela FDA que demonstra bons resultados na anemia falciforme é o Voxelotor ou oxbryta (GBT440). Que atua como modulador alostérico covalente, estabilizando a hemoglobina em estado de não formação de polímeros, aumentando a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio e reduzindo assim a falcização das células vermelhas e conseqüentemente a polimerização (FANTASIA; MORSE, 2020 SILVA et al., 2021).

O GBT440 passou a ser parte da terapia de primeira classe sendo o segundo medicamento indicado para tratar anemia falciforme devido sua propriedade de reduzir a polimerização e modular a afinidade da hemoglobina por oxigênio. É um fármaco bem tolerado entre portadores de DF apresentando poucos efeitos adversos como náusea, diarreia dor de cabeça, vômito, dor abdominal, febre e erupção cutânea (HUTCHALEELAHA et al., 2019HERITY et al., 2021).

No Brasil, ainda não há aprovação para comercialização do GBT440 pela ANVISA. Entretanto, seu acesso só é possível através do programa de acesso expandido sob a solicitação médica (MARIANA BRAZ; FABIO OLIVEIRA; ANDREA FARIAS, 2022).

Em geral, a partir do diagnóstico obtido através da avaliação clínica e eletroforese de hemoglobina em pH alcalino em acetato de celulose, padrão ouro para diagnóstico de DF, é iniciada a terapia da DF e essa é cara e complicada, muitas vezes pelo alto custo dos medicamentos (figura 5) (FERREIRA; GOUVÊA, 2018).

Somado a isso e as complicações adjacentes da DF, fazem necessário o acompanhamento estreito durante toda vida do paciente melhorando o manejo a longo prazo, porém alcançando apenas uma cura parcial; NIRMISH SHAH et al., 2020; SILVA-PINTO et al., 2022).

Figura 5: Custo dos principais medicamentos utilizados na DF

Medicamento	Custo mensal
Hidroxiureia (HU)	R\$ 900,00
L-GLUTAMINA	R\$ 9.675,30
Oxbryta (voxelotor/GBT440)	R\$ 59.924,61
ADAKVEO (CRIZANLIZUMAB)	R\$ 69.045,04

Fonte: THESOCIALMEDWORK. Disponível em: everyone.org

1.4 A polimerização da HbS como alvo no desenvolvimento de novas terapias para DF

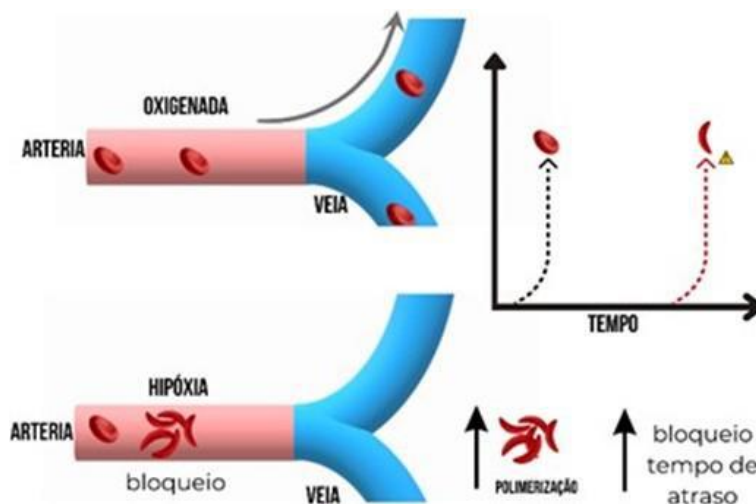
A compreensão da fisiopatologia da doença permite a identificação de diversos alvos para elaboração de novas farmacoterapias (MANFREDINI et al., 2013). Logo, a redução da polimerização mostrou-se peça-chave no tratamento da DF visto que a complexidade da cinética de agregação apresentou-se como uma condicionante nos agravos e sobrevida dos pacientes (METCALF et al., 2017)

. Atualmente, entende-se que o aumento da polimerização de HbS leva ao aumento da agregação devido à rigidez eritrocitária, o que aumenta a probabilidade de lesão, contribui para adesão das células sanguíneas ao endotélio vascular, a vasooclusão e a imprevisibilidade das crises. Ou seja, a polimerização é inversamente proporcional ao tempo de trânsito dos eritrócitos nos vasos sanguíneos, o que impede que a maioria dos eritrócitos assume a forma de foice, devido ao desequilíbrio da polimerização (FERRONE, 2015)

Em 2017, Eaton e Bunn, demonstram ser possível obter melhores resultados clínicos com a inibição de uma pequena parte da polimerização de HbS. Entendendo que, condições de hipoxia a hemoglobina assume a forma de foice levando a agregação e bloqueio no trânsito do fluxo sanguíneo o que leva ao aumento no tempo de retardo impulsionando ainda mais a aumento da concentração de HbS polimerizada e conseqüentemente as complicações como vaso oclusão (EATON; BUNN, 2017).

Em 2018 Olubiyi e colaboradores indicam que uma pequena interrupção na polimerização de HbS durante o período de latência é suficiente para interromper a agregação. Principalmente quando considerada a concentração e condições que os eritrocitos sofrem falcização. Essa interrupção permite que o eritrócito contendo HbS passe livremente através dos pontos críticos onde o sangue encontra-se pobre de oxigênio impedindo o desenvolvimento das complicações fisiopatológicas ocasionadas pela polimerização da HbS (figura 6) (FERRONE, 2015, EATON; BUNN, 2017; OLUBIYI et al., 2018).

Figura 6: Conexão entre cinética e fisiopatologia da doença falciforme

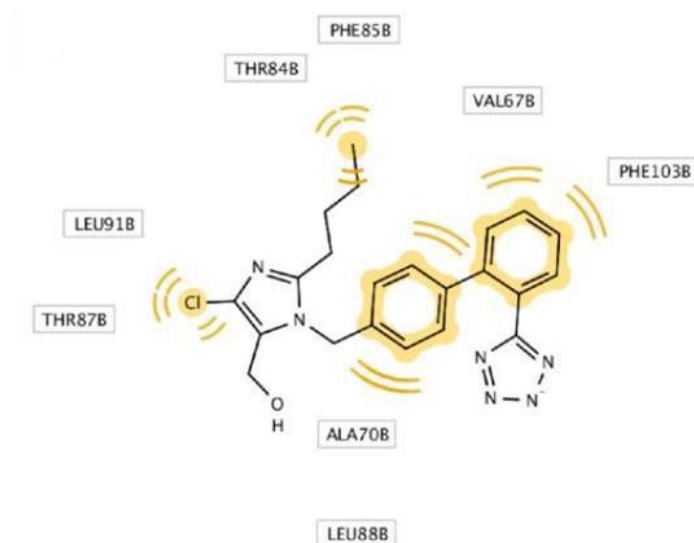


Fonte: Adaptada de William A. Eaton, H. Franklin Bunn, 2017

Olubiyi e colaboradores também indicam a inibição da polimerização correspondentes a razão molar em relação concentrações de fármaco/HbS estando 1:1 ocorre o alcance de 70% de inibição de polimerização de HbS e a inibição quase perfeita nas razões de 10:1. O que conversa com a ideia qualitativa de que os peptídeos candidatos a fármacos podem interromper a polimerização ao ligar a superfície da proteína HbS e interagir com molécula e competir pela ligação (OLUBIYI et al., 2018; OLUBIYI; OLAGUNJU; STRODEL, 2019).

Sendo assim, em 2019, Olubiyi e colaboradores demonstraram *in silico* a presença de compostos que possuem em sua estrutura química tamanho e eletronegatividade capazes de interromper competitivamente a ligação Valina 6 ao bolso hidrofóbico, formado principalmente pelos resíduos β Phe85/ β Leu88, e assim descontinuar a polimerização da HbS. Através de uma triagem virtual utilizando AutoDockVina score, eles apresentaram modelos de interação entre possíveis moléculas com atividade intrínseca capazes de modular e apresentar atividades anti-falciformes. Dentre essas moléculas encontra-se a losartana, uma molécula antagonista de receptores de angiotensina II (OLUBIYI; OLAGUNJU; STRODEL, 2019; SARAIVA et al., 2011).

Figura 7: – Modelo computacional - ligação da molécula de losartana a proteína HbS



Fonte: Adaptada de Olubiyi, OO, Olagunju, MO, & Strodel, B. (2019). Projeto Racional de Medicamentos de Terapias Baseadas em Peptídeos para Doença Falciforme. (Basileia, Suíça),2019 <https://doi.org/10.3390/molecules24244551>.

Em setembro de 2022, Guimarães-Nobre e colaboradores, divulgaram um estudo que aponta a importância do receptor de angiotensina na manutenção da função morfológica dos eritrócitos na DF. Através da publicação do primeiro trabalho que comprova que Angiotensina II (ANG II) inibe a polimerização da HbS *in vitro* via receptor do tipo 1 de ANG II. E afirmam o papel do receptor como responsável por proteger os eritrócitos do paciente falcêmico tanto da polimerização quanto da translocação da fosfatidilserina, marcador da eritose. O que por consequência melhora a deformabilidade e agregação das hemácias falciforme. Seus estudos foram o primeiro passo para elucidação de vias de sinalização, marcadores e desenvolvimento de novas alternativas de tratamento atuante nessa área. (GUIMARÃES- NOBRE et al., 2022).

O artigo de Olubiyi e colaboradores 2019, somado ao publicado por Guimarães-Nobre e colaboradores 2022, levantou a hipótese sobre qual seria o efeito da Losartana na polimerização da HBS. E se o mesmo efeito seria observado por um análogo da mesma classe e qual seria a amplitude do seu desempenho quando em espectro com fármaco de referência da redução da polimerização (GUIMARÃES-NOBRE et al., 2022; OLUBIYI; OLAGUNJU; STRODEL, 2019).

Em setembro de 2022, Guimarães-Nobre e colaboradores, divulgaram um estudo que aponta a importância do receptor de angiotensina na manutenção da função morfológica dos eritrócitos na DF. Através da publicação do primeiro trabalho que comprova que Angiotensina II (ANG II) inibe a polimerização da HbS *in vitro* via receptor do tipo 1 de ANG II. E afirmam o papel do receptor como responsável por proteger os eritrócitos do paciente falcêmico tanto da polimerização quanto da translocação da fosfatidilserina, marcador da eritose. O que por consequência melhora a deformabilidade e agregação das hemácias falciforme. Seus estudos foram o primeiro passo para elucidação de vias de sinalização, marcadores e desenvolvimento de novas alternativas de tratamento atuante nessa área. GUIMARÃES- NOBRE et al., 2022).

O artigo de Olubiyi e colaboradores 2019, somado ao publicado por Guimarães-Nobre e colaboradores 2022, levantou a hipótese sobre qual seria o efeito da Losartana na polimerização da HBS. E se o mesmo efeito seria observado por um análogo da mesma classe e qual seria a amplitude do seu desempenho quando em espectro com fármaco de referência da redução da polimerização (GUIMARÃES-NOBRE et al., 2022; OLUBIYI; OLAGUNJU; STRODEL, 2019).

Levando em consideração esses aspectos, mais estudos que abordam a redução da polimerização dos eritrócitos falcêmico por via receptor de tipo 1 de angiotensina II são necessários para avanço das pesquisas e desenvolvimento de alternativas de novas terapias para tratamento da DF.

1.5 Os Antagonistas do receptor do tipo 1 de angiotensina II (ATr1 de Ang II)

A losartana é um antagonista não peptídico dos receptores do tipo 1 de ANG II, sendo um fármaco sintético seletivo, potente e ativo por via oral, tanto *in vitro* quanto. A losartana, e seu metabolito, o ácido carboxílico 1-E3174, realizam o bloqueio das ações fisiológicas relevantes da ANG II (MULLA; SIDDIQUI, 2022).

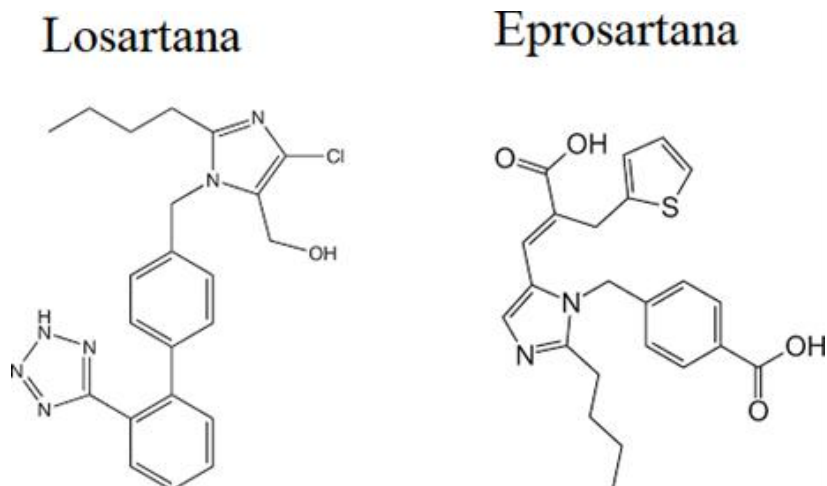
Atualmente, sua principal indicação é para reduzir os riscos de acidentes vascular cerebral e tratamento de hipertensão ou nefropatia diabética. Além disso, é um fármaco de uso contínuo bem tolerado pela maioria das pessoas, por possuir um mecanismo de ação seletivo e direto, causando poucos efeitos adversos, os mais comuns: fadigas, tontura e cansaço, e, raramente, dor de cabeça, desmaio, diarreia, hipersensibilidade, falta de ar ou inchaço na pele (GOODMAN AND GILMAN'S, 2017,).

A losartana (figura 8), é um fármaco considerado barato sendo seu custo mensal privado de trinta e dois reais. É acessível por integrar a RENAME 2022 (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais) com distribuição gratuita no Brasil. Ademais, em 2017 Charles T. Quinn e colaboradores mediante estudo de fase 2 descreveram os efeitos da losartana na nefropatia da anemia falciforme, ilustrando queda na excreção urinária de albumina, melhora na função endotelial, redução do estresse oxidativo intracelular e indicadores de seus efeitos positivos no manejo da complicação da DF (QUINN et al., 2017).

Um análogo pertencente a mesma classe de medicamentos da losartana é a eprosartana (figura 8). Com custo mensal de cento e quarenta reais. Que assim como a losartana é um fármaco altamente seletivo, indicado para o tratamento de hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva e nefropatia diabética. Apresenta características diferentes dos demais análogos por ser um agonista inverso não bifenil-tetrazol, demonstrando-se robusto no estado ativo, sendo em muitos casos indicado como melhor opção terapêutica quando comparado com outros ATr1 de ANG II (ALANAZI et al., 2018).

Além disso, o fato de ser rara a presença de efeitos colaterais como dor de cabeça, edema, tontura, tosse, distúrbios gastrointestinais e fadiga, facilita a adesão dos pacientes ao tratamento (LIVERTOX, 2017; TAKEZAKO et al., 2018).

Figura 8: Os Antagonistas do receptor do tipo 1 de angiotensina II



Fonte: Adaptado de Wikimedia Commons. Disponível em: <https://commons.wikimedia.org/wiki/>

Com a glomerulopatia complicação comum em pacientes com DF devido os repetidos processos de falcização (JUNCOS et al., 2010). Os ATr1 de Ang II, foram incluídos ao protocolo de tratamento da DF (HEMORIO, 2014). É conhecido que uma parcela de pacientes com albuminúria, manifestação clínica da glomerulopatia, progrediam para doença renal terminal, mas esse cenário vem se alterando (ELMARIAH et al., 2014).

Em 2017 foi publicado por Quin Charles T e colaboradores um estudo multicêntrico de fase 2 que apresenta a redução na excreção urinária de albumina em pacientes com glomerulopatia da DF em terapia com losartana O que somado a outros estudos que forneceram evidências de suporte à pesquisa do uso de losartana na DF está sendo realizado um estudo de fase 3 por esses mesmos autores para avaliar a eficácia dessa terapia (QUINN et al., 2017).

Sendo assim, mediante as evidências supracitadas e visto que losartana está sendo estudada como uma potencial terapia modificadora da DF a longo prazo. Esse trabalho visa somar junto as pesquisas de novas terapias para tratamento DF utilizando a estratégia de redirecionamento de fármaco ao analisar os efeitos dos ATr1 de ANG II na polimerização da HbS purificada.

2 Justificativa

No Brasil, devido sua alta taxa de mortalidade e prevalência, a DF é tratada como uma questão de saúde pública. Entretanto, a possibilidade de manejo dessa doença ainda se encontra limitada devido ao alto custo e escassez das estratégias clínicas. Esse fato atrelado ao número crescente de complicações aumenta a preocupação com a baixa acessibilidade e disponibilidade das terapias, principalmente para aqueles em situações de vulnerabilidade.

A busca por melhoras no Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) da DF segue constante, o que leva ao desenvolvimento de novos fármacos, porém, esse é um processo demorado e muito custoso. Uma alternativa para agilizar o processo de aprovação de novas terapias é a utilização de medicamentos já existentes para novas aplicações que ainda não foram relacionadas, o reposicionamento de fármacos. A DF exige a busca por novos medicamentos que possuam baixo custo, acessíveis e que possam ser administrados principalmente por via oral.

A inibição da polimerização da hemoglobina demonstrou-se ponto-chave no desdobramento da enfermidade, diminuindo complicações e melhorando a qualidade de vida dos indivíduos doentes. A investigação de compostos potencialmente capazes de atuar nessa desordem podem mudar o curso e panorama da doença no Brasil e no mundo. (OLUBIYI; OLAGUNJU; STRODEL, 2019).

No início de 2022 Guimarães-Nobre e colaboradores demonstraram que ativação dos receptores do tipo 1 de angiotensina II, reduzem a polimerização de eritrócitos falciformes e melhora a deformabilidade dos eritrocitos (GUIMARÃES-NOBRE et al., 2022)

Ao apresentarem a influência da angiotensina nos eritrocitos falciformes levantou o questionamento sobre qual o efeito dos antagonistas nesses eritrocitos modificados. Deste modo esse trabalho tem como proposta analisar os efeitos dos ATr1 de ANG II, losartana e eprosartan na polimerização direta de HbS e comparar com GBT440.

Esse trabalho acrescenta ao debate científico a avaliação de novos compostos a serem mais bem trabalhados na estratégia de reposicionamento de fármaco para DF.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Contribuir na pesquisa de novas terapias para DF através da investigação dos efeitos dos ATr1 de ANG II na polimerização de hemoglobinas (HbS) *in vitro* e *in sílico*.

3.2 Objetivos específicos

I - Analisar o efeito da losartana, eprosartana e GBT440 na polimerização da HbS *in vitro*

II - Comparar o efeito da losartana na polimerização de HbS, com o efeito do seu análogo, eprosartana, na polimerização de HbS

III - Comparar tanto o efeito da losartana, quanto do eprosartana na polimerização de HbS, com o efeito do fármaco GBT440 referência na redução de polimerização de HbS.

IV - Analisar as diferenças estruturais da losartana e eprosartana e suas interações com receptor do tipo 1 de angiotensina II por experimento *in sílico* e corroborar os resultados *in vitro*.

4 Metodologia

4.1 Material

Para realização dos experimentos foram necessários os seguintes reagentes água Mili-Q, dimetilsulfóxido (DMSO) (CH) SO - Fabricante: Isofar Indústria e comércio de Produtos químicos LTDA; Eprosartana - Fabricante: Sigma Aldrich Brasil Ltda; HbS purificada - Fabricante: Sigma Aldrich Brasil Ltda; Losartana - Fabricante: Sigma Aldrich Brasil Ltda; Metabissulfito de sódio Na₂S₂O₅-- Fabricante: Isofar Indústria e comércio de Produtos químicos LTDA; Tampão fosfato salino (PBS) - Fabricante: Nova Biotecnologia LTDA e Voxelotor (GBT440) - Fabricante: MedChem Express, USA. E os seguintes equipamentos eppendorf; pipeta monocal; pipeta multicanal; microplaca de 96 poços para Elisa; tubo Falcon agitador vórtex; balança analítica e leitor de microplacas Tecan Genius.

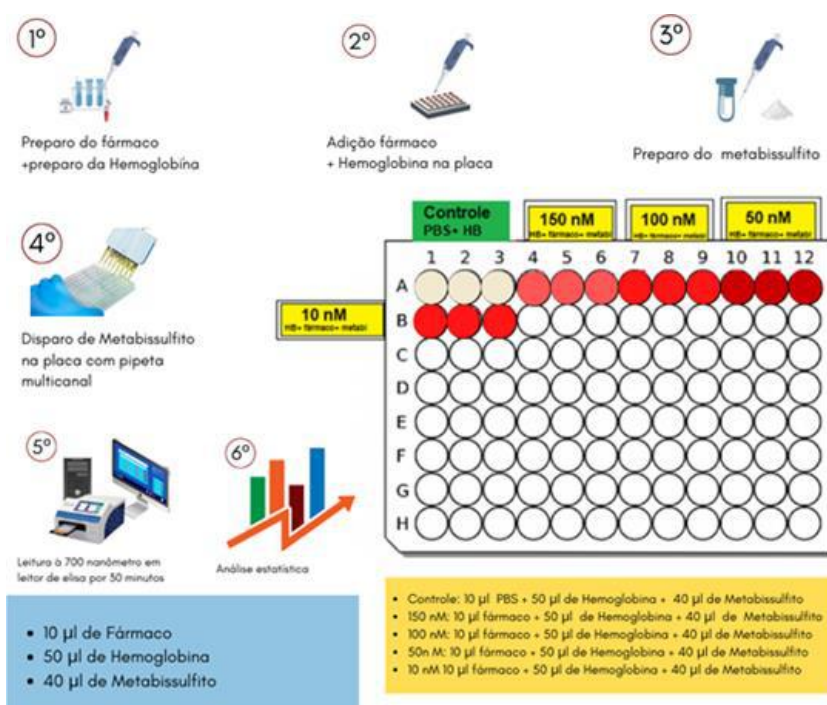
4.2 Experimento de polimerização

O experimento permite quantificar o teor de polimerização da hemoglobina quando tratada com as substâncias de interesse, losartana e eprosartana, através da técnica de espectrofotometria e assim, analisar a densidade óptica (turbidez) x tempo nas concentrações finais de 5 nM, 10 nM, 15 nM e 50 nM.

O experimento de polimerização foi realizado tratando a HbS purificada na concentração de 2% com losartana, com seu análogo, eprosartana, a fim de avaliar se outros antagonistas de ANG II apresentavam resultados similares. E com GBT440 fármaco de referência na redução da polimerização dos eritrócitos. Também foi realizado o experimento com DMSO na concentração de 2% para avaliar possível interação desse solvente nos resultados.

Logo foi realizado o preparo de cada amostra e adição em microplaca conforme figura 9. O uso do metabissulfito de sódio (Na₂S₂O₅) na concentração de 5% foi realizado para desoxigenação química, induzindo a polimerização da HbS. A microplaca foi encaminhada para leitura com Tecan GENios. Em um comprimento de onda de 700 nanômetro por aproximadamente 30 minutos, seguida de análise estatística para desenvolvimento da curva de polimerização.

Figura 9: Ilustração do experimento de polimerização de HbS



Fonte: Próprio autor

4.3 Análise estatística

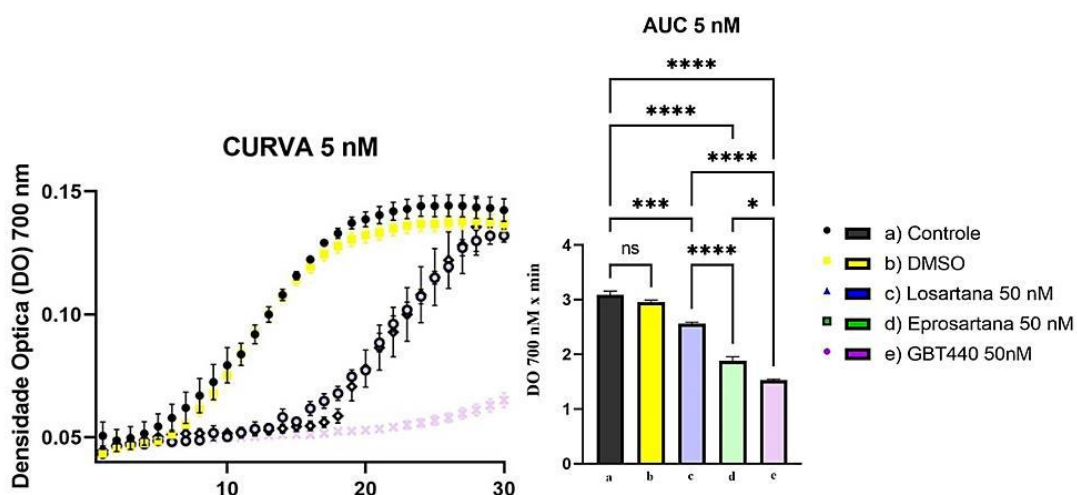
Após a leitura da placa os resultados foram utilizados para obter uma curva de polimerização para cada concentração. Para a realização da curva de polimerização foi feita uma curva não linear calculada pela equação de quarta ordem polinomial com intervalo de confiança de 95% utilizando GraphPad Prism 5. A área sobre a curva foi realizada One-way Anova, pós teste de Tukey. Com $MEAN \pm SEM$. * = $p < 0,05$, ** = $p < 0,01$, *** = $p < 0,001$ e **** = $p < 0,0001$ quando comparados ao controle, no intervalo de confiança de 95%

5 Resultados e discussões

Os resultados foram obtidos e analisados de acordo com densidade óptica (DO) 700 nm em relação ao tempo. Nas concentrações de fármaco 5 nM, 10 nM, 15 nM e 50 nM em um intervalo de tempo de aproximadamente um minuto durante 30 minutos.

Os resultados da polimerização da HbS na concentração de 5 nM (figura 10) exibe uma curva de polimerização do DMSO semelhante ao controle, marcando uma sigmoide com início da polimerização aos 5 minutos. Com AUC de 98,10% de polimerização da HbS purificada considerando o controle 100%. Tanto a losartana e a eprosartana exibem uma curva sigmoide com início da polimerização próximo dos 20 minutos. E o GBT440 exibe uma curva com crescimento exponencial próximo dos 25 minutos. Ao analisar a AUC desta concentração observamos 85,20% da polimerização da HbS purificada quando tratada com losartana, 62,47% quando tratada com eprosartana e 50,80% quando tratada com GBT440. O que nos mostra que quando comparado ao controle esses fármacos retardam o tempo de início e reduz significativamente a polimerização de HbS na concentração de 5 nM.

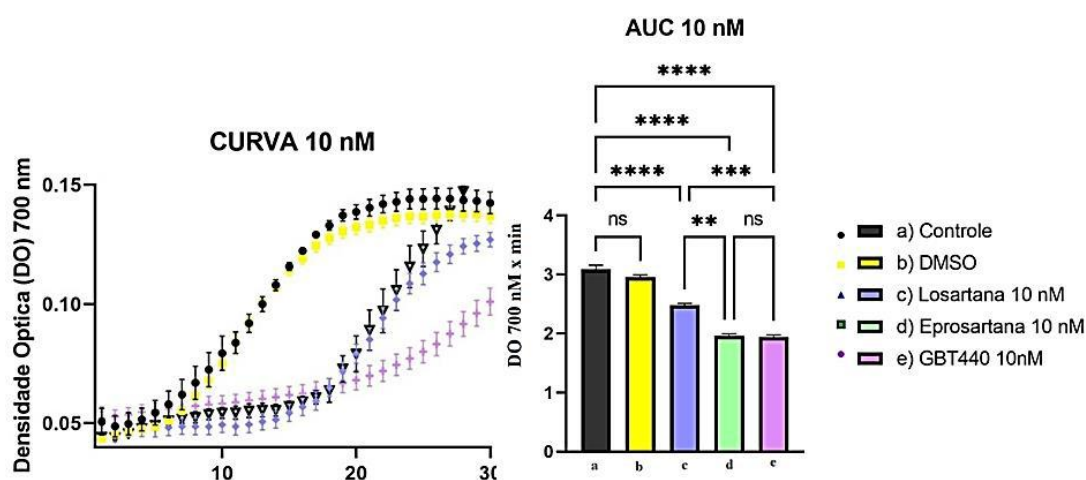
Figura 10: Polimerização da HbS 5 nM



Curva de polimerização de HbS 5 nM- Taxa de polimerização da HbS quando tratadas com losartana, eprosartana e GBT440. Leitura realizada por leitor de Elisa Tecan GENios por aproximadamente 30 min a 700nm de absorvância. N = 6. Resultados expressos em SEM \pm Err. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 e **** p < 0,0001 vs controle, com 95% de intervalo de confiança. One-way anova e pós teste de Tukey.

Os resultados da polimerização da HbS na concentração de 10 nM (figura 11) também exibe uma curva de polimerização do DMSO semelhante ao controle, marcando uma sigmoide com início da polimerização aos 5 minutos, com AUC de 98,10% de polimerização da HbS purificada considerando o controle 100%. Tanto a losartana e a eprosartana exibem uma curva sigmoide com início da polimerização próximo dos 20 minutos. E o GBT440 exibe uma curva com crescimento exponencial próximo dos 25 minutos. Ao analisar a AUC desta concentração observamos 82,41% da polimerização da HbS purificada quando tratada com losartana, 69,19% quando tratada com eprosartana e 59,37% quando tratada com GBT440. O que nos mostra que quando comparado ao controle esses fármacos retardam o tempo de início e reduz significativamente a polimerização de HbS também na concentração de 10 nM.

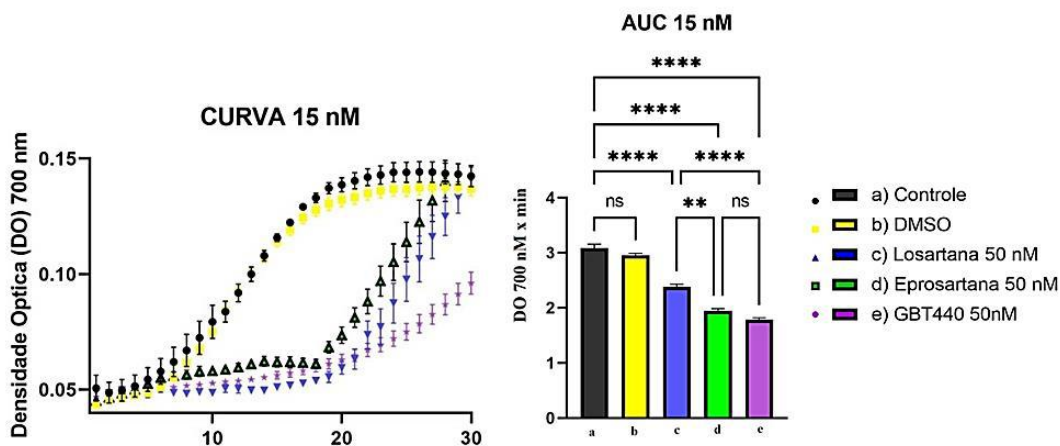
Figura 11: Polimerização da HbS 10 nM



Curva de polimerização de HbS 10 nM: Taxa de polimerização da HbS quando tratadas com losartana, eprosartana e GBT440. Leitura realizada por leitor de Elisa Tecan GENios por aproximadamente 30 min a 700nm de absorvância. N = 6. Resultados expressos em SEM \pm Err. * p <0.05, ** p <0.01, *** p <0.001 e **** p <0,0001 vs controle, com 95% de intervalo de confiança. One-way anova e pós teste de Tukey.

Os resultados da polimerização da HbS na concentração de 15 nM (figura 12) também exibe uma curva de polimerização do DMSO semelhante ao controle, marcando uma sigmoide com início da polimerização aos 5 minutos, com AUC de 98,10% de polimerização da HbS purificada considerando o controle 100%. Tanto a losartana e a eprosartana exibem uma curva sigmoide com início da polimerização próximo dos 20 minutos. E o GBT440 exibe uma curva com crescimento exponencial próximo dos 25 minutos. Ao analisar a AUC desta concentração observamos 79,19% da polimerização da HbS purificada quando tratada com losartana, 64,66% quando tratada com eprosartana e 59,37% quando tratada com GBT440. O que nos mostra que quando comparado ao controle esses fármacos retardam o tempo de início e reduz significativamente a polimerização de HbS também na concentração de 15 nM. Vale destacar que nessa concentração os fármacos e HbS purificada encontra-se na razão molar de 1:1 convergindo com os estudos apresentados por Oluybi e colaboradores.

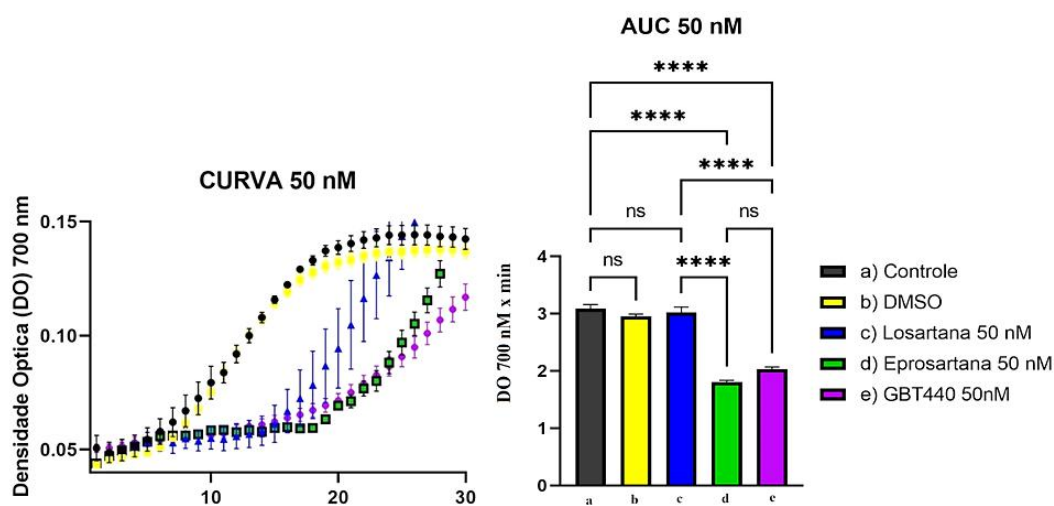
Figura 12: Polimerização da HbS 15 nM



Curva de polimerização de HbS 15 nM: Taxa de polimerização da HbS quando tratadas com losartana, eprosartana e GBT440. Leitura realizada por leitor de Elisa Tecan GENios por aproximadamente 30 min a 700nm de absorvância. N = 6. Resultados expressos em SEM \pm Err. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 e **** p < 0,0001 vs controle, com 95% de intervalo de confiança. One-way anova e pós teste de Tukey.

Os resultados da polimerização da HbS na concentração de 50 nM (figura 13) também exibe uma curva de polimerização do DMSO semelhante ao controle, marcando uma sigmoide com início da polimerização aos 5 minutos, com AUC de 98,10% de polimerização da HbS purificada considerando o controle 100%. A losartana exibe uma curva sigmoide com início da polimerização próximo dos 15 minutos, e a eprosartana próximo dos 20 minutos. O GBT440 exibe uma curva com crescimento exponencial próximo dos 25 minutos. E ao analisar a AUC desta concentração observamos 100% da polimerização da HbS purificada quando tratada com losartana o que sugerimos ser um resultado de um platô alcançado devido a razão molar de fármaco- proteína e evidencia o efeito exercidos pelo fármaco a sua possível atividade intrínseca desempenhada e não apenas ao bloqueio direto do receptor do tipo 1 de ANG II. Além disso, a AUC demonstra 60,10% de polimerização da HbS purificada quando tratada com eprosartana e 67,62% quando tratada com GBT440. O que nos mostra que quando comparado ao controle esses fármacos retardam o tempo de início e reduz significativamente a polimerização de HbS também na concentração de 50 nM.

Figura 13: Polimerização da HbS 50 nM



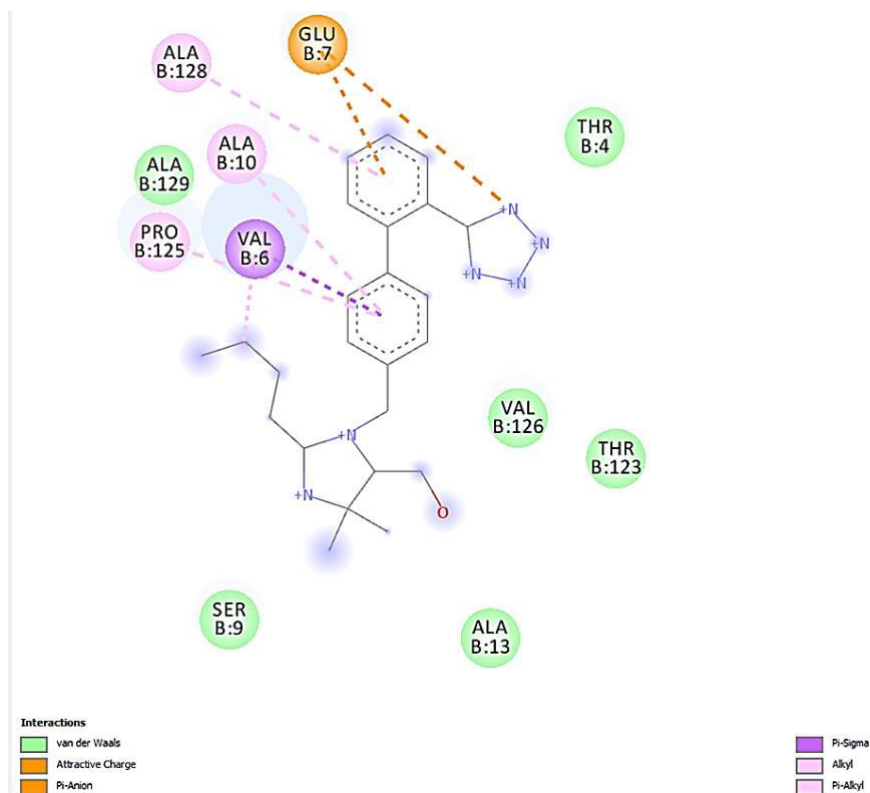
Curva de polimerização de HbS 50 nM: Taxa de polimerização da HbS quando tratadas com losartana, eprosartana e GBT440. Leitura realizada por leitor de Elisa Tecan GENios por aproximadamente 30 min a 700nm de absorvância. N = 6. Resultados expressos em SEM \pm Err. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 e **** p < 0,0001 vs controle, com 95% de intervalo de confiança. One-way anova e pós teste de Tukey.

Em síntese, os resultados apresentados pelo experimento *in vitro* demonstram que tanto a losartana quanto a eprosartana e o GBT440 retardam o tempo de início da polimerização da HbS purificada. Sendo esse um resultado animador, visto que, a literatura demonstra que apenas a interrupção parcial da polimerização HbS, é necessária para manter o fluxo de trânsito dos eritrocitos nos vasos sanguíneos e impedir as complicações ocasionadas pelo vaso oclusão e rigidez eritrocitárias se desenvolvam.

Com os resultados obtidos e partindo da hipótese que as diferenças estruturais de cada fármaco testado sugere que a interação dos ATr1 de ANG II com a molécula de HbS seja diferente e que essa ideia corrobora os resultados antes apresentados anteriormente. Foi realizada a parceria com o colaborador do nosso grupo de pesquisa em Fisiologia Eritroide, Rodrigo Abreu que realizou um experimento *in silico* de modelagem computacional utilizando softwares para simular a interação das moléculas de losartana e eprosartana com HbS.

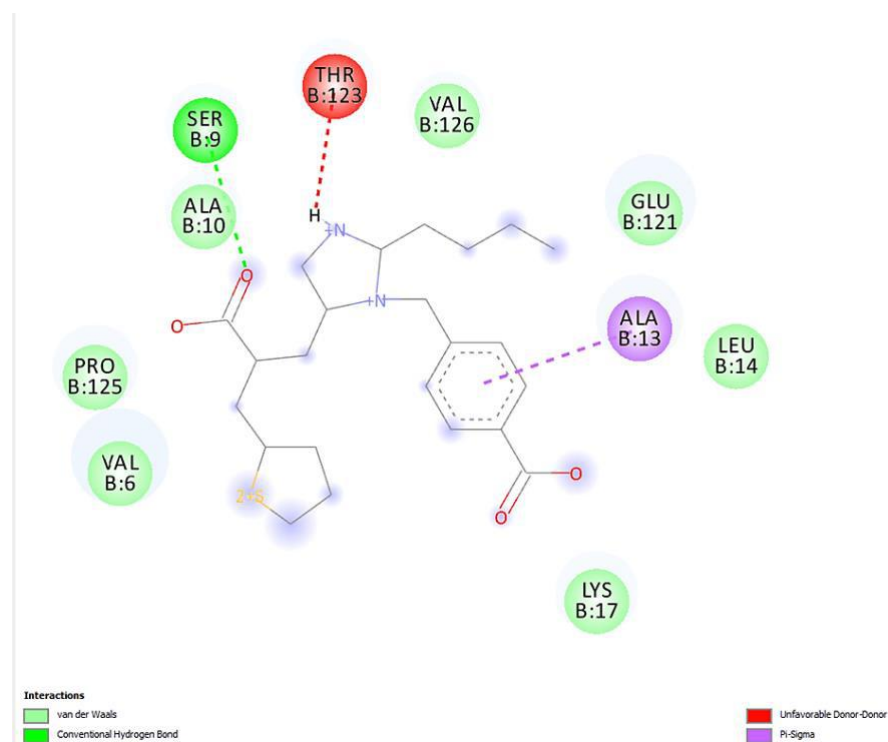
Os resultados obtidos no *docking* da losartana e eprosartana com a subunidade β da HbSS evidenciaram que a losartana interage com diferentes resíduos de aminoácidos da HbSS (figura 14) assim como a eprosartana, (figura 15) o que reforça a evidência levantada pelo experimento *in vitro*.

Figura 14: Modelo in sílico ligação da molécula de losartana com receptor HBS



Adaptada de trabalhos internos do grupo de pesquisa em fisiologia eritroide, UFRJ. Autor: Rodrigo Abreu. Não publicado, dezembro de 2022.

Figura 15: Modelo in sílico ligação da molécula de eprosartana com receptor HBS



Adaptada de trabalhos internos do grupo de pesquisa em fisiologia eritroide, UFRJ. Autor: Rodrigo Abreu. Não publicado, dezembro de 2022.

Os resultados apresentados ofereceram os primeiros estudos da atuação da losartana e eprosartana na intervenção da DF através da redução da polimerização HbS. A farmacologia demonstra que depois da administração oral, a losartana é convertida no metabólito EXP3174, 10 a 40 vezes mais potente que a losartana e permeia a maioria dos seus efeitos antagonista do receptor de ANG II. O que levanta a hipótese a ser desenvolvida futuramente sobre o efeito dos metabolitos de losartana na polimerização da HbS e nos eritrócitos falciformes, visto o quão promissor foram os resultados *in vitro* e *in silico* apresentado.

Para implementação efetiva de um fármaco como indicação para tratamento de qualquer doença é necessária uma sequência de estudos e testes que comprovem sua eficácia e segurança. A estratégia de redirecionamento de fármaco possibilita reduzir o tempo de pesquisa e os altos custos. Esse estudo confirma que investir na pesquisa com os ATr1 de ANG II para agente anti-falciforme é um caminho promissor, visto que esses possuem uma terapêutica bastante tolerada e segura. Além disso, o custo-benefício gerado por essa substância a curto e longo prazo, pode promover uma mudança significativa no cenário da farmacoterapia da DF.

6 Conclusão

Em 2017 William A. Eaton e H. Franklin Bunn demonstraram que a polimerização de HbS é a causa raiz da patologia da célula falciforme. Um retardo adequado desse processo consegue evitar as complicações gerada por esse mecanismo complexo (EATON; BUNN, 2017)

Em 2018 Olubiyi e colaboradores indicam que uma redução mínima da polimerização de HbS por célula de início é suficiente para interromper a agregação, principalmente quando considerada a porcentagem de eritrócitos que sofrem falcização (OLUBIYI et al., 2018).

Através desse estudo e dos resultados apresentados foi estabelecida a propriedade dos ATr1 de ANG II de aturem futuramente como agente anti-falciforme ao interagir com HbS. É importante salientar que a anemia falciforme é uma doença complexa e a polimerização desempenha uma papel-chave no prognóstico. Sendo sua redução capaz de melhorar significativamente a qualidade de vida dos pacientes e diminuir as complicações.

O grande número de pacientes que poderiam ser beneficiados com um fármaco relativamente barato (distribuído gratuitamente pelo SUS) e que atua no ponto crucial da DF é encorajador nos avanços e continuidade de pesquisas farmacêuticas. Além disso, o entusiasmo pelo desenvolvimento de novos fármacos que oferece oportunidades para envolver pacientes de diversos países. Principalmente países de baixa e média renda, no teste de terapias potencialmente modificadoras da DF, pode ampliar a capacitação para o manejo da anemia falciforme em locais vulnerabilizados. Esse estudo veio contribuir e fornecer as primeiras evidências a respeito do uso da molécula de losartana eprosartana para anemia falciforme como agente anti-polimerizante.

7 Referências bibliográficas

ANVISA. BRASIL. ADAKVEO® (Crizanlizumabe): novo registro - Informações Técnicas - Anvisa. Disponível em: http://antigo.anvisa.gov.br/informacoes-tecnicas13?p_p_id=101_INS TANCE_

ALMEIDA RA, BERETTA ALRZ Anemia Falciforme e abordagem laboratorial: uma breve revisão de literatura. Disponível em: <http://www.rbac.org.br/artigos/anemia-falciforme-e-abordagem-laboratorial-uma-breve>

AL, K. et. Figure 1: Genetic alterations in HBB. \textbar Nature Reviews Disease Primers.2018.Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201810/figures/1>.

ALANAZI, A. M. et al. Spectroscopic and molecular docking studies of the binding of the angiotensin II receptor blockers (ARBs) azilsartan, eprosartan and olmesartan to bovine serum albumin. Journal of Luminescence, v. 203, p. 616 – 628, nov 2018. ISSN 0022-2313. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022231318306318>.

AEDDULA, N. R.; BARDHAN, M.; BARADHI, K. M. Sickle Cell Nephropathy. StatPearls Publishing, 2022. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526017/>.

AMERINGER, S.; SMITH, W. R. Emerging Biobehavioral Factors of Fatigue in Sickle Cell Disease. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3076611/>.

BRANDOW, A. M.; PANEPINTO, J. A. Hydroxyurea Use in Sickle Cell Disease: The Battle with Low Rates of Prescription, Poor Patient Compliance, and Fears of Toxicities and Side Effects. Expert Rev Hematol, v. 3, n. 3, p. 255 – 260, jun 2010. ISSN 1747-4086. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3793890/>

BRASIL. PL 4208/2021 — Portal da Câmara dos Deputados - Portal da Câmara dos Deputados. 2021. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/propostas-legislativas/2309404>.

BRAZ, M.; OLIVEIRA, F.; FARIAS, A. GBT Inicia Programa de Acesso Expandido para Voxelotor em Pacientes com Doença Falciforme no Brasil - Bem Paraná. 2022. Disponível em: <https://www.bemparana.com.br/noticia/gbt-inicia-programa-de-acesso-expandido-para-voxelotor-em-pacientes-com-doenca-falciforme-no-brasil>

BRAZIL, ANVISA. Manual de diagnóstico e tratamento de doenças falciformes. 2002. OCLC: 63692793. ISBN 978-85-88233-04-1

BRASIL. CAMARA DOS DEPUTADOS. Projeto obriga SUS a oferecer medicamento para tratar anemia falciforme - Notícias. 2021. Disponível em: <https://www.camara.leg.br>

[/noticias/851936-projeto-obriga-sus-a-oferecer-medicamento-para-tratar-anemia-falciforme/](https://www.camara.leg.br/noticias/851936-projeto-obriga-sus-a-oferecer-medicamento-para-tratar-anemia-falciforme/)

BORHADE, M. B.; KONDAMUDI, N. P. Sickle Cell Crisis. StatPearls Publishing, 2021. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526064/>

BUENO, D. V.; CRUZ, J. C. da; HOLANDA, R. de J. ANEMIA FALCIFORME: FATORES GENÉTICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E FISIOPATOLÓGICOS DOS PORTADORES. Revista

Multidisciplinar de Educação e Meio Ambiente, v. 1, n. 1, p. 29 – 29, sep 2020. ISSN 2675-813X. Number: 1. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rema/article/view/46>

BONFILIO, R. et al. Comparative study of analytical methods by direct and first[1]derivative UV spectrophotometry for evaluation of losartan potassium in capsules. Braz. J. Pharm. Sci.,v. 46, p. 147 – 155, mar 2010. ISSN 2175-9790.

Publisher: Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas.
Disponível em: http://www.scielo.br/j/bjps/a/V3WgCd_t8vkh8Bqnc4MMsqYN/?lang=en.

CAO, Z.; FERRONE, F. A. Homogeneous nucleation in sickle hemoglobin: stochastic measurements with a parallel method. *Biophys J*, v. 72, n. 1, p. 343 – 352, jan 1997. ISSN 0006-3495.

CASTLE, B. T.; ODDE, D. J.; WOOD, D. K. Rapid and inefficient kinetics of sickle hemoglobin fiber growth. *Science Advances*, v. 5, n. 3. Publisher: American Association for the Advancement of Science. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aau1086>

CANNAS, G.; MERAZGA, S.; VIROT, E. Sickle Cell Disease and Infections in High[1]and Low-Income Countries. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, v. 11, n. 1, jul 2019. ISSN 2035-3006. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6613623/>.

CASTELO, B. T.; ODDE, D. J.; WOOD, D. K. Rapid and inefficient kinetics of sickle hemoglobin fiber growth. *Science Advances*, v. 5, n. 3, mar 2019. Publisher: American Association for the Advancement of Science. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aau1086>.

CARDEN, M. A.; LITTLE, J. Emerging disease-modifying therapies for sickle cell disease. *Haematologica*, v. 104, n. 9, p. 1710 – 1719, sep 2019. ISSN 0390-6078. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6717563/>.

DIAS, M. G. R. Mortalidade por doença falciforme no Brasil: estudo retrospectivo (1996 – 2016). 2016.

DELGADO, J. et al. The European Medicines Agency Review of Crizanlizumab for the Prevention of Recurrent Vaso-Occlusive Crises in Patients With Sickle Cell Disease.

EMMAUS MEDICAL, INC. L-GLUTAMINA (Endari) para Doença Falciforme \textbar The Medical Letter Inc. Dis

EATON, W. A.; BUNN, H. F. Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood*, v. 129, n. 20, p. 2719 – 2726, may 2017. ISSN 0006-4971. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5437829/>.

ESTCOURT, L. J. et al. Interventions for preventing silent cerebral infarcts in people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*, v. 4, apr 2020. ISSN 1469-493X.

FERREIRA, R.; GOUVÊA, C. M. C. P. Recentes avanços no tratamento da anemia falciforme. v. 28, n. 1, p. 1 – 6, 2018. Disponível em: <http://www.rmmg.org/artigo/detalhes/2324>

ESTCOURT, L. J. et al. Blood transfusion for preventing primary and secondary stroke in people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev*, v. 2020, n. 7, jul 2020. ISSN 1469-493X. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7388696/>.

ELMARIAH, H., GARRETT, ME, DE CASTRO, LM, JONASSAINT, JC, ATAGA, KI, ECKMAN, JR, ... & TELEN, MJ (2014). Fatores associados à sobrevida em uma coorte de adultos contemporâneos com doença falciforme. *American Journal of Hematologia* , 89 (5), 530-535.

FERNANDES, A. P. P. C. et al. Mortalidade de crianças com doença falciforme: um estudo de base populacional. *J. Pediatr. (Rio J.)*, v. 86, p. 279 – 284, aug 2010. ISSN 0021-7557, 1678-4782. Publisher: Sociedade Brasileira de Pediatria. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/jped/a/rmqRDnthz4w5LtD86mXgJCD/?lang=pt>.

FRANCESCHI, L. D.; CORROCHER, R. Established and experimental treatments for sickle cell disease. *Haematologica*, v. 89, n. 3, p. 348 – 356, mar 2004. ISSN 1592-8721

FERRONE, F. A. GBT440 increases haemoglobin oxygen affinity, reduces sickling and prolongs RBC half-life in a murine model of sickle cell disease. *British Journal of Haematology*, v. 174, n. 4, p. 499 – 500, 2016. ISSN 1365-2141. [_eprint: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bjh.14212](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bjh.14212). Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bjh.14212>.

FERRAZ, M. H. C.; MURAO, M. Diagnóstico laboratorial da doença falciforme em neonatos e após o sexto mês de vida. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 29, n. 3, sep 2007. ISSN 1516-8484. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842007000300005&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt.

FRIEND, A.; GIRZADAS, D. Acute Chest Syndrome. StatPearls Publishing, 2021. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441872/>

FANTASIA, H. C.; MORSE, B. L. Voxelotor for the Treatment of Sickle Cell Disease. *Nursing for Women's Health*, v. 24, n. 3, p. 233 – 237, jun 2020. ISSN 1751-4851. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751485120300623>.

FELIX, A. A.; SOUZA, H. M.; RIBEIRO, S. B. F. Aspectos epidemiológicos e sociais da doença falciforme. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 32, p. 203 – 208, 2010. ISSN 1516-8484, 1806-0870. Publisher: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rbhh/a/7pwwXvkPMzF5fr8SYhWc8Sw/>.

FERRAZ, N. DE O. ET AL. Avaliação da eficácia e dos efeitos adversos da hidroxiureia no tratamento da doença falciforme: uma revisão sistemática. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, v. 2, n. 1, p. 22 – 22, feb 2021. ISSN 2675-8008. Number: 1. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/s/article/view/630>

HERITY, L. B. et al. Voxelotor: A Novel Treatment for Sickle Cell Disease. *Ann Pharmacother*, v. 55, n. 2, p. 240 – 245, feb 2021. ISSN 1542-6270.

GOODMAN AND GILMAN's. *The Pharmacological Basis Of Therapeutics*, 13th Edition 2017. [s.n.]. Disponível em: <http://archive.org/details/GoodmanAndGilmansThePharmacologicalBasisOfTherapeutics13thEdition2017>

GUIMARÃES-NOBRE, C. C. et al. ATR1 Angiotensin II Receptor Reduces Hemoglobin S Polymerization, Phosphatidylserine Exposure, and Increases Deformability of Sickle Cell Disease Erythrocytes. *Cell Biochem Biophys*, v. 80, n. 4, p. 711 – 721, dec 2022. ISSN 1559-0283. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12013-022-01096-y>.

GLADWIN, M. T.; SACHDEV, V. Cardiovascular Abnormalities in Sickle Cell Disease. *J Am Coll Cardiol*, v. 59, n. 13, mar 2012. ISSN 0735-1097. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3881188/>.

INSTITUTO ESTADUAL DE HEMATOLOGIA ARTHUR DE SIQUEIRA CAVALCANTI Protocolos de Tratamento: hematologia e hemoterapia/ Instituto Estadual de Hematologia Arthur de Siqueira Cavalcanti – 2. Ed. – Rio de Janeiro: HEMORIO, 2014. 16 p.: il. tab.

HAYWOOD, L. J. Cardiovascular Function and Dysfunction in Sickle Cell Anemia. *ScienceDirect*. 2015. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0027968415308075?via%3DiHub>. Disponível em: <https://secure.medicalletter.org/TML-article-1539c>

JUNCOS, J. P., GRANDE, J. P., CROATT, A. J., HEBBEL, R. P., VERCELLOTTI, G. M., KATUSIC, Z. S., & NATH, K. A. (2010). Early and prominent alterations in hemodynamics, signaling, and gene expression following renal ischemia in sickle cell disease. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 298(4), F892-F899.

JADAVJI, T.; PROBER, C. G. Dactylitis in a child with sickle cell trait. Can Med Assoc J, v. 132, n. 7, p. 814 – 815, apr 1985. ISSN 0008-4409. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1345873/>.

LOSARTAN therapy decreases albuminuria with stable glomerular filtration and permselectivity in sickle cell anemia - ScienceDirect. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1079979617303303?via%3Dihub>.

LOUREIRO, MONIQUE MORGADO E ROZENFELD, SUELY. Epidemiologia de internações por doença falciforme no Brasil. *Revista de Saúde Pública* [online]. 2005, v. 39, n. 6 [Acessado 6 Janeiro 2023], pp. 943-949. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0034-89102005000600012>>. Epub 12 Dez 2005. ISSN 1518-8787. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102005000600012>.

MINISTERIO DA SAUDE 2007. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/10/res0055_16_12_2010.htm

YEE, M. E. et al. Losartan therapy decreases albuminuria with stable glomerular filtration and permselectivity in sickle cell anemia. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, v. 69, p. 65-70, mar 2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1079979617303303>

HALLER, J. O.; BERDON, W. E.; FRANKE, H. Sickle cell anemia: The legacy of the patient (Walter Clement Noel), the interne (Ernest Irons), and the attending physician (James Herrick) and the facts of its discovery. *Pediatric Radiology*, v. 31, n. 12, p. 889 – 890, dec 2001. ISSN 1432-1998. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s002470100014>.

IHME. Sickle cell disorders — Level 4 cause. 2020. Disponível em: https://www.healthdata.org/results/gbd_summaries/2019/sickle-cell-disorders-level-4-cause.

INGRAM, V.; STRETTON, A. Genetic Basis of the Thalassæmia Diseases. *Nature*. 1959. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/1841903a0>.

INGRAM, V. M. Sickle-cell anemia hemoglobin: the molecular biology of the first “molecular disease”—the crucial importance of serendipity. *Genetics*, v.

167, n. 1, p. 1 – 7, may 2004. ISSN 0016-6731. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1470873/>.

JOURDAN, J. et al. Drug repositioning: a brief overview. *J Pharm Pharmacol*, apr 2020. ISSN 0022-3573. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7262062/>.

KANE, I. et al. Splenic Sequestration Crisis. StatPearls Publishing, 2022. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553164/>.

KIRKHAM, F. J.; LAGUNJU, I. A. Epidemiology of Stroke in Sickle Cell Disease. *J Clin Med*, v. 10, n. 18, sep 2021. ISSN 2077-0383. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8469588/>.

KATO, G. J. et al. Sickle cell disease. *Nat Rev Dis Primers*, v. 4, n. 1, p. 1 – 22, mar 2018. ISSN 2056-676X. Number: 1 Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201810>

LEIKIN, S. L. The Aplastic Crisis of Sickle-Cell Disease: Occurrence in Several Members of Families Within a Short Period of Time. *A.M.A. Journal of Diseases of Children*, v. 93, n. 2, p. 128 – 139, feb 1957. ISSN 0096-6916. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archpedi.1957.02060040130005>.

LIVERTOX. Eprosartan. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, 2017. Publication Title: LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548507/>.

MAROTTA, C. A. et al. Nucleotide Sequence Analysis of Coding and Noncoding Regions of Human α -Globin mRNA. In: COHN, W. E.; VOLKIN, E. (Ed.). *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*. Academic Press, 1977. p. 165 – 175. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079660308609174>

MCCLELLAN, K. J.; BALFOUR, J. A. Eprosartan. Drugs (New York, N.Y.), v. 55, n. 5, p. 713– 718, 1998. ISSN 0012-6667. Place: New Zealand Publisher: Adis International.

MULLA, S.; SIDDIQUI, W. J. Losartan. StatPearls Publishing, 2022. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526065/>

NERO, A. C. et al. Impact of Jaundice On Adults with Sickle Cell Anemia \textbar Blood \textbar American Society of Hematology. 2012. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/120/21/4753/85033/Impact-of-Jaundice> NATH, K. A. Sickle cell disease: renal manifestations and mechanisms \textbar Nature Reviews Nephrology. 2015. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrneph.2015.8>.

NATH, K. A.; HEBBEL, R. P. Sickle cell disease: renal manifestations and mechanisms. Nat Rev Nephrol, v. 11, n. 3, p. 161 – 171, mar 2015. ISSN 1759-507X. Number: 3 Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrneph.2015.8>.

NUZZO, D. V. P. D.; FONSECA, S. F. Sickle cell disease and infection. J. Pediatr. (Rio J.), v. 80, p. 347 – 354, 2004. ISSN 0021-7557, 1678-4782. Publisher: Sociedade Brasileira de Pediatria. Disponível em <http://www.scielo.br/j/jped/a/zRptkT8xVg3d3mzkZ8DKpkh/lang=e> n.

POWARS, DR, ELLIOTT-MILLS, DD, CHAN, L., NILAND, J., HITI, AL, OPAS, LM, & JOHNSON, C. (1991). Insuficiência renal crônica na doença falciforme: fatores de risco, curso clínico e mortalidade. Annals of Internal Medicine , 115 (8), 614-620.

OCHOCINSKI, D. et al. Life-Threatening Infectious Complications in Sickle Cell Disease: A Concise Narrative Review. Front Pediatr, v. 8, feb 2020. ISSN 2296-2360. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7044152/>

NISS, O. et al. Progression of albuminuria in patients with sickle cell anemia: a multicenter, longitudinal study. *Blood Adv*, v. 4, n. 7, p. 1501 – 1511, apr 2020. ISSN 2473-9529. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7160281/>.

NAIK, R. P.; DEREBAIL, V. K.; GRAMS, M. E. Association of Sickle Cell Trait With Chronic Kidney Disease and Albuminuria in African Americans \textbar Chronic Kidney Disease \textbar JAMA \textbar JAMA Network. 2014. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1935577>

NEUMAYR, M. D. L. D.; HOPPE, M. D. C. C.; BROWN, M. D. C. Sickle Cell Disease: Current Treatment and Emerging Therapies. *Supplements and Featured Publications*, v. 25, n. 18, nov 2019. Publisher: MJH Life Sciences. Disponível em: <https://www.ajmc.com/view/sickle-cell-disease-current-treatment-and-emerging-therapies>

NAIK, P. et al. Angiotensin II receptor type 1 (AT1) selective nonpeptidic antagonists—A perspective. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v. 18, n. 24, p. 8418 – 8456, dec 2010. ISSN 0968-0896. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968089610009661>

NEVES, B. J. Reposicionamento de fármacos e planejamento de novos compostos ativos contra *Schistosoma mansoni*. nov 2016. Accepted: 2017-01-03T09:47:27Z Publisher: Universidade Federal de Goiás. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/6675>.

OLIVEIRA, S. DOS S. Eficácia e toxicidade da hidroxiuréia em pacientes com anemia falciforme: uma revisão de literatura. 2014b. Accepted: 2019-02-04T11:58:44Z Publisher: Faculdade Maria Milza. Disponível em: <http://famamportal.com.br:8082/jspui/handle/123456789/1144>

OLUBIYI, O. O. et al. Structural Basis of Antisickling Effects of Selected FDA Approved Drugs: A Drug Repurposing Study. *Current Computer-Aided Drug*

Design, v. 14, n. 2, p. 106 – 116, 2018. Disponível em: <https://www.eurekaselect.com/article/88264>.

OLUBIYI, O. O.; OLAGUNJU, M. O.; STRODEL, B. Rational Drug Design of Peptide-Based Therapies for Sickle Cell Disease. *Molecules*, v. 24, n. 24, dec 2019. ISSN 1420-3049.

Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6943517/>.

POMPEO, C. M. et al. Clinical-Epidemiological Characteristics and Mortality in Patients with Sickle Cell Anemia: A Retrospective Cohort Study of 1980 at 2018

PUSHPAKOM, S. et al. Drug repurposing: progress, challenges and recommendations. *Nat Rev Drug Discov*, v. 18, n. 1, p. 41 – 58, jan 2019. ISSN 1474-1784. Number: 1 Publisher: Nature Publishing Group. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrd.2018.168>.

QUINN, C. T. et al. Losartan for the Nephropathy of Sickle Cell Anemia: A Phase-2, Multi-Center Trial. *Am J Hematol*, v. 92, n. 9, p. E520 – E528, sep 2017. ISSN 0361-8609. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5546943/>

RM, E. et al. Pharmacological characterization of the nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, SK&F 108566. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, v. 260, n. 1, jan 1992. ISSN 0022-3565. Publisher: J Pharmacol Exp Ther. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1309870/>.

RILEY, T. R.; RILEY, T. T. Profile of crizanlizumab and its potential in the prevention of pain crises in sickle cell disease: evidence to date. *J Blood Med*, v. 10, p. 307 – 311, aug 2019. ISSN 1179-2736. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6720158/>

RIBEIRO, M. V. M. R. et al. Sickle cell retinopathy: A literature review. *Rev. Assoc. Med. Bras.*, v. 63, p. 1100 – 1103, dec 2017. ISSN 0104-4230, 1806-

9282. Publisher: Associação Médica Brasileira. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/ramb/a/MzgBkY5fkWBts9qrzLK4y9s/?lang=en>.

REES, D. C.; WILLIAMS, T. N.; GLADWIN, M. T. Sickle-cell disease. *The Lancet*, v. 376, n. 9757, p. 2018 – 2031, dec 2010. ISSN 0140-6736, 1474-547X. Publisher: Elsevier. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(10\)61029-X/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(10)61029-X/fulltext).

RHODES, M. et al. Growth Patterns in Children with Sickle Cell Anemia during Puberty. *Pediatr Blood Cancer*, v. 53, n. 4, p. 635 – 641, oct 2009. ISSN 1545-5009. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2733167/>.

SANTOS, J. L. dos; CHIN, C. M. SciELO - Brasil - Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. 2012b. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/w8y59mM6gtk4yrD9dqrcG9L/?lang=pt>.

SARAIVA, V. B. et al. Impairment of the Plasmodium falciparum Erythrocytic Cycle Induced by Angiotensin Peptides. *PLoS One*, v. 6, n. 2, feb 2011. ISSN 1932-6203. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3041794/>

SADAF, A.; QUINN, C. T. L-glutamine for sickle cell disease: Knight or pawn? *Exp Biol Med (Maywood)*, v. 245, n. 2, p. 146 – 154, jan 2020. ISSN 1535-3702. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7016414/>.

SAVITT, T. L.; GOLDBERG, M. F. Herrick's 1910 Case Report of Sickle Cell Anemia: The Rest of the Story. *JAMA*, v. 261, n. 2, p. 266 – 271, jan 1989. ISSN 0098-7484. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.1989.03420020120042>.

SILVA-PINTO, A. C. et al. Economic burden of sickle cell disease in Brazil. PLoS One, v. 17,n. 6, jun 2022. ISSN 1932-6203. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9202914/>.

SILVA, S. DE JESUS. LOURENÇO ET AL. voxelotor: uma nova perspectiva no tratamento da anemia falciforme. Revista Multidisciplinar em Saúde, v. 2, n. 1, p. 39 – 39, sep 2021. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/remss/article/view/1992>.

SAVEDRA, M. E. et al. Effects of Voxelotor (GBT440) Therapy on Laboratory Testing of Sickle Cell Patients. Blood, v. 134, nov 2019. ISSN 0006-4971. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000649711858928X>.

SEDRAK, A.; KONDAMUDI, N. P. Sickle Cell Disease. StatPearls Publishing, 2021. Publication Title: StatPearls [Internet]. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482384/>

Silva-Pinto, AC, Costa, FF, Gualandro, SFM, Fonseca, PBB, Grindler, CM, Souza Filho, HCR, Bueno, CT, & Cançado, RD (2022). Carga econômica da doença falciforme no Brasil. PloS um , 17 (6), e0269703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0269703>

SANTI, L. et al. Liver Cirrhosis in a Patient with Sickle Cell Trait (Hb S+ Thalassemia) without Other Known Causes of Hepatic Disease. Case Rep Gastroenterol, v. 3, n. 3, p. 275 – 279, sep 2009. ISSN 1662-0631. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2988917/>

SUDDLE, A. R. Management of liver complications in sickle cell disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, v. 2019, n. 1, p. 345 – 350, dec 2019. ISSN 1520-4391. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6913458/>.

SINGHAL, A. et al. Delayed adolescent growth in homozygous sickle cell disease. - PMC. 1994. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1030050/>.

SYSOL, J. R.; MACHADO, R. Sickle Cell Disease and Acute Chest Syndrome: Epidemiology, Diagnosis, Management, Outcomes. Hematologic Abnormalities and Acute Lung Syndromes, p. 67 – 87, jun 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7120070/>

TEIXEIRA, H. et al. Efeito da suplementação da l-glutamina na condição clínica de pacientes pediátricos com doença falciforme, v. 44, p. S53 – S54, oct 2022. ISSN 2531-1379. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137922002048>

VERDUZCO, L. A.; NATHAN, D. G. Sickle cell disease and stroke \textbar Blood \textbar American Society of Hematology. 2009. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article/114/25/5117/26508/Sickle-cell-disease-and-stroke>.

VICHINSKY, E. Chronic organ failure in adult sickle cell disease. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, v. 2017, n. 1, p. 435 – 439, dec 2017. ISSN 1520-4391. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6142529/>

VIJAYANARAYANAN, A. et al. Acute Splenic Sequestration Crisis in Hemoglobin SC Disease: Efficiency of Red Cell Exchange. Cureus, v. 12, n. 12, 2020. ISSN 2168-8184. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7819680/>.

UWAEZUOKE, S. N. et al. Vaso-occlusive crisis in sickle cell disease: current paradigm on pain management. J Pain Res, v. 11, p. 3141 – 3150, dec 2018. ISSN 1178-7090. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6294061/>

TAKEZAKO, T. et al. The non-biphenyl-tetrazole angiotensin AT1 receptor antagonist eprosartan is a unique and robust inverse agonist of the active state of the AT1 receptor. *Br J Pharmacol*, v. 175, n. 12, p. 2454 – 2469, jun 2018. ISSN 1476-5381

IQBAL, Z. et al. Investigation of Sickle-Cell Haemoglobin Polymerisation under Electrochemical Control. *Chemphyschem*, v. 14, n. 10, p. 2143 – 2148, jul 2013. ISSN 1439-4235. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016751/>.

SILVA, M. C.; SHIMAUTI, E. L. T. Eficácia e toxicidade da hidroxiuréia em crianças com anemia falciforme. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, v. 28, p. 144 – 148, jun 2006. ISSN 1516- 8484, 1806-0870. Publisher: Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia e Terapia Celular. Disponível em: <http://www.scielo.br/j/rbhh/a/XJgdT3cg4SrdTCgqBPQdZwR/?lang=pt>

SINGH, J.; MAGGO, S.; SADANANDEN, U. K. Voxelotor: novel drug for sickle cell disease. 2020. Disponível em: <http://imsear.searo.who.int/handle/123456789/200562>.

Lobo, C. L. D. C., Bueno, L. M., Moura, P., Ogeda, L. L., Castilho, S., & Carvalho, S. M. F. D. (2003). Triagem neonatal para hemoglobinopatias no Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 13(2-3), 154-159.

LIEM, R. I. et al. American Society of Hematology 2019 guidelines for sickle cell disease: Cardiopulmonary and kidney disease. *Blood advances*, v. 3, n. 23, p. 3867 – 3897, 2019. ISSN 2473-9529. Disponível em: <http://www.scopus.com/inward/record.url?scp=85076336575&partnerID=8YFLogxK>.

MEYER, E. Síntese de novos potenciais antagonistas dos receptores da angiotensina II contendo unidades heterocíclicas. 2003. Disponível em: http://bdtd.ibict.br/vufind/Record/UFSC_5d212c876a93007c238404e1cad205

THROWER, A. et al. Effect of Renin-Angiotensin-Aldosterone System Blocking Agents on Progression of Glomerulopathy in Sickle Cell Disease. *Br J Haematol*, v. 184, n. 2, p. 246 – 252, jan 2019. ISSN 0007-1048. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6326862/>.

VICHINSKY, E. et al. A Phase 3 Randomized Trial of Voxelotor in Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*, v. 381, n. 6, p. 509 – 519, aug 2019. ISSN 0028-4793. Publisher: Massachusetts Medical Society _eprint: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1903212>. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1903212>

AZOUJ, R. et al. A dopamine transporter in human erythrocytes: modulation by insulin - Azoui - 1996 - *Experimental Physiology* - Wiley Online Library. 1996. Disponível em: <https://physoc.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1113/expphysiol.1996.sp003946>.

BUNN, HF (1997) Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease. *New England Journal of Medicine*, 337, 762-769. - Referências - Publicação de Pesquisa Científica. 1997. Disponível em: [https://www.scirp.org/\(S\(351jmbntvnsjt1aadkposzje\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1666819](https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1666819).

HAN, H.; HENSCH, L.; TUBMAN, V. N. Indications for transfusion in the management of sickle cell disease. *Hematology*, v. 2021, n. 1, p. 696 – 703, dec 2021. ISSN 1520-4391. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000307>

HUTCHALEELAHA, A. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of voxelotor (GBT440) in healthy adults and patients with sickle cell disease. *British Journal of Clinical Pharmacology*, v. 85, n. 6, p. 1290 – 1302, 2019. ISSN 1365-2125. _eprint: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/bcp.13896>. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/bcp.13896>.

MOZZARELLI, A.; HOFRICHTER, J.; EATON, W. Delay Time of Hemoglobin S Polymerization Prevents Most Cells from Sickling in Vivo. 1987. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.3603036>

ROSSI, L. et al. Red Blood Cell Membrane Processing for Biomedical Applications. *Front Physiol*, v. 10, aug 2019. ISSN 1664-042X.:

GALIZA NETO, G. C. D., & PITOMBEIRA, M. D. S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2003

ATAIDE, C. A., & RICAS, J. O enfrentamento do diagnóstico da doença falciforme: Desafios e perspectivas vivenciadas pela família. *Scientia Plena*, 2016

Rodrigues, D. D. O., Ferreira, M. C. B., Campos, E. M. S., Pereira, P. M., Oliveira, C. M., & Teixeira, M. T. B. (2012). História da triagem neonatal para doença falciforme no Brasil—capítulo de Minas Gerais. *Rev Med Minas Gerais*

Velho, JM. Hemoglobinopatias. Em *Diagnóstico Molecular de Doenças Genéticas* (pp. 169-183). Human Press. 1996

SANTOS, J. L. D., & CHIN, C. M. Anemia falciforme: desafios e avanços na busca de novos fármacos. *Química Nova*, 35, 783-790. 2012.

MANFREDINI, V., CASTRO, S., WAGNER, S., & DA SILVEIRA BENFATO, M. A fisiopatologia da anemia falciforme. *Infarma-Ciências Farmacêuticas*, 19(1/2), 3-6. 2013

NADER E, ROMANA M, CONNES P. The Red Blood Cell-Inflammation Vicious Circle in Sickle Cell Disease. *Front Immunol*. 2020 Mar 13;11:454. doi: 10.3389/fimmu.2020.00454. PMID: 32231672; PMCID: PMC7082402. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6710399/>

SHAH, N. et al. Medical Resource Use and Costs of Treating Sickle Cell-related Vaso-occlusive Crisis Episodes: A Retrospective Claims Study

Published in Journal of Health Economics and Outcomes Research. 2020. Disponível em: <https://jheor.org/article/12852-medical-resource-use-and-costs-of-treating-sickle-cell-related-vaso-occlusive-crisis>

TAAL, MW E BRENNER, BM (2000). Benefícios renoprotetores da inibição do RAS: do IECA aos antagonistas da angiotensina II. *Kidney International*, 57 (5), 1803-1817.

TSUKAMOTO, T.; SONENBERG, M. Catecholamine regulation of human erythrocyte membrane protein kinase. *J Clin Invest*, v. 64, n. 2, p. 534 – 540, aug 1979. ISSN 0021-9738. Publisher: American Society for Clinical Investigation. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/109491>.

WAILOO, K. Sickle Cell Disease - A History of Progress and Peril. *N Engl J Med*, v. 376, n. 9, p. 805 – 807, mar 2017. ISSN 1533-4406.

YASARA, N.; PREMAWARDHENA, A.; METTANANDA, S. A comprehensive review of hydroxyurea for -haemoglobinopathies: the role revisited during COVID-19 pandemic. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, v. 16, n. 1, mar 2021. ISSN 1750-1172. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13023-021-01757-w>

XU, F. et al. Losartan Chemistry and Its Effects via AT1 Mechanisms in the Kidney. *Curr Med Chem*, v. 16, n. 28, 2009. ISSN 0929-8673. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2819278/>

ZU, J. X. Revisiting anemia in sickle cell disease and finding the balance with therapeutic approaches \textbar Blood \textbar American Society of Hematology. 2022. Disponível em: <https://ashpublications.org/blood/article-abstract/139/20/3030/483087/>