



JOSÉ ANTONIO AZEREDO JÚNIOR

**DOENÇA FALCIFORME E ENDOTELINA-1: ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS**

MACAÉ/RJ

2022

JOSÉ ANTONIO AZEREDO JÚNIOR

**DOENÇA FALCIFORME E ENDOTELINA-1: ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS**

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. Cleilson Berto júnior

Coorientadora: BSc. Lyzes Rosa Teixeira Alves

MACAÉ/RJ

2022

### CIP - Catalogação na Publicação

A933d Azeredo Júnior, José Antonio  
DOENÇA FALCIFORME E ENDOTELINA-1: ASPECTOS  
FISIOPATOLÓGICOS / José Antonio Azeredo Júnior. --  
Rio de Janeiro, 2022.  
39 f.

Orientador: Clemilson Berto Júnior.  
Coorientadora: Lyzes Rosa Teixeira Alves.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto  
de Ciências Farmacêuticas, Bacharel em Farmácia,  
2022.

1. doença falciforme. 2. endotelina-1. 3.  
receptores de endotelina. 4. tratamento doença  
falciforme. I. Berto Júnior, Clemilson, orient.  
II. Rosa Teixeira Alves, Lyzes, coorient. III.  
Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os dados fornecidos pelo(a) autor(a), sob a responsabilidade de Miguel Romeu Amorim Neto - CRB-7/6283.

JOSÉ ANTONIO AZEREDO JÚNIOR

**DOENÇA FALCIFORME E ENDOTELINA-1: ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS**

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

Macaé, 15 de dezembro de 2022.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Clemilson Berto Júnior  
<http://lattes.cnpq.br/7556214371220650>

Prof. Dr. Willian Jonis Andrioli  
<http://lattes.cnpq.br/9247004940826494>

Prof. Dra. Rita Cristina Azevedo Martins  
<http://lattes.cnpq.br/9368897588729263>

## Agradecimentos

A Deus, gratidão é o sentimento que tenho, pois o Senhor foi fundamental em todos os meus progressos, superações e conquistas.

A essa prestigiada e histórica Universidade, seu corpo docente, que me auxiliou até o atual momento.

A banca avaliadora, composta por Professores ilustres, que farão parte da minha história acadêmica.

Ao meu orientador Dr. Cleilson Berto Júnior e a minha Coorientadora BSc. Lyzes Rosa Teixeira Alves, por todo o suporte, acompanhamento, ensinamentos e pelas suas correções e incentivos.

Ao meus amados pais, por me possibilitarem estar em outra cidade estudando em tempo integral, pelo amor e pelo apoio incondicional.

Ao amigos que fiz durante esses 5 anos de curso e que tornaram a caminhada mais leve, agradável e memorável.

E a todos que diretamente ou indiretamente fizeram desses anos de minha formação, o meu muito obrigado.

## Resumo:

**Introdução:** A doença falciforme foi descoberta em 1910 por James B. Herrick e é descrita como a primeira doença hereditária a nível molecular, segundo Pauling e colaboradores. Sua pesquisa relatou a presença de eritrócitos em formato de foice diante da alteração de pressão oriunda da oscilação da oxigenação, enquanto era sabido que indivíduos saudáveis possuíam os eritrócitos no formato bicôncavo e discóide. Devido a tensão de cisalhamento e o aumento da adesão de eritrócitos ao endotélio, oriundos dos drepanócitos, o mais potente vasoconstritor endógeno, a endotelina-1, é estimulado devido a sua sensibilidade a lesão. Sua ação ocorre através de dois principais receptores que são acoplados a proteína G que possuem diferentes afinidades, o ETA e o ETB.

**Metodologia:** O artigo trata-se de uma revisão da literatura feita no segundo semestre do ano de 2022 nas bases de dados PubMed, Google Acadêmico e Scielo. Os artigos que contribuíram para essa revisão foram obtidos através da combinação dos descritores “sickle cell disease”, “receptor antagonist endothelin-1” e “endothelin-1”. O site do Ministério da Saúde e um artigo do nosso grupo de pesquisa que foi aprovado, mas ainda não publicado, também foram utilizados como referências.

**Resultados:** Os efeitos da ET-1 frente aos eritrócitos de indivíduos com a doença falciforme estão presentes na literatura, demonstrando que esse hormônio peptídico é capaz de modular a fisiologia eritróide, promovendo a desidratação dos eritrócitos com a hemoglobina S via ativação do canal de gárdos, acarretando na redução do potencial de deformabilidade dos eritrócitos. A utilização de antagonistas de endotelina-1, usados atualmente principalmente para o tratamento da hipertensão arterial pulmonar, pode ser mais uma opção terapêutica farmacológica no tratamento da DF, principalmente pela pouca variedade de fármacos e o alto custo de aquisição da grande maioria.

**Conclusão:** Pesquisas correlacionando endotelina-1 com doença falciforme ainda são poucas, dessa forma, compreender a relação da doença falciforme, da endotelina-1 e dos seus respectivos receptores é de suma importância para a otimização do acompanhamento dos pacientes, para o aumento de opções farmacoterapêuticas e para a promoção de qualidade de vida.

**Palavras-chave:** doença falciforme, polimerização, endotelina-1, receptores de endotelina, tratamento doença falciforme.

## Abstract

**Introduction:** Sickle cell disease was discovered in 1910 by James B. Herrick and is described as the first hereditary disease at the molecular level, according to Pauling et al. His research reported the presence of sickle-shaped erythrocytes in view of the change in pressure arising from the oscillation of oxygenation, while it was known that healthy individuals had erythrocytes in the biconcave and discoid format. Due to shear stress and increased adhesion of erythrocytes to the endothelium from drepanocytes, the most potent endogenous vasoconstrictor, endothelin-1, is stimulated due to its sensitivity to injury. Its action occurs through two main receptors that are coupled to G protein that have different affinities, ETA and ETB. **Methodology:** The article is a review of the literature carried out in the second half of 2022 in the PubMed, Google Scholar and Scielo databases. The articles that contributed to this review were obtained by combining the descriptors “sickle cell disease”, “endothelin-1 receptor antagonist” and “endothelin-1”. The Ministry of Health website and an article by our research group that was approved but not yet published were also used as references. **Results:** The effects of ET-1 on erythrocytes from individuals with sickle cell disease are present in the literature, demonstrating that this peptide hormone is capable of modulating erythroid physiology, promoting dehydration of erythrocytes with hemoglobin S via activation of the gardos channel, leading to a reduction in the potential for erythrocyte deformability. The use of endothelin-1 antagonists, currently used mainly for the treatment of pulmonary arterial hypertension, may be another pharmacological therapeutic option in the treatment of SCD, mainly due to the limited variety of drugs and the high cost of acquiring most of them. **Conclusion:** Research correlating endothelin-1 with sickle cell disease is still scarce, therefore, understanding the relationship between sickle cell disease, endothelin-1 and their respective receptors is of paramount importance for optimizing patient follow-up, for increasing options pharmacotherapeutics and for the promotion of quality of life.

**Keywords:** sickle cell disease, polymerization, endothelin-1, endothelin receptors, sickle cell disease treatment.

## Lista de figuras

Figura 1 - microscopia com drepanócitos - Atlas de Hematologia – UFG .....	10
Figura 2 - hemoglobina adulta.....	11
Figura 3 - quadro com a representação dos diferentes tipos de Hb de acordo com seu principal período de produção e composição de cadeia globínica.....	12
Figura 4 - fisiopatologia da anemia falciforme.. .....	16
Figura 5 - estrutura molecular da hidroxiureia .....	19
Figura 6 - estrutura molecular do fármaco voxelotor.....	22
Figura 7 - biossíntese e sequência de aminoácidos e estrutura da endotelina ....	24

## Sumário

1.Introdução.....	10
2.Características demográficas da doença falciforme.....	13
3.Fisiopatologia.....	15
4.Diagnóstico.....	18
5.Tratamento .....	19
6.Objetivos.....	22
7.Metodologia.....	22
8.Resultados e Discussões.....	23
9.Conclusão.....	28
10.Referências.....	29



## Lista de abreviações:

ET-1: endotelina-1

ETA: receptor de endotelina A

ETB: receptor de endotelina B

DF: doença falciforme

DNA: ácido desoxirribonucleico

HbS: hemoglobina S

Hb: hemoglobina

HSPCs: células tronco hematopoiéticas derivadas de paciente

HbF: hemoglobina fetal

AVC: acidente vascular cerebral

OMS: organização mundial da saúde

SUS – sistema único de saúde

NO: óxido nítrico

NOS: óxido nítrico sintase

CHCM: concentração de hemoglobina corpuscular média

LPA: ácido lisofosfatídico

IL-1: interleucina 1

IL-6: interleucina 6

IL-8: interleucina 8

HPLC: cromatografia líquida de alta performance

IEF: método de focalização isoeletrica

FDA: food and drug administration

ANVISA: agência de vigilância sanitária

NAD: nicotinamida adenina dinucleotídeo

NADP: nicotina adenina dinucleotídeo fosfato

PS: fosfatidilserina

CD36: receptor da trombospondina

BCAM/LU: molécula de adesão celular basal

## 1. Introdução

A doença falciforme (DF) tem origem genética e possui como característica principal a deformação de eritrócitos, onde em indivíduos saudáveis essas células possuem um formato discóide e bicôncavo, mas na DF essas células vão apresentar a forma de foice. Essa alteração nociva à saúde ocorre devido a uma mutação genética específica no ácido desoxirribonucleico (DNA) do cromossomo 11, tendo a base nitrogenada adenina substituída por outra base nitrogenada chamada timina (GAG para GTG), resultando assim a troca do ácido glutâmico pela valina. (BRASIL, 2009). A baixa tensão de oxigênio oriunda de algumas situações, a hemoglobina S (HbS) polimeriza dentro das hemácias, em consequência da troca das bases nitrogenadas, gerando a formação de um “gel” e juntando-se a inúmeros polímeros fibrosos que possuem a capacidade de alterar a conformação das células, tendo como resultado hemácias rígidas e sem formato saudável, podendo lesar a estrutura da membrana, levando à hemólise. As células falciformes produzidas podem bloquear o fluxo sanguíneo em capilares, o que provoca a hipóxia e anóxia de diversos tecidos. Tal fato promove dor ao indivíduo, interação de células falciformes com o endotélio vascular que podem gerar vaso oclusão, trombos, formação de tecido fibroso, principalmente na medula óssea e baço, e eventualmente a morte das células das áreas afetadas pelo bloqueio. (CHAMPE et al, 2006; MARQUES et al, 2012; SAMUEL RE et al, 1990).

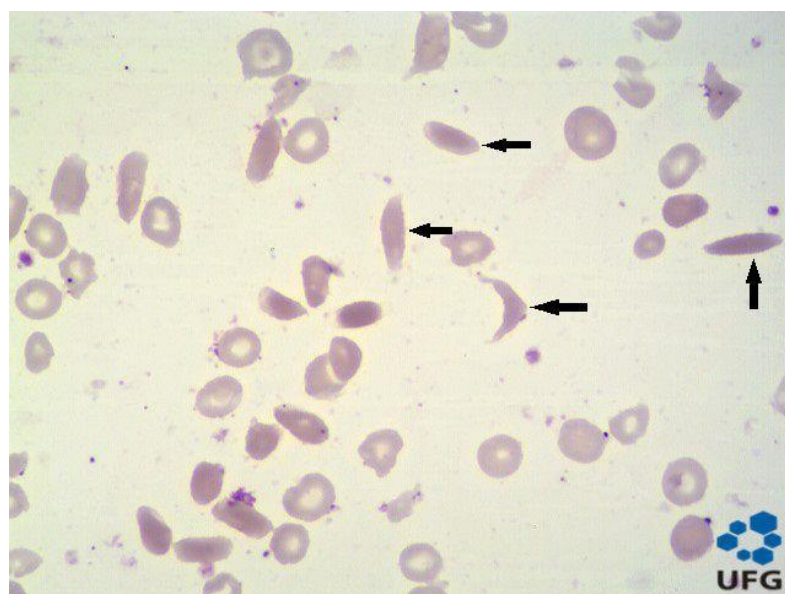


Figura 1 – Microscopia de sangue periférico. As setas mostram drepanócitos – Adaptado de Atlas de Hematologia – UFG

A hemoglobina (Hb), proteína que tem como função o transporte de oxigênio pelo corpo humano, encontra-se nos eritrócitos. A Hb humana possui 2 pares de polipeptídicos diferentes chamados de cadeias alfa ( $\alpha$ ) e beta ( $\beta$ ) de globina, o que caracteriza um tetrâmero. (TURNPENNY e ELLARD, 2017)

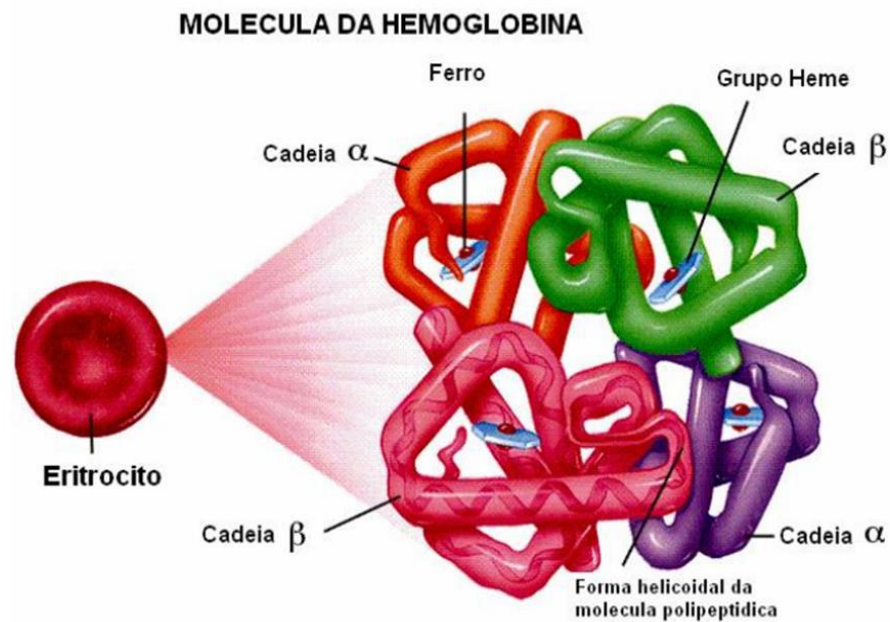


Figura 2 - hemoglobina adulta - Demonstração da estrutura quaternária da Hb, tendo quatro cadeias polipeptídicas, duas cadeias  $\alpha$  e duas cadeias  $\beta$ . Cada cadeia polipeptídica contém um grupo prostético heme ao qual se liga o oxigênio, o que forma o tetrâmero da hemoglobina. – Adaptado de Cátedra de Bioquímica – Facultad de Medicina UNNE, 2008.

Os genes compreendidos na criação das cadeias globínicas são ordenados por agrupamentos presentes nos cromossomos 16 e 11. Em uma parte do DNA de 35kb presente no braço curto do cromossomo 16 estão presentes os genes importantes para síntese da Hb: o gene zeta ( $\xi$ ), que codifica a cadeia globínica zeta, dois pseudogenes ( $\psi\xi$  e  $\psi\alpha$ ) e os genes alfa 1 ( $\alpha 1$ ) e alfa 2 ( $\alpha 2$ ), estes por sua vez codificam as cadeias globínicas alfa. (NETO; PITOMBEIRA, 2003)

No cromossomo 11, os genes importantes para a formação da hemoglobina são: os genes  $\epsilon$  (épsilon), gama glicina- $\gamma$  G, gama adenina-  $\gamma$  A, um pseudogene  $\psi\beta$  e os genes  $\delta$  (delta) e  $\beta$  (beta). (BONINI-DOMINGOS et. al., 1997).

Desde a fase embrionária até a fase adulta há produção de hemoglobinas distintas. Em indivíduos adultos saudáveis, as hemácias são compostas por, aproximadamente, 97% de Hb A1 3% A2 e 0,5% de Hb fetal. (NETO; PITOMBEIRA, 2003).

Tipo de hemoglobina	Período preponderante de síntese	Cadeias globínicas
Gower-1	Embrião/até 3º mês de gestação	$\xi_2\varepsilon_2$
Portland	Embrião/até 3º mês de gestação	$\xi_2\gamma_2$
Gower-2	Embrião/até 3º mês de gestação	$\alpha_2\varepsilon_2$
Hb Fetal	Feto/até 6º mês de vida	$\alpha_2\gamma_2$
HbA <sub>2</sub>	Feto/vida adulta	$\alpha_2\delta_2$
HbA	Vida adulta	$\alpha_2\beta_2$

Figura 3 - quadro com a representação dos diferentes tipos de Hb de acordo com seu principal período de produção e composição de cadeia globínica. Adaptado de NETO; PITOMBEIRA, 2003.

Existem quase 600 variantes de hemoglobina descritas, mas poucas estão correlacionadas com manifestações clínicas e alterações hematológicas. A HbS é o melhor exemplo de alteração sanguínea culminando em um evento clínico. (OSÓRIO; ROBINSON, 1993).

A DF possui uma ampla variabilidade de gravidade quanto ao quadro clínico, mas a anemia falciforme ou homozigose da hemoglobina S (HbSS) possui destaque. Os eventos clínicos provenientes da doença são muito variáveis entre os indivíduos portadores da mutação genética, podendo ocorrer a manifestação da patologia logo pelo primeiro ano de vida ou mais tardiamente. Dessa forma, o diagnóstico precoce é importante para controle do impacto da doença na saúde do paciente. (BRASIL, 2009; SILVA, 2006)

Fatores genéticos, como haplótipos e fatores ambientais, como nível socioeconômico, possuem o poder de influenciar diretamente a variabilidade clínica do paciente. Dados do IBGE demonstram que a população de etnia negra é a que possui menor poder socioeconômico, além de ser a mais afetada devido a afro

descendência e a falta de preparo especializado por parte de alguns profissionais da saúde aos pacientes portadores da HbSS agrava todo o quadro, provocando mais sofrimento. (FRY, 2005)

Dessa forma, a DF afeta vários aspectos da vida do indivíduo, como relações conjugais, interações sociais, vida educacional e profissional. Apesar da doença ainda ser incurável, muitas das suas manifestações e complicações possuem tratamento e prevenção, o que pode propiciar às pessoas com DF maior expectativa de vida. (BRASIL, 2009)

Medidas inovadoras de intervenções curativas e remediadoras têm sido propostas, como a utilização da tecnologia de edição genética intitulada como CRISPR. Em ensaios *in vitro*, a técnica foi capaz de corrigir a mutação causadora da anemia falciforme em células-tronco hematopoiéticas derivadas de paciente (HSPCs, do inglês *hematopoietic stem and progenitor cells*) provocando elevação dos níveis de expressão da hemoglobina fetal (HbF). Porém existem desafios, como evitar toxicidade, evitar efeitos off-target (mutações fora do alvo) e garantir a eficiência em transplante. (ERNST, 2020). É válido ponderar que, níveis altos de HbF reduzem a incidência de certos sintomas da anemia falciforme, por exemplo: crises dolorosas, síndrome torácica aguda e osteonecrose, porém não há associação à proteção contra acidente vascular cerebral (AVC), hipertensão pulmonar ou priapismo. A HbF possui a capacidade de aumentar a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, gerando a despolimerização da hemoglobina polimerizada. Quanto maior a concentração de HbF, menor será a concentração de HbS. Alguns medicamentos estimulam a produção de HbF, como a hidroxiureia. A HbF possui como principal ação, benefícios sobre fenótipo de viscosidade-vaso-oclusão. (KATO GJ, 2007; MARTIN H. STEINBERG et al, 2014).

## 2. Características demográficas da doença falciforme

É proposto, segundo dados antropológicos e análises de biologia molecular, que o alelo mutante responsável pela produção de hemoglobina S surgiu a partir da redução do estilo nômade de se viver, há aproximadamente, 50 ou 100 mil anos entre populações asiáticas e africanas, com predomínio no continente africano. (TORRES, BONINI-DOMINGOS, 2005). A partir dos primeiros assentamentos agrícolas, a população

se concentrou em determinada região, já que teriam muitos dos requisitos necessários para se viver, dessa forma, a malária (doença infecciosa febril aguda) tornou-se endêmica e quem tinha o traço falciforme tornava-se mais apto a situação, sendo mais resistente a malária. Assim, a reprodução entre membros de um mesmo grupo, com a carga genética da DF culminou com a elevação de sujeitos com a patologia. A origem e maior incidência da HbS é no continente africano, majoritariamente, em regiões equatoriais e subsaarianas, especificamente ao norte do deserto de Kalahari, que teve até como função ser barreira natural para expansão do *Plasmodium Falciparum*, protozoário parasita responsável pela malária em seres humanos. (BRASIL, 2009). 90% das pessoas com doença falciforme estão em três países, Nigéria, Índia e República Democrática do Congo. Aproximadamente, 2% da população desses países possuem a doença e de 10% a 30% possuem o traço falciforme. Só na Nigéria, nascem anualmente, 150.000 crianças com DF. A falta de programas federais referentes a triagem de recém-nascidos são um grande desafio no acolhimento e tratamento dos indivíduos com DF. (TSHILOLO L et al., 2008; PIEL FB et al., 2013; ODAME I et al., 2014 ; KADIMA et al., 2015)

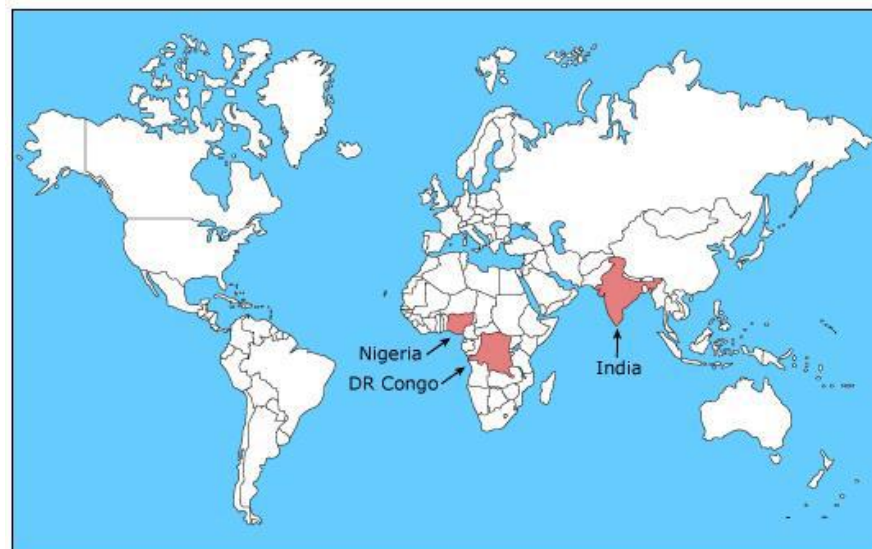


Figura 4 - países com maior incidência de doença falciforme – Adaptado de MICHAEL R DEBAUN, 2022

No Brasil, aproximadamente, 4% dos cidadãos possuem traço falciforme (heterozigose simples) e 25.000 a 50.000 possuem a doença no estado homozigótico (SS – anemia falciforme) ou na condição de heterozigotos compostos ou duplos, como hemoglobina SC ou SE, que são variantes raras de doença falciforme. Dessa forma,

segundo dados do Ministério da Saúde, estima-se que varie de 60.000 a 100.000 casos de DF anualmente, sendo mais predominante no norte e nordeste do país e de acordo com a coordenação da Política Nacional de Atenção Integral às Pessoas com DF do Ministério da Saúde, instituída no âmbito do SUS pela Portaria GM/MS nº 1.319/2005, é considerada como um problema que requer medidas de saúde pública. (BRASIL, 2018).

### 3. Fisiopatologia

As complicações clínicas causadas pela DF são vastas, podendo se configurar em complicações agudas e crônicas, como as crises vaso-oclusivas e anemia hemolítica, e situações de emergência são frequentes em indivíduos com a doença durante suas vidas; as causas mais comuns são: crises dolorosas, febre, acidente vascular cerebral (AVC), sequestro esplênico e priapismo. (BRASIL, 2002). Eventos mais críticos também ocorrem e necessitam de atenção, como: síndrome torácica aguda e infecções. Essas ocorrências impactam, negativamente, o cotidiano dos doentes e gera uma expectativa de vida consideravelmente inferior a essa população. (BRUNETTA et al, 2010). A partir da hemólise origina-se a anemia hemolítica, tanto intravascular como extravascular, o que provoca inúmeras consequências negativas, como, icterícia, cálculos biliares e até atraso no desenvolvimento corporal. A hemólise acarreta na expressão da enzima arginase, responsável pela degradação do substrato necessário para a síntese de óxido nítrico (NO), a L-arginina, provoca uma queda da produção de NO pela enzima óxido nítrico sintase (NOS). (HALLMARK et al., 2021). Segundo levantamento bibliográfico, pacientes com DF e elevada concentração plasmática de heme, tiveram menor biodisponibilidade local de NO, sendo observado além dessa redução, diminuição do fluxo sanguíneo, demonstrando que a redução de NO conseqüentemente gera menor capacidade vasodilatadora ao paciente. (REITER et al., 2002).

A redução da biodisponibilidade de NO em indivíduos com DF acarreta em inúmeras complicações da doença. Os baixos níveis de NO geram quadros de vasoconstrição e lesão endotelial, provocando o aumento de espécies reativas de oxigênio (ROS). (DOSUNMU-OGUNBI et al, 2019). A vasoconstrição provocará quadros vaso-oclusivos, principalmente em capilares, com acúmulo de eritrócitos falciformes, levando a obstrução do fluxo sanguíneo que conseqüentemente provocará hipóxia



para os tecidos vizinhos. Tais eventos acarretam ao indivíduo fortes dores e também, em alguns casos, isquemia, recrutamento de neutrófilos e monócitos, o que resulta em uma severa resposta inflamatória. (ENGWA et al, 2021).

O aumento da polimerização na DF está relacionado com a concentração de hemoglobina nos eritrócitos, hemoglobinas variantes, temperatura e pH. O quadro de desidratação provoca o aumento da concentração de hemoglobinas, agilizando todo o processo referente a polimerização, o que acarreta falcização e rigidez dos eritrócitos, tendo como resultado a perda da capacidade de deformabilidade das hemácias. (KATO et al, 2018; LONERGAN, CLINE, ABBONDANZO, 2001).

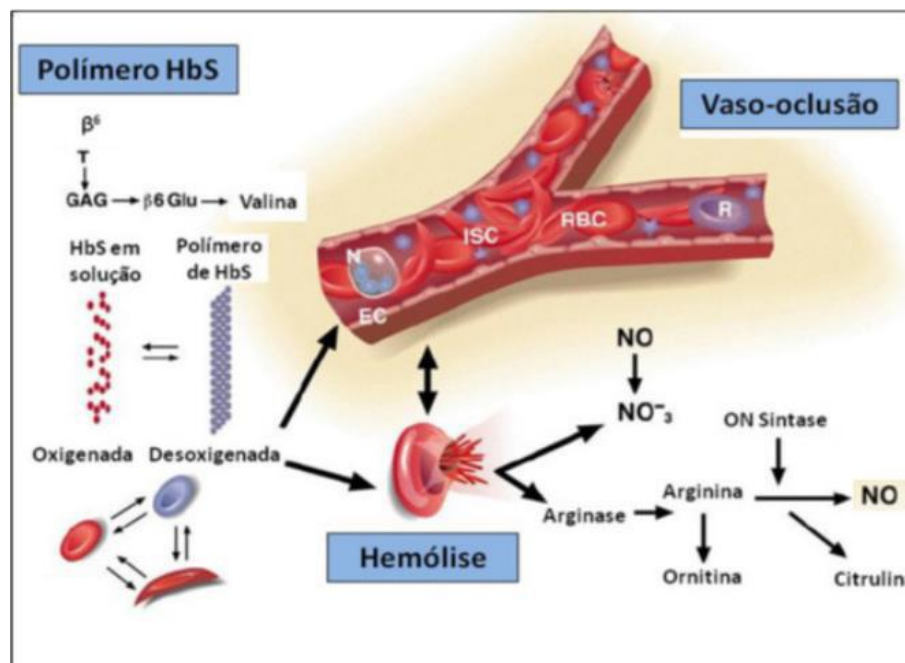


Figura 4 - fisiopatologia da anemia falciforme. Mutação na 6<sup>a</sup> posi o no gene da globina  $\beta$ , levando a forma o da HbS, que sofre uma polimeriza o em baixas concentra o de oxigênio. O polímero de HbS danifica o eritrócito, diminuindo sua vida útil (hemólise) e aumentando o consumo de óxido nítrico (NO), além de promoverem uma vaso-oclusão. – Adaptado de STEINBERG, 2008.

A hemácia que cont m a HbS pode apresentar desregula o na ativa o do canal de gardos, que   um canal de efluxo de  $K^+$  ativado pelo aumento do  $Ca^{2+}$  intracelular. Esse canal   afetado no indivíduo com DF, principalmente, pelo maior número de moléculas ligadas a eventos trombóticos como o fator ativador de plaquetas e a citocinas pró-inflamatórias oriundas da fisiopatologia da enfermidade.



(RIVERA A et al., 2002). Em um quadro de vaso oclusão, essa elevação exacerbada terá impacto, também, no aumento de crises, o que favorece a desidratação das hemácias devido a maior liberação de  $K^+$ , o que provoca elevação da concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e formação de agregados de HbS. É válido ressaltar que altas concentrações de  $Ca^{2+}$  eleva a externalização da fosfatidilserina, o que contribui para agregação de hemácias, aumento de adesão intercelular e fagocitose de células apoptóticas e células adjacentes por macrófagos. (WANG et al, 2021). O ácido lisofosfatídico (LPA) tem a capacidade de ativar uma via de sinalização em hemácias humanas, que eleva o conteúdo de  $Ca^{2+}$  intracelular. (YANG et al, 2000).

Indivíduos falciformes possuem maior incidência de problemas relacionados à circulação arterial, sendo um fator relevante para situações como, acidente vascular cerebral, embolia pulmonar e infarto do miocárdio. Tais quadros estão relacionados com o aumento da intensidade de coagulação. Esses pacientes apresentam níveis elevados, no geral, de protrombina no plasma (proteína que realiza conversão de fibrinogênio em fibrina), quando comparados com pacientes saudáveis e as referências consultadas demonstram que essa elevação ocorre independentemente do nível de exposição de fosfatidilserina pelas hemácias. (SPARKENBAUGH E PAWLINSKI, 2017). O potencial de deformabilidade dos eritrócitos em condição de hipóxia, diminui devido ao aumento da polimerização, além de interferir na permeabilidade da rede de fibrina, o que torna os coágulos mais resistentes à lise por agentes fibrinolíticos. Estudos *in vivo* sugerem que o coágulo de fibrina, formado com hemácias falciformes, gera mais matriz de fibrina heterogênea, que é mais agregada do que hemácias saudáveis. (FAES et al., 2019)

O processo de envelhecimento eleva as lesões provocadas ao sistema nervoso central pelos drepanócitos em indivíduos falciformes. A incidência do primeiro caso de acidente vascular cerebral é de 500 a 1280 por 100.000 pessoas com anemia falciforme em comparação com 12 casos por 100.000 pessoas em afrodescendentes com menos de 35 anos. (KASSIM AA. et al., 2016; STROUSE JJ. et al, 2009). O AVC em indivíduos falciformes é 30 vezes mais prevalente quando se comparado com indivíduos sem a doença. Uma análise de dados de pacientes na Califórnia demonstrou uma taxa elevada de casos em pacientes falciformes, sendo 56% derrame isquêmico, 24% intracerebral e 20% hemorragia subaracnóidea. (PAULUKONIS ST. et al., 2004).

Pacientes adultos com DF têm perda volumosa progressiva da matéria cinzenta e branca em regiões cerebrais críticas independentes de casos de infarto. Em comparação com indivíduos sem DF, os adultos com DF têm perda de volume nos lobos frontal, parietal, temporal; tálamo; e gânglios da base. Estudos no tocante a perfusão, indicam que muitas dessas áreas atrofiadas diminuíram a perfusão, principalmente em pequenos vasos sanguíneos. (MACKIN RS. et al., 2014; DEUS-SILVA L. et al., 2013).

A DF provoca um estado inflamatório crônico em seus pacientes, como adesão de eritrócitos, monócitos, granulócitos e plaquetas ao endotélio vascular, produção de intermediários inflamatórios, como as citocinas e alterações do metabolismo de óxido nítrico, todos estes que se interligam e se retroalimentam, gerando um ciclo inflamatório. (MCINTYRE TM, 2003). É sabido nas ciências da saúde, que o endotélio vascular possui função primordial no processo de inflamação e de vaso oclusão. A hemólise, aumentada em indivíduos falciformes, promove a liberação de hemoglobina livre e arginase, enzima responsável por degradar o substrato para a síntese do óxido nítrico. (KATO; GLADWIN; STEINBERG, 2007). O sequestro e a depleção de NO promove diminuição local desta molécula e vasoconstrição, evento que atrasa o fluxo sanguíneo e contribui para a falcização de hemácias. Além da produção de NO, células endoteliais aumentam a síntese de endotelina-1, um peptídeo de 21 resíduos de aminoácido, com ação pró-inflamatória, capaz de elevar a concentração de citocinas como IL-1, IL-6, IL-8, entre outras e vasoconstritora e vasodilatadora de grandes e pequenas artérias e veias. Diante de um processo inflamatório, neutrófilos são atraídos para o sítio inflamatório, o que eleva a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS, do inglês *Reactive Oxygen Species*) e expõem moléculas de adesão (PS, CD36, CD47, CD49d e BCAM/LU) em sua superfície em maior quantidade, promovendo e facilitando o acúmulo de neutrófilos, plaquetas e hemácias falciformes. (ZAGO et al, 2008). A busca por compreensão da fisiopatologia da DF é de suma importância para amenizar crises decorrentes das complicações descritas, gerando melhor qualidade e expectativa de vida para os pacientes com a doença falciforme.

#### 4. Diagnóstico

Na doença falciforme o diagnóstico precoce é de suma importância para o devido acompanhamento e assistência de saúde qualificada ao indivíduo e sua família. A expectativa de vida de pacientes falciformes em países desenvolvidos é de,

aproximadamente, 50 anos. Já em países subdesenvolvidos, 90% das pessoas com tal distúrbio genético sanguíneo morrem antes do término da primeira infância. Essa diferença abrupta se dá por meio dos cuidados aplicados, como diagnóstico precoce e acompanhamento adequado, todavia, apenas países mais ricos podem fornecer auxílio ideal nesse processo. (GRAVITZ et al., 2014).

A análise da hemoglobina é primordial para o diagnóstico da doença, que geralmente se dá por meio de cromatografia ou eletroforese de proteínas, sendo técnica de baixo custo de aplicação e com alta disponibilidade pelos países. A espectrometria de massa e análise de DNA vêm ganhando espaço pelo mundo no diagnóstico da doença devido aos resultados satisfatórios. (REES et al, 2010).

O Brasil tem preconizado, logo na primeira semana de vida, o Teste do Pezinho, que utiliza o método de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) ou o método de focalização isoelétrica (IEF). É válido ressaltar que esses métodos de diagnóstico são oferecidos, gratuitamente, pelo SUS (Sistema Único de Saúde).

## 5. Tratamento

No Brasil, o tratamento para a DF é através do fármaco Hidroxiureia em concomitância com outros paliativos como a suplementação com ácido fólico, administração de penicilina via intramuscular, antibióticos, analgésicos e anti-inflamatórios. (BRASIL, 2014).

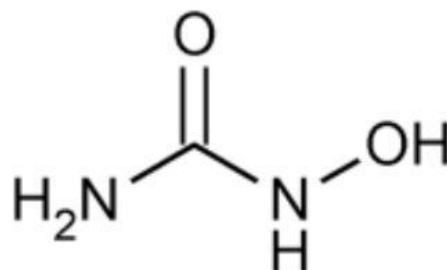


Figura 5 - estrutura molecular da hidroxiureia (Adaptado de Hidroxiureia. Bristol-Myers Squibb Farmacêutica)

A hidroxiureia tem como mecanismo de ação induzir a síntese de HbF, porém o que se sabe até o atual momento, é que a produção de HbF promove a redução da concentração de HbS como já descrito anteriormente. Sendo assim, a formação de polímeros diminui, reduzindo conseqüentemente o número de eritrócitos falcizados e reduzindo os eventos vaso-oclusivos, ou seja, a passagem de hemácias por vasos sanguíneos é facilitada. É importante ponderar também que a HbF tem associação com diminuição de crises de dor aguda, aumento da oximetria, o que gera diminuição na taxa de hemólise e também redução de úlceras em membros inferiores. (STEINBERG et al., 2020).

A terapia transfusional que consiste na transfusão de sangue ou de um dos seus componentes de uma pessoa saudável (um doador) para uma pessoa não saudável (um receptor), também é utilizada com a finalidade de diminuir a carga de células falciformes, conferindo-lhe assim maior capacidade no transporte de oxigênio pelo corpo devido ao maior número de eritrócitos saudáveis. A transfusão pode ocorrer de duas maneiras, através da transferência de hemácias do doador sem retirar do receptor e a exsanguineotransfusão, onde ocorre a remoção do sangue do paciente seguido da transfusão de hemácias. (HAN et al., 2021)

Embora a transfusão sanguínea tenha o potencial de amenizar o quadro clínico do paciente com a DF, ela possui alguns obstáculos relacionados a aloimunização, onde pode ocorrer a formação de anticorpos quando há a exposição do indivíduo a antígenos não próprios. (ALVES PINTO et al., 2011). Tal procedimento pode gerar doenças agudas retardadas, além de limitar a compatibilidade desse indivíduo a transfusões futuras, caso necessário. É constatado o aumento de aloimunização em pacientes com DF devido ao grande número de doadores racialmente incompatíveis. (DESAI et al., 2015). Segundo a literatura, variantes específicas de Rh são mais vistas em indivíduos afrodescendentes e pacientes desenvolveram aloanticorpos mesmo tendo tido resultado de teste positivo para esses antígenos em estudos sorológicos. (CHOU et al., 2013). A aloimunização possui fatores de riscos adicionais como, idade avançada do paciente na primeira transfusão, sexo feminino e número de transfusões realizadas. (BAUER et al., 2007). Esses dados expõem cuidados necessários no processo de transfusão, demonstrando a necessidade de checagem de compatibilidade de eritrócitos com pacientes destinados ao procedimento, o que previne o desenvolvimento de aloanticorpos. (CHOU et al., 2016).

Em 2017 a Food and Drug Administration (FDA) e em 2019 a Agência de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprovaram a utilização da L-Glutamina para a DF (DANTAS MORAES FREIRE et al, 2020). A L-Glutamina tem o potencial de síntese da nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e nicotina adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), responsável pela diminuição da ação de ROS, muito frequente na DF. A utilização do aminoácido promove o aumento da razão NAD redox em células falciformes, o que promove melhora do quadro clínico. (MINNITI et al., 2018).

O princípio ativo crizanlizumabe, recentemente aprovado, obteve resultados interessantes diante da DF. Ataga e colaboradores no ano de 2017, conduziram um estudo randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Os pacientes que utilizaram o fármaco, que é um anticorpo monoclonal humanizado contra a molécula de adesão P-selectina, proteína que promove a adesão de leucócitos ao endotélio vascular, gerando processo inflamatório, tiveram redução das crises de dor. O seu mecanismo de ação consiste na ligação do anticorpo monoclonal a P-selectina em células endoteliais e plaquetas, levando ao bloqueio com o ligante 1 da glicoproteína da P-selectina. (ATAGA et al., 2017). Como as crises vaso-oclusivas são responsáveis por uma considerável parcela de morbidade e mortalidade na doença falciforme, a utilização do fármaco pode auxiliar no tratamento da doença com o intuito de reduzir tal processo nocivo. (TURHAN et al., 2002).

O Oxbryta, princípio ativo voxelotor, tem como mecanismo de ação o estabelecimento de uma ligação covalente reversível com a valina N-terminal da cadeia  $\alpha$  da Hb e modula a sua afinidade por oxigênio, que uma vez oxigenada, previne o processo de falcização do eritrócito. Ele foi aprovado pela FDA em 2019 e obteve nos testes boa tolerância, perfil farmacocinético linear e meia-vida com variação de 61 horas a 85 horas. Ele foi capaz de elevar os níveis de hemoglobinas saudáveis, reduzir os índices de hemólise de forma dose-dependente, diminuir os impactos negativos oriundos do processo de hemólise, inibir a falcização de eritrócitos, diminuir viscosidade sanguínea e conseqüentemente o risco de anemia e hemólise. Em relação a efeitos adversos, alguns pacientes tiveram diarreia, náuseas e vômitos, porém não se pode afirmar que são oriundos do tratamento com o fármaco. (SILVA et al., 2021).

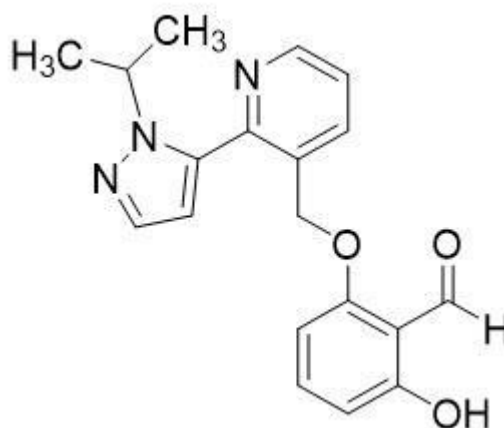


Figura 6 - estrutura molecular do fármaco voxelotor – Adaptado de Dailymed

Muitas pesquisas estão sendo realizadas pelo mundo com o objetivo de analisar os papéis dos eventos que causam a fisiopatologia da doença como, inflamação crônica, ativação de células endoteliais, polimerização da HbS, hemólise intravascular e redução da biodisponibilidade de NO. Esses trabalhos são importantes para o aumento do número de fármacos que atuam contra a fisiopatologia da DF e que, principalmente, possibilitem tratamentos com custo de aplicação mais acessíveis.

## 6. Objetivos

### 6.1 - Objetivo Geral

Discorrer sobre a doença falciforme e demonstrar a relação da endotelina-1 com a fisiologia do eritrócito falciforme.

### 6.2 - Objetivos específicos

Apresentar argumentos para a utilização dos antagonistas de receptores de endotelina-1 diante da baixa variedade de fármacos para o tratamento da doença falciforme e o alto custo de aquisição dos mesmos.

## 7. Metodologia

Esse trabalho de conclusão de curso é uma revisão sistemática da literatura realizada de agosto a dezembro de 2022, fundamentada em artigos selecionados

segundo as bases de dados PubMed – NCBI (National Center for Biotechnology Information), Google Acadêmico e Scielo (Scientific Electronic Library Online).

Para a busca dos artigos nas plataformas, foram feitas com os seguintes descritores: “sickle cell disease”, “receptor antagonist endothelin-1” e “endothelin-1”. A partir desses descritores, foram feitas as seguintes combinações “*sickle cell disease AND endothelin-1*” e “*receptor antagonist endothelin-1 AND sickle cell disease*”. As combinações foram separadas pelo operador booleano “AND”, o que garantiu a inclusão de todos artigos relacionados ao tema. Foram encontrados 114 resultados dos quais 92 foram selecionados a partir de leitura e correlação com o tema proposto. Dos 22 artigos excluídos no processo de seleção, 13 não estavam disponíveis na íntegra, 6 não correlacionavam a endotelina-1 com a fisiopatologia da DF e 3 se tratavam de revisões narrativas.

Também foi utilizado o site do Ministério da Saúde do Brasil, um livro de histologia, para auxílio na fundamentação teórica e um artigo do nosso grupo de pesquisa que foi aprovado, porém ainda não publicado.

## 8. Resultados e Discussões

### 8.1 Endotelina-1

A endotelina-1 (ET-1), peptídeo com alta potência vasoconstritora, chegando a ser dez vezes mais potentes do que a angiotensina II, possui fundamental importância em processos moleculares relacionados a manutenção do tônus vascular e tem destaque também a nível patológico. Ela e seus receptores estão presentes em diversas enfermidades, principalmente onde o processo de vasoconstrição e proliferação celular excessiva estão envolvidos, além disso possui função reguladora sobre deposição de colágeno e matriz extracelular. (YANAGISAWA M. et al. 1988; ROSSI GP et al., 2006).

Codificada por genes no cromossomo 6, ela é abundante no endotélio, o que até contribui para a sua nomeação, porém ela também é produzida em outros tipos celulares, como células tubulares renais, neurônios simpáticos pós-ganglionares, neurônios do sistema nervoso central, macrófagos, monócitos e também é produzida por células musculares lisas vasculares. (INOUE A. et al., 1989; SCHNEIDER MP et al., 2007).

A ET-1 é sintetizada a partir da pré-pro-endotelina-1, que é convertida em pró-endotelina-1 pela enzima endopeptidase tendo como resultado final, a partir da ação da enzima conversora de endotelina (ECE), a ET-1. (YANAGISAWA et al., 1988). A conversão de proendotelina-1 pra ET-1 ocorre, majoritariamente, no plasma, porém forma madura de ET-1 já foi encontrada no interior do citoplasma de células endoteliais humanas, o que sugere possível conversão no interior da célula. (SUZUKI et al., 1989; HOWARD et al., 1992). Liberada no lúmen dos vasos a partir do endotélio, a ET-1 age tanto de forma autócrina como parácrina, não havendo evidências de ação endócrina (WAGNER OF et al., 1992). Ela possui *clearance* rápido, principalmente no pulmão, tem uma meia-vida de 1 minuto e efeitos pressóricos mantidos por 1 hora, aproximadamente. (SIRVIO ML et al., 1990; VIERHAPPER H et al., 1990). Geralmente, detecta-se pequena quantidade no plasma, em níveis não correlacionados com a sua atividade, pois acabam representando o excesso das moléculas que não se ligaram aos receptores teciduais. (MOTTE S et al., 2006).

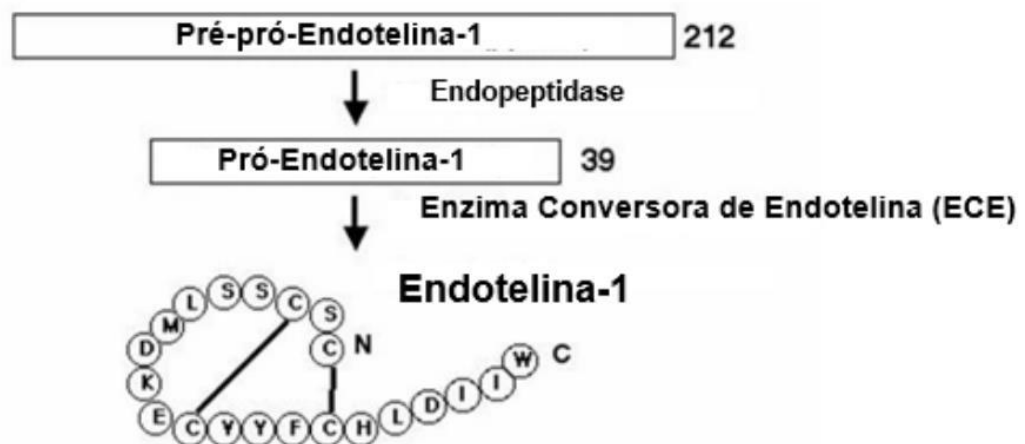


Figura 7 – biossíntese, sequência de resíduos de aminoácidos e estrutura da endotelina – Adaptado de FAGAN, 2001

A ET-1 também está envolvida em alterações cardíacas. Ito H e colaboradores no ano de 1994, sugeriram através de estudo *in vitro*, que ela pode atuar como estimuladora do crescimento de miócitos cardíacos e outro estudo *in vivo*, feito por Shubeita HE e colaboradores em 1990, foi demonstrado que a sua elevada concentração no soro de ratos contribuíram para o desenvolvimento de hipertrofia cardíaca. (ITO H et al., 1994; SHUBEITA HE et al., 1990).



## 8.2 - Endotelina-1 e a Doença Falciforme

A endotelina-1 (ET-1) é um peptídeo de 21 aminoácidos produzido a partir de uma vasta variedade de tipos celulares pelo corpo humano e exerce o seu papel interagindo com dois subtipos de receptores distintos acoplados à proteína G, o receptor de endotelina A (ETA) e o receptor de endotelina B (ETB) que são codificados por dois tipos de genes encontrados no cromossomo 4 (4q31.2) e 13 (13q22), respectivamente. (SAKURAI T et al., 1992). Até um passado recente, a ET-1 era identificada apenas como um vasoconstritor, porém com o avanço da ciência sobre o tema, foi lhe conferida outras ações como peptídeo pró-inflamatório, mitogênico (ação de proliferação celular, desencadeador de mitose), natriurético (efeito sobre a regulação da pressão sanguínea e da homeostase do fluido corporal) e mediador nociceptivo. (KOWALCZYK A. et al, 2014; ROSANÒ L. et al, 2013; SPEED JS et al, 2015). A ET-1 é sintetizada em maior escala em situações de hipóxia, estresse oxidativo e trombose. Todas essas muito comuns na DF. (KOUREMBANAS S. et al,1991; KÄHLER J. et al, 2001; SCHINI VB. et al. 1989). Em 1995, Phelane colaboradores, publicaram a primeira evidência que correlaciona a ET-1 e a DF através de artigo que analisou a interação de células endoteliais a hemácias falciformes, provocando o aumento da síntese de ET-1. Posteriormente artigos foram publicados demonstrando aumento dos níveis de ET-1 no plasma e na urina em indivíduos falciformes. (RYBICKI AC. et al., 1998; THARAUX PL. et al, 2005). O aumento da síntese de ET-1 e óxido nítrico tem correlação com polimorfismo genético de indivíduos com DF e esse fato tem o poder de modular o estado de gravidade do paciente. Juntos, esses dados demonstram que altos níveis de ET-1 são um biomarcador do estágio da DF. (FOX BM et al., 2016). Com isso, inúmeros laboratórios pelo mundo investigam os mecanismos pelos quais a ET-1 afeta a fisiopatologia da DF.

Os receptores de ET-1 possuem ações variadas e se localizam, predominantemente, em áreas distintas. O ETA é localizado, de forma abundante, nas células musculares lisas vasculares, onde sua ativação gera o aumento de cálcio intracelular, provocando contrações de longa duração. (MAXWELL MJ et al, 1998). Já ETB, é encontrado de forma abundante em células endoteliais e promove a liberação de NO, o que leva ao relaxamento das células musculares lisas vasculares. (TIRAPELLI CR et al, 2005). Apesar das posições distintas mencionadas, esses receptores também se apresentam em várias células juntamente, como células

endoteliais cardíacas, astrócitos, células epiteliais do plexo coróide e na pituitária anterior, respectivamente localizadas nos vasos sanguíneos, coração e sistema nervoso central. (HORI S. et al, 1992; HENRY PJ. et al, 1993; HASSELBLATT M. et al, 1998; ANGELOVA K. et al, 1997; HARADA N. et al, 2002; JACQUES D et al, 2005).

Como a ET-1 é sintetizada por células endoteliais e possui considerável sensibilidade a lesão, ela pode ser encontrada no plasma de pacientes com anemia falciforme. Os eventos vaso-oclusivos podem ser agravados quando há aumento da síntese da ET-1, diminuindo o diâmetro de vasos e comprometendo o fluxo sanguíneo. (LISTA W. et al., 2022). Segundo a bibliografia, o aumento da concentração no plasma de ET-1 está relacionado ao aumento de adesão de hemácias ao endotélio e a tensão de cisalhamento. Em 2010, Foller e colaboradores, demonstraram a expressão de receptores ETB na membrana de hemácias de camundongos alterados geneticamente para a doença falciforme. (FOLLER et al, 2010). Em outra pesquisa realizada em 2007 por Rivera e seu grupo, foi analisada a desidratação dos eritrócitos através da ativação de receptores de ET-1. A ativação do Canal de Gardos também foi observada e diante de antagonistas dos receptores ETA e ETB, o canal teve uma menor atividade. O que sugere que o uso de antagonistas, produz inibição ainda mais contundente nas atividades do canal de gardos. (RIVERA et al., 2007).

A proteína dissulfeto isomerase (PDI), que está presente nas membranas de eritrócitos humanos e é responsável por catalisar reações de troca de dissulfeto, colaborando assim com a troca aleatória das ligações dissulfeto nas proteínas até que alcancem seus pares dissulfetos nativos, quando bloqueadas seletivamente por anticorpos monoclonais contra PDI, geram redução da atividade do canal de gardos e consequentemente diminuição da densidade de eritrócitos falciformes. A ET-1 também possui efeito sobre a atividade da proteína quando os receptores ETB são ativados. Dessa forma, mais estudos são necessários para esclarecer a existência de um complexo PDI-Gardos e sobre a função de PDI em relação a regulação de hidratação de eritrócitos, estresse oxidativo e adesão celular que culmina em eventos vaso-oclusivos. (PRADO GN et al., 2013).

A DF promove, comumente, a nefropatia falcêmica a partir da existência, na infância, da anemia crônica, fluxo sanguíneo aumentado e eventos oclusivos intraparenquimatoso. Dessa forma, utilizando camundongos geneticamente

modificados para a doença falciforme, Kasztan e colaboradores demonstraram que a administração de um antagonista do receptor ETA (ambrisentan) iniciado durante a época de desmame até completar 10 semanas, evitou disfunção glomerular, inflamação e lesão estrutural dos rins e que também o fármaco impediu inflamação do túbulo-intersticial e fibrose. Porém a utilização de um antagonista não seletivo de receptores ETA e ETB não forneceram a mesma nefro proteção, tendo um resultado consideravelmente menor. (NATH KA et al., 2017; MAGALHÃES; ISIS Q., 2008)

Outro estudo feito por Sabaa N. e colaboradores em 2008 utilizando o antagonista não seletivo de ETA e ETB (bosentana) atenuou o processo de vaso-oclusão renal, vasoconstrição e inflamação induzida por hipóxia/reoxigenação. O fármaco também foi capaz de promover a redução da vaso-oclusão e inflamação nos pulmões e mortalidade após estresse hipóxico. (SABAA N. et al., 2008).

Processos fisiopatológicos, como a hipertensão sistêmica, são passíveis de modulação através da administração de antagonistas de ET-1. A utilização de antagonista de receptor de endotelina diante de pacientes com nefropatia diabética tiveram melhora quanto a pressão e espectro lipídico. Antagonizar ETA também promove redução de lipídeos circulantes, redução de proteinúria e redução da pressão arterial. Dessa forma, antagonizar ETA pode promover redução de risco para doença cardiovascular. (ENEVOLDSEN et al, 2020). Antagonistas seletivos de receptores ETB não possuem resultados satisfatórios que os coloquem como protagonistas de abordagens terapêuticas. (DHAUN et al., 2007).

Em 2022, Teixeira-Alves e seu grupo demonstraram que o fármaco bosentana ao antagonizar receptores de ET-1, reduz a polimerização da HbS o que aumenta o potencial de deformabilidade de eritrócitos falcêmicos e gera efeitos protetores ao endotélio e outros órgãos possivelmente afetados em eventos isquêmicos (Teixeira-Alves et al., comunicação pessoal). Essa abordagem é interessante, pois o fármaco bosentana se encontra disponível na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais do SUS, o que aumenta a acessibilidade terapêutica no tratamento contra a DF, principalmente dos mais pobres.

## 9. Conclusão

Diante dos artigos selecionados para compor essa revisão, pode-se deduzir que existe relação da ET-1 na progressão e desenvolvimento da DF, ficando aberto espaço para novas pesquisas com o intuito de elucidar os efeitos da ET-1 em relação a fisiopatologia da DF e descobrir novas abordagens terapêuticas para a doença.

## 10. Referências

- Ministério da Saúde. *Manual de Educação em saúde. Linha de cuidado em doença falciforme*. Brasília: Editora MS, 2009. Disponível em: <[http://https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_educacao\\_saude\\_v2.pdf](http://https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_educacao_saude_v2.pdf)>. Acesso: 04 de setembro de 2022.
- De Franceschi L, Corrocher R. Procedimentos estabelecidos e experimentais para doença falciforme. *Hematológica*. 2004 Mar;89(3):348-56. 15020275.
- Ministério da Saúde. *Protocolo Clínico E Diretrizes Terapêuticas Da Doença Falciforme*. Brasília. Editora: MS, 2018. Disponível em: <[https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt/arquivos/2018/doenca-falciforme-pcdt.pdf/@\\_@download/file/Doen%C3%A7a%20Falciforme%20-%20PCDT.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/pcdt/arquivos/2018/doenca-falciforme-pcdt.pdf/@_@download/file/Doen%C3%A7a%20Falciforme%20-%20PCDT.pdf)>. Acesso: 04 de setembro de 2022
- BRUNETTA, D. M.; CLÉ, D. V.; HAES, T. M.; RORIZ-FILHO, J. S.; MORIGUTI, J. C. Management of acute complications of sickle cell disease. *InCID: Revista de Ciência da Informação e Documentação, [S. l.]*, v. 43, n. 3, p. 231-237, 2010. DOI: 10.11606/issn.2176-7262.v43i3p231-237. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/incid/article/view/180>. Acesso em: 1 de outubro. 2022.
- Zago, Marco Antonio e Pinto, Ana Cristina Silva Fisiopatologia das doenças falciformes: da mutação genética à insuficiência de múltiplos órgãos. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]*. 2007, v. 29, n. 3 [Acessado 5 Setembro 2022, pp. 207-214. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000300003>>
- SILVA, M. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em paciente com Anemia Falciforme. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Programa de Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas. 2006.
- RY, P. H.: O significado da anemia falciforme no contexto da “política racial” do Governo Brasileiro 1995-2004. *História, Ciências, Saúde – Manguinhos*, v. 12, n. 2, p. 374-70, maio-ago, 2005.

- ORLANDO, G. M.; NAOUM, P. C.; SIQUEIRA, F. A. M.; BONINI-DOMINGOS, C. R. Diagnóstico diferencial de hemoglobinopatias em populações diferenciadas. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 22(20):111-121, 2000.
- NETO, G. C. G.; PITOMBEIRA, M. S. Aspectos moleculares da anemia falciforme. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v.39, p.51-56, 2003.
- TURNPENNY, P.; ELLARD, S. *Emery's Genética Médica*. Editora: Elsevier, 408 p., 2017
- OSORIO, B., ROBINSON, W. *Genética Humana*, 3ª edição, editora Artmed, 2013
- ERNST, M. et al. Ready for Repair? Gene Editing Enters the Clinic for the Treatment of Human Disease. *Molecular therapy. Methods & clinical development*, v. 18, p. 532-557, 2020.
- Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: Reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev.* 2007;21(1):37-47.
- McIntyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA. Cell-cell interactions: leucocyte-endothelial interactions. *Current Opinion in Hematology*.2003;10:150-8.
- TORRES, F. R., BONINI-DOMINGOS, C. R. Hemoglobinas humanas: hipótese malária ou efeito materno? *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, São José do Rio Preto, v. 27, n. 1, p. 53-60, mar. 2005. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S15168484200500100013&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S15168484200500100013&lng=en&nrm=iso)>. Acesso em: 1 de outubro de 2022.
- CHAMPE, Pamela C.; HARVEY, Richard A.; FERRIER, Denise R. *Bioquímica*. McGraw Hill, 2006.
- Marques V, Souza RAAR, Ramos LJ, Zan RA, Meneguetti DUO. Revendo a anemia falciforme: sintomas, tratamentos e perspectivas. *Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente*, 2012; 3:39-61.
- Dalhat, Mahmood M et al. "Malaria among sickle cell anaemia (SCA) patients in a nomadic population." *International Journal of Infectious Diseases* 21 (2014): 242-243.

- KATO, G. J.; GLADWIN, M. T.; STEINBERG, M. H. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood*, v. 21, n.1, p.37-47, 2007.
- Kowalczyk A, Kleniewska P, Kolodziejczyk M, Skibska B, Goraca A. The role of endothelin-1 and endothelin receptor antagonists in inflammatory response and sepsis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2015 Feb;63(1):41-52. doi: 10.1007/s00005-014-0310-1. Epub 2014 Oct 7. PMID: 25288367; PMCID: PMC4289534.
- Rosanò L, Spinella F, Bagnato A. Endothelin 1 in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2013 Sep;13(9):637-51. doi: 10.1038/nrc3546. Epub 2013 Jul 25. PMID: 23884378.
- Speed JS, Fox BM, Johnston JG, Pollock DM. Endothelin and renal ion and water transport. *Semin Nephrol*. 2015 Mar;35(2):137-44. doi: 10.1016/j.semnephrol.2015.02.003. PMID: 25966345; PMCID: PMC4499165.
- Phelan M, Perrine SP, Brauer M, Faller DV. Sickle erythrocytes, after sickling, regulate the expression of the endothelin-1 gene and protein in human endothelial cells in culture. *J Clin Invest*. 1995 Aug;96(2):1145-51. doi: 10.1172/JCI118102. PMID: 7635951; PMCID: PMC185305.
- Kourembanas S, Marsden PA, McQuillan LP, Faller DV. Hypoxia induces endothelin gene expression and secretion in cultured human endothelium. *J Clin Invest*. 1991 Sep;88(3):1054-7. doi: 10.1172/JCI115367. PMID: 1885767; PMCID: PMC295521.
- Kähler J, Ewert A, Weckmüller J, Stobbe S, Mittmann C, Köster R, Paul M, Meinertz T, Münzel T. Oxidative stress increases endothelin-1 synthesis in human coronary artery smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001 Jul;38(1):49-57. doi: 10.1097/00005344-200107000-00006. PMID: 11444502.
- Schini VB, Hendrickson H, Heublein DM, Burnett JC Jr, Vanhoutte PM. Thrombin enhances the release of endothelin from cultured porcine aortic endothelial cells. *Eur J Pharmacol*. 1989 Jun 20;165(2-3):333-4. doi: 10.1016/0014-2999(89)90733-4. PMID: 2673802.
- Rybicki AC, Benjamin LJ. Increased levels of endothelin-1 in plasma of sickle cell anemia patients. *Blood*. 1998;92:2594–2596.
- Tharaux PL, et al. Urinary endothelin-1 as a marker of renal damage in sickle cell disease. *Nephrology, dialysis, transplantation* : official publication of the

- European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association. 2005;20:2408–2413. doi: 10.1093/ndt/gfi111.
- Hallmark, Lillian, Luis EF Almeida, Sayuri Kamimura, Meghann Smith, e Zenaide MN Quezado. 2021. "Nitric Oxide and Sickle Cell Disease—Is There a Painful Connection?" *Experimental Biology and Medicine* 246 (3): 332–41. <https://doi.org/10.1177/1535370220976397>.
  - Reiter, Christopher D., Xunde Wang, Jose E. Tanus-Santos, Neil Hogg, Richard O. Cannon, Alan N. Schechter, e Mark T. Gladwin. 2002. "Cell-Free Hemoglobin Limits Nitric Oxide Bioavailability in Sickle-Cell Disease". *Nature Medicine* 8 (12): 1383–89. <https://doi.org/10.1038/nm1202-799>.
  - Kato, Gregory J., Frédéric B. Piel, Clarice D. Reid, Marilyn H. Gaston, Kwaku Ohene-Frempong, Lakshmanan Krishnamurti, Wally R. Smith, et al. 2018. "Sickle Cell Disease". *Nature Reviews. Disease Primers* 4 (março): 18010. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.10>
  - Lonergan, Gael J., David B. Cline, e Susan L. Abbondanzo. 2001. "Sickle Cell Anemia". *RadioGraphics* 21(4):97194. <https://doi.org/10.1148/radiographics.21.4.g01jl23971>
  - Wang, Jue, Laura Hertz, Sandra Ruppenthal, Wassim El Nemer, Philippe Connes, Jeroen S. Goede, Anna Bogdanova, Lutz Birnbaumer, e Lars Kaestner. 2021. "Lysophosphatidic Acid-Activated Calcium Signaling Is Elevated in Red Cells from Sickle Cell Disease Patients". *Cells* 10 (2): 456. <https://doi.org/10.3390/cells10020456>.
  - Yang, Lu, Dina A. Andrews, e Philip S. Low. 2000. "Lysophosphatidic acid opens a Ca<sup>++</sup> channel in human erythrocytes". *Blood* 95 (7): 2420–25. <https://doi.org/10.1182/blood.V95.7.2420>
  - Sparkenbaugh, E., e R. Pawlinski. 2017. "Prothrombotic Aspects of Sickle Cell Disease". *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 15 (7): 1307–16. <https://doi.org/10.1111/jth.13717>.
  - Faes, Camille, Anton Ilich, Amandine Sotiaux, Erica M. Sparkenbaugh, Michael W. Henderson, Laura Buczek, Joan D. Beckman, et al. 2019. "Red Blood Cells Modulate Structure and Dynamics of Venous Clot Formation in Sickle Cell Disease". *Blood* 133 (23): 2529–41. <https://doi.org/10.1182/blood.2019000424>.
  - Gravitz, Lauren, e Stephen Pincock. 2014. "Sickle-Cell Disease". *Nature* 515 (7526): S1–S1. <https://doi.org/10.1038/515S1a>



- Rees, David C., Thomas N. Williams, e Mark T. Gladwin. 2010. "Sickle-Cell Disease". *Lancet* (London, England) 376 (9757): 2018–31. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61029-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61029-X)
- Steinberg, Martin H. 2020. "Fetal Hemoglobin in Sickle Cell Anemia". *Blood* 136 (21): 2392–2400. <https://doi.org/10.1182/blood.2020007645>.
- Han, Hyojeong, Lisa Hensch, e Venée N. Tubman. 2021. "Indications for Transfusion in the Management of Sickle Cell Disease". *Hematology* 2021 (1): 696–703. <https://doi.org/10.1182/hematology.2021000307>.
- Alves Pinto, Patrícia Costa, Josefina Aparecida Pellegrini Braga, e Amélia Miyashiro Nunes dos Santos. 2011. "Fatores de risco para aloimunização em pacientes com anemia falciforme". *Revista da Associação Médica Brasileira* 57 (6): 668–73. <https://doi.org/10.1590/S0104-42302011000600014>
- Desai, Payal C., Allison M. Deal, Emily R. Pfaff, Bahjat Qaqish, Leyna M. Hebden, Yara A. Park, e Kenneth I. Ataga. 2015. "Alloimmunization Is Associated with Older Age of Transfused Red Blood Cells in Sickle Cell Disease: Alloimmunization and Red Blood Cell Age in Sickle Cell Disease". *American Journal of Hematology* 90 (8): 691–<https://doi.org/10.1002/ajh.24051>.
- Clinical predictors of alloimmunization after red blood cell transfusion - Bauer - 2007 - *Transfusion* - Wiley Online Library". s.d. 04 de outubro de 2022. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1537-2995.2007.01433.x>.
- Chou, Stella T., e Ross M. Fasano. 2016. "Management of Patients with Sickle Cell Disease Using Transfusion Therapy". *Hematology/Oncology Clinics of North America* 30 (3): 591–608. <https://doi.org/10.1016/j.hoc.2016.01.011>.
- Dantas Moraes Freire, Mateus, Natalia Maria Bezerra Lucas das Chagas, Samanta Queiroz dos Santos, Songelí Menezes Freire, e André Ney Menezes Freire. 2020. "Aspectos Biológicos da LGlutamina: imunomodulação e Hipertrofia Muscular – Estudo ao Longo do Tempo". *Revista Científica Hospital Santa Izabel* 4 (1): 32–47. <https://doi.org/10.35753/rchsi.v4i1.70>.
- Minniti, Caterina P. 2018. "L -Glutamine and the Dawn of Combination Therapy for Sickle Cell Disease". *New England Journal of Medicine* 379 (3): 292–94. <https://doi.org/10.1056/NEJMe1800976>.
- ATAGA, K. I. et al. Crizanlizumab for the prevention of pain crises in sickle cell disease. *New England Journal of Medicine*, v. 376, n. 5, p. 429-439, 2017.

- SILVA, S. de J. L. da .; SANTOS, A. D. S. .; SOUZA, D. R. D. .; CARVALHO, R. L. L. . VOXELOTOR: UMA NOVA PERSPECTIVA NO TRATAMENTO DA ANEMIA FALCIFORME. *Revista Multidisciplinar em Saúde*, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 39, 2021. DOI: 10.51161/rem/1992. Disponível em: <https://editoraime.com.br/revistas/index.php/rem/article/view/1992>. Acesso em: 5 out. 2022.
- Lista W, Weger M, Pinter-Hausberger S, Posch F, Rabensteiner J, Pailer S, Wedrich A, Posch-Pertl L. ENDOTHELIN-1 COMO FATOR DE RISCO NA OCLUSÃO DA VEIA RETINAL. *Retina*. 2022 Abr 1;42(4):738-743. doi: 10.1097/IAE.0000000000003374. 34861658.
- Sakurai T, Yanagisawa M, Masaki T. Molecular characterization of endothelin receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 1992 Mar;13(3):103-8. doi: 10.1016/0165-6147(92)90038-8. PMID: 1315462.
- Maxwell MJ, Goldie RG, Henry PJ. Ca<sup>2+</sup> signalling by endothelin receptors in rat and human cultured airway smooth muscle cells. *Br J Pharmacol*. 1998 Dec;125(8):1768-78. doi: 10.1038/sj.bjp.0702252. PMID: 9886769; PMCID: PMC1565760.
- Tirapelli CR, Casolari DA, Yogi A, Montezano AC, Tostes RC, Legros E, D'Orléans-Juste P, de Oliveira AM. Functional characterization and expression of endothelin receptors in rat carotid artery: involvement of nitric oxide, a vasodilator prostanoid and the opening of K<sup>+</sup> channels in ETB-induced relaxation. *Br J Pharmacol*. 2005 Nov;146(6):903-12. doi: 10.1038/sj.bjp.0706388. PMID: 16151434; PMCID: PMC1751214.
- Hori S, Komatsu Y, Shigemoto R, Mizuno N, Nakanishi S. Distinct tissue distribution and cellular localization of two messenger ribonucleic acids encoding different subtypes of rat endothelin receptors. *Endocrinology*. 1992 Apr;130(4):1885-95. doi: 10.1210/endo.130.4.1312429. PMID: 1312429.
- Henry PJ. Endothelin-1 (ET-1)-induced contraction in rat isolated trachea: involvement of ETA and ETB receptors and multiple signal transduction systems. *Br J Pharmacol*. 1993 Sep;110(1):435-41. doi: 10.1111/j.1476-5381.1993.tb13829.x. PMID: 8220905; PMCID: PMC2176042.
- Hasselblatt M, Kamrowski-Kruck H, Jensen N, Schilling L, Kratzin H, Sirén AL, Ehrenreich H. ETA and ETB receptor antagonists synergistically increase extracellular endothelin-1 levels in primary rat astrocyte cultures. *Brain Res*.

- 1998 Mar 2;785(2):253-61. doi: 10.1016/s0006-8993(97)01368-1. PMID: 9518640.
- Angelova K, Puett D, Narayan P. Identification of endothelin receptor subtypes in sheep choroid plexus. *Endocrine*. 1997 Dec;7(3):287-93. doi: 10.1007/BF02801321. PMID: 9657064.
  - Harada N, Himeno A, Shigematsu K, Sumikawa K, Niwa M. Endothelin-1 binding to endothelin receptors in the rat anterior pituitary gland: possible formation of an ETA-ETB receptor heterodimer. *Cell Mol Neurobiol*. 2002 Apr;22(2):207-26. doi: 10.1023/a:1019822107048. PMID: 12363203.
  - Jacques D, Descorbeth M, Abdel-Samad D, Provost C, Perreault C, Jules F. The distribution and density of ET-1 and its receptors are different in human right and left ventricular endocardial endothelial cells. *Peptides*. 2005 Aug;26(8):1427-35. doi: 10.1016/j.peptides.2005.03.048. PMID: 16042982.
  - Föllner, Michael, Hasan Mahmud, Syed M. Qadri, Shuchen Gu, Manuel Braun, Diwakar Bobbala, Berthold Hofer, e Florian Lang. 2010. "Endothelin B Receptor Stimulation Inhibits Suicidal Erythrocyte Death". *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 24 (9): 3351–59. <https://doi.org/10.1096/fj.10-159483>.
  - Rivera, Alicia. 2007. "Reduced Sickle Erythrocyte Dehydration in Vivo by Endothelin-1 Receptor Antagonists". *American Journal of Physiology. Cell Physiology* 293 (3): C960-966. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00530.2006>
  - Enevoldsen, Frederik C., Jayashree Sahana, Markus Wehland, Daniela Grimm, Manfred Infanger, e Marcus Krüger. 2020. "Endothelin Receptor Antagonists: Status Quo and Future Perspectives for Targeted Therapy". *Journal of Clinical Medicine* 9 (3): 824. <https://doi.org/10.3390/jcm9030824>
  - Dhaun, N, D Pollock, J Goddard, e D Webb. 2007. "Selective and Mixed Endothelin Receptor Antagonism in Cardiovascular Disease". *Trends in Pharmacological Sciences* 28 (11):573–79. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2007.10.002>.
  - Samuel RE, Salmon ED, Briehl RW. Nucleation and growth of fibres and gel formation in sickle cell haemoglobin. *Nature*. 1990 Jun 28;345(6278):833-5. doi: 10.1038/345833a0. PMID: 2359460.

- Martin H. Steinberg, David H. K. Chui, George J. Dover, Paola Sebastiani, Abdulrahman Alsultan; Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: a glass half full?. *Blood* 2014; 123 (4): 481–485. doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-528067>
- Kadima BT, Gini Ehungu JL, Ngiyulu RM, Ekulu PM, Aloni MN. High rate of sickle cell anaemia in Sub-Saharan Africa underlines the need to screen all children with severe anaemia for the disease. *Acta Paediatr.* 2015 Dec;104(12):1269-73. doi: 10.1111/apa.13040. Epub 2015 Jun 4. PMID: 25982693.
- Odame I. Perspective: we need a global solution. *Nature.* 2014 Nov 13;515(7526):S10. doi: 10.1038/515S10a. PMID: 25390135.
- Piel FB, Hay SI, Gupta S, Weatherall DJ, Williams TN. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010-2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. *PLoS Med.* 2013;10(7):e1001484. doi: 10.1371/journal.pmed.1001484. Epub 2013 Jul 16. PMID: 23874164; PMCID: PMC3712914.
- Tshilolo L, Kafando E, Sawadogo M, Cotton F, Vertongen F, Ferster A, Gulbis B. Neonatal screening and clinical care programmes for sickle cell disorders in sub-Saharan Africa: lessons from pilot studies. *Public Health.* 2008 Sep;122(9):933-41. doi: 10.1016/j.puhe.2007.12.005. Epub 2008 Jun 16. PMID: 18555498.
- Fox BM, Kasztan M. Endothelin receptor antagonista na doença falciforme: Uma nova abordagem terapêutica promissora. *Life Sci.* 2016 Ago 15;159:15-19. doi: 10.1016/j.lfs.2016.04.001. Epub 2016 Abr 3. PMID: 27049871; PMCID: PMC4992628.
- Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potente vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988; 322, 411-15.

- Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K. The human endothelin Family: three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci* 1989; 86: 2863-67.
- Schneider MP, Boesen EI, Pollock DM. Constrating actions of endothelin ETA and ETB receptors in cardiovascular disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007; 47 (12): 1-29.
- Wagner OF, Christ G, Wojta J, Vierhapper H, Parzer S, Nowotny PJ. Polar secretion of endothelin-1 by cultured endotelial cells. *J Biol Chem* 1992; 267:16066-8.
- Sirvio ML, Metsarinne K, Saijonmaa O, Fyhrquist F. Tissue distribution and half-life of 125I-endothelin in the rat: importance of pulmonar clearence. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 167: 1191-5.
- Vierhapper H, Wagner O, Nowotny P, Waldhausl W. Effect of endothelin-1 in man. *Circulation* 1990; 81:1415-8.
- Motte S, McEntee K, Naeije R. Endothelin receptor antagonists. *Pharmacology & Therapeutics* 2006; 110 (3): 386-414.
- Suzuki N., Matsumoto H, Kitada C, Masaki T, Fujiino M. A sensitive sandwich-enzyme immunoassay for human endothelin. *J Immunol Methods* 1989; 118:245-250.
- Howard PG, Plumpton C, Davenport AP. Anatomical localization and pharmacological activity of mature endothelins and their precursos in human vascular tissue. *J Hypertens* 1992; 10: 1379-1389.
- STEINBERG, M. H. Sickle cell anemia, the first molecular disease: overview of molecular etiology, pathophysiology, and therapeutic approaches. *Scientific World Journal*, v 8, p. 1295-34, 2008.
- Shubeita HE, McDonough PM, Harris AN, Knowlton KU, GlembotskiCC, Brown JH, Chien KR: Endothelin induction of inositol phospho-lipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression inventricular myocytes. A

- paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 33:20555, 1990.
- HERRICK, J.B. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Arch. Inter. Med*, v. 5, p. 517-21, 1910.
  - Ito H, Hiroe M, Hirata Y, Fujisaki H, Adachi S, Akimoto H, Ohta Y, Marumo F. Endothelin ETA receptor antagonist blocks cardiac hypertrophy provoked by hemodynamic overload. *Circulation*. 1994 May;89(5):2198-203. doi: 10.1161/01.cir.89.5.2198. PMID: 8181145.
  - Shubeita HE, McDonough PM, Harris AN, Knowlton KU, Glembotski CC, Brown JH, Chien KR: Endothelin induction of inositol phospho-lipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. A paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. *J Biol Chem* 33:20555, 1990.
  - Nath KA, Katusic ZS. Endothelin-A Receptor Antagonismo Retarda a Progressão da Nefropatia falciforme murina. *J Am Soc Nephrol*. 2017 Ago;28(8):2253-2255. doi: 10.1681/ASN.2017030320. Epub 2017 Abr 25. PMID: 28442492; PMCID: PMC5533247.
  - Magalhães, Isis Q. Alterações renais nas doenças falciformes. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [online]. 2007, v. 29, n. 3 [Acessado 25 Outubro 2022], pp. 279-284. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000300017>>. Epub 04 Jan 2008. ISSN 1806-0870. <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000300017>.
  - Sabaa N, de Franceschi L, Bonnin P, Castier Y, Malpeli G, Debbabi H, Galaup A, Maier-Redelsperger M, Vandermeersch S, Scarpa A, Janin A, Levy B, Girot R, Beuzard Y, Leboeuf C, Henri A, Germain S, Dussaule JC, Tharaux PL. O antagonismo receptor de endotelina previne a mortalidade e morbidade induzidas por hipóxia em um modelo de rato de doença falciforme. *J Clin Invest*. 2008 Maio;118(5):1924-33. doi: 10.1172/JCI33308. PMID: 18382768; PMCID: PMC2276396.

- Kassim AA, Pruthi S, Day M, et al. Silent cerebral infarcts and cerebral aneurysms are prevalent in adults with sickle cell anemia. *Blood*. 2016;127(16):2038-2040.
- Strouse JJ, Jordan LC, Lanzkron S, Casella JF. The excess burden of stroke in hospitalized adults with sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2009;84(9):548-552.
- Mackin RS, Insel P, Truran D, et al; Neuropsychological Dysfunction and Neuroimaging Adult Sickle Cell Anemia Study Group. Neuroimaging abnormalities in adults with sickle cell anemia: associations with cognition. *Neurology*. 2014;82(10):835-841.
- Deus-Silva L, Bonilha L, Damasceno BP, et al. Brain perfusion impairment in neurologically asymptomatic adult patients with sickle-cell disease shown by voxel-based analysis of SPECT images. *Front Neurol*. 2013;4:207.
- Prado GN, Romero JR, Rivera A. Endothelin-1 receptor antagonists regulate cell surface-associated protein disulfide isomerase in sickle cell disease. *FASEB J*. 2013 Nov;27(11):4619-29. doi: 10.1096/fj.13-228577. Epub 2013 Aug 2. PMID: 23913858; PMCID: PMC3804753.
- Alves L., Nobre C., Reis E., Alves L, Berto-Junior C. - Bosentana modula a fisiologia do eritrócito falciforme atenuando a polimerização da hemoglobina S e diminuição da deformabilidade induzida pela endotelina-1, 05/2022.