

CITOCINAS E ASSOCIAÇÃO COM EVENTOS CLÍNICOS NA ANEMIA FALCIFORME

CYTOKINES AND CLINICAL EVENTS IN THE SICKLE CELL ANEMIA

Wendell Vilas Boas, Bruno A. V. Cerqueira, Angela A. D. Zanette, Mitermayer G. Reis, Marilda S. Gonçalves

Laboratório de Patologia e Biologia Molecular, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) - Salvador, Bahia, Brasil; Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia, Brasil; Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Estado da Bahia (HEMOBA), Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, Bahia, Brasil

A expressão de citocinas pode exercer papel fundamental no quadro clínico apresentado por indivíduos com anemia falciforme (AF), uma vez que pode ter efeito sobre o endotélio vascular e na expressão de moléculas de adesão, fenômenos importantes na patogênese da doença. O objetivo deste trabalho foi investigar níveis de citocinas IL-4, IL-17, IL-18, IL-23 e TGF-beta e associações com os eventos clínicos presentes na AF. A casuística foi composta por 51 pacientes com AF e as dosagens de citocinas foram realizadas pelo método de ELISA; os dados clínicos foram coletados por consulta aos prontuários médicos. A análise de correlação mostrou que os pacientes com eventos de sequestro esplênico possuíam níveis diminuídos da citocina IL-18 ($p=0,032$). As demais citocinas não apresentaram diferenças quanto aos eventos clínicos apresentados por esse grupo de pacientes. Os eventos de sequestro esplênico podem influenciar na retirada do baço em pacientes com AF, comprometendo os mecanismos de defesa contra microorganismos, aumentando a susceptibilidade às infecções e, conseqüentemente, influenciando na produção de citocinas.

Palavras-chave: anemia falciforme, citocinas, sequestro esplênico.

The expression of cytokines can develop fundamental role in the clinical characteristics presented by individuals with sickle cell anemia (SCA), since it can affect vascular endothelium and in the adhesion molecules expression, important phenomena in the pathogenesis of the illness. The objective of this work was investigate levels of cytokines IL-4, IL-17, IL-18, IL-23 and TGF-beta, associating with the clinical events presented by SCA patients. Our casuistic was composed by 51 SCA patients and cytokines measurement was carried out by ELISA; clinical data were collected by medical register. The analysis of correlation showed that the patients with splenic sequestration events had decreased levels of the IL-18 ($p=0.032$). The others cytokines did not present differences as regards the clinical events presented by this group of patients. The events of splenic sequestration can influence in the splenectomy in patients with SCA, committing the mechanisms of defense against microorganisms, increasing the sensitivity to the infections and, consequently, influencing in the output of cytokines.

Keywords: Sickle cell anemia, cytokines, splenic sequestration.

A anemia falciforme (AF) é uma doença resultante da homozigose de mutação pontual no sexto códon do gene da globina-beta, que leva a substituição de resíduo de ácido glutâmico por valina na proteína⁽⁷⁾. Os portadores dessa anemia possuem quadro clínico heterogêneo, com retardo no crescimento, desenvolvimento e alterações múltiplas nos diversos órgãos ou tecidos (cardíaco, renal, pulmonar, cerebral, esquelético e hepático) provenientes da hemólise contínua e dos fenômenos de vaso-oclusão, além do aumento da susceptibilidade a infecções favorecido pela asplenia funcional que ocorre progressivamente, dificultando a opsonização de bactérias encapsuladas⁽¹¹⁾. A gravidade clínica na AF é bastante variável entre os pacientes, sendo

encontrados indivíduos com gravidade clínica intermediária à grave⁽⁵⁾. AAF é caracterizada por quadro inflamatório crônico, apresentando contagem elevada de leucócitos, ativação anormal de granulócitos, monócitos e células endoteliais e elevação nos níveis de mediadores inflamatórios. A adesão de leucócitos ao endotélio pode, por si só, promover o evento de vaso-oclusão. Esses leucócitos aderentes podem ser responsáveis pela ligação a moléculas na superfície dos eritrócitos e posterior retenção dessas células vermelhas no vaso, sugerindo uma associação direta e indireta no processo vaso-oclusivo⁽¹²⁾.

O endotélio é também adversamente afetado na AF e pode contribuir para a vaso-oclusão. Os danos frequentes ao endotélio pelos eritrócitos falciformes, citocinas e sobrecarga de ferro são fatores que podem ativar o endotélio vascular, comprometendo a integridade do vaso e promovendo tanto adesão de células vermelhas quanto de leucócitos ao endotélio do vaso⁽²⁾. A expressão de citocinas pode ter papel fundamental no quadro clínico apresentado pelos pacientes com AF e os efeitos dessas citocinas sobre o endotélio vascular e expressão de moléculas de adesão têm sido considerado como tema relevante^(3,10).

Recebido em 19/6/2010

Aceito em 9/10/2010

Endereço para correspondência: Profa. Marilda Souza Gonçalves, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, FIOCRUZ. Rua Waldemar Falcao, 121, Candeal, 40296-710 Salvador, Bahia, Brasil. C-e-lo: mari@bahia.fiocruz.br. Fontes de financiamento: CNPq 3065427/2007-5 e 484457/2007-1; FAPESB 1431040053063 e 9073/2007 e MCD/CNPq/MS-SCTIE-DECIT 409800/2006-6.

Gazeta Médica da Bahia

2010;80:3(Ago-Out):53-55

© 2010 Gazeta Médica da Bahia. Todos os direitos reservados.

Neste trabalho, nós investigamos o papel de citocinas como IL-4, IL-17, IL-18, IL-23 e TGF-beta e sua associação com os principais eventos clínicos presentes nos casos estudados portadores de AF.

Material e Métodos

Casuística

Foram incluídos no estudo, 53 pacientes portadores de anemia falciforme (Hb SS) provenientes da Fundação de Hematologia e Hemoterapia da Bahia – HEMOBA. Todos os pacientes apresentavam estado estável da doença e sem história de terapia transfusional nos últimos seis meses. Este estudo foi aprovado pelo Comitê em Pesquisa com Seres humanos da Fundação Oswaldo Cruz (CAAE 0013.1.225.000-07) e está em acordo com a declaração de Helsinki de 1972. Todos os indivíduos ou seus responsáveis assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, concordando em participar do estudo.

Quantificação das citocinas

A quantificação das citocinas IL-4, IL-17, IL-18, IL-23 e TGF-beta foi realizada utilizando os *kit* Cytokine ELISA OptEIA para cada citocina (BD Pharmingen, San Diego, CA, USA).

Dados clínicos dos pacientes

A coleta dos dados clínicos foi feita através da consulta dos prontuários médicos dos pacientes.

Análise estatística

A distribuição das variáveis quantitativas foi determinada utilizando o teste Kolmogorov-Smirnov. Os testes ANOVA ou Kruskal-Wal foram utilizados na comparação das médias entre os grupos, para variáveis com distribuição normal ou não, respectivamente. Os valores de *p* foram considerados significativos quando menores que 0,05. Os dados foram analisados utilizando o programa Prism 5.01 (Graphpad Software, San Diego, CA, USA).

Resultados

Eventos clínicos

Entre as complicações clínicas mais frequentemente observadas nos pacientes estavam as crises dolorosas, presentes em 96,1% dos pacientes e as infecções em 56,9%. Os principais eventos clínicos observados nos pacientes com AF estão representados na Tabela 1.

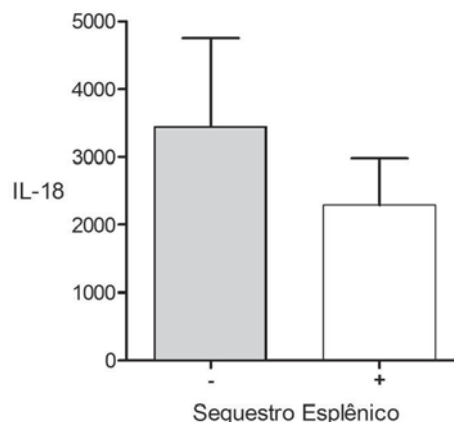
A citocina IL-18 está associada a eventos de sequestro esplênico nos pacientes

A investigação dos níveis de citocinas e sua associação com dados clínicos em pacientes com AF mostrou associação com eventos de sequestro esplênico entre os pacientes com AF ($p=0,032$). A partir desta análise, foi verificado que os pacientes com eventos de sequestro esplênico possuíam níveis diminuídos de IL-18 em comparação com os pacientes que não apresentaram tal evento (Gráfico 1).

Tabela 1. Frequência dos eventos clínicos apresentados nos 51 pacientes estudados com anemia falciforme.

Eventos Clínicos	n (%)
Crises de dor	49 (96,1)
Infecção	29 (56,9)
Pneumonia	18 (35,3)
Úlcera de Perna	13 (25,5)
Colelitíase	10 (19,6)
Sequestro esplênico	9 (17,6)
Síndrome torácica aguda	6 (11,8)
Priapismo	4 (7,8)
Retinopatia	2 (3,9)
Acidente vascular cerebral	2 (3,9)

Gráfico 1. Níveis da citocina IL-18 em pacientes com ausência ou presença do evento de sequestro esplênico.



As análises das citocinas IL-4, IL-17, IL-23 e TGF-beta não apresentaram diferenças na associação com os eventos clínicos observados nos pacientes com AF.

Discussão

O evento de sequestro esplênico é caracterizado pelo aumento no tamanho do baço de forma aguda, níveis diminuídos de hemoglobina e quadro febril, podendo ocorrer em 10 a 30% dos indivíduos com AF, sendo mais comum entre os seis meses a três anos de vida. Esses eventos de forma grave podem progredir rapidamente, levando o indivíduo ao quadro de choque e morte, por isso requer a esplenectomia de urgência na maioria dos casos⁽¹⁾. Os casos deste estudo haviam sido previamente esplenectomizados.

Neste estudo foi observada redução nos níveis da citocina IL-18 nos pacientes com ocorrência do evento de sequestro esplênico. A citocina IL-18 é conhecida pela sua importância na indução ao IFN- γ na presença de IL-12⁽⁹⁾, além de aumentar a produção de citocinas Th2, tais como IL-4, IL-5 e IL-13 em basófilos, células CD4 e NK *in vitro*^(4,8).

O baço exerce importante função na defesa do organismo contra infecções e a retirada desse órgão leva ao comprometimento da produção de citocinas Th1⁽¹³⁾ e pode diminuir a capacidade do organismo no combate a certos tipos

de infecções bacterianas como as causadas por *Pneumococcus* sp., *Meningococcus* sp. e *Haemophilus influenza*⁽⁶⁾. Esse defeito na produção das citocinas pela ausência do baço explica o encontro de níveis mais baixos de IL-18 nos pacientes com eventos de sequestro esplênico.

Sendo assim, os indivíduos que sofreram o evento de sequestro esplênico e foram esplenectomizados possuem níveis mais baixos de IL-18 em relação a indivíduos não esplenectomizados. Uma vez que IL-18 é uma citocina importante na resposta Th1, os indivíduos sem a presença do baço podem estar mais susceptíveis às infecções comumente ocorridas nessa doença.

Referências

1. Bender MA, Hobbs W. Sick Cell Disease. In: Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, Stephens K, editors. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2003.
2. Chiang EY, Frenette PS. Sick cell vaso-occlusion. *Hematol Oncol Clin North Am* 19: 771-784, 2005.
3. Hebbel RP, Osarogiagbon R, Kaul D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. *Microcirculation* 11: 129-151, 2004.
4. Hoshino T, Wiltout RH, Young HA. IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response. *J Immunol* 162: 5070-5077, 1999.
5. Inati A. Recent advances in improving the management of sickle cell disease. *Blood Rev* 23 1: 9-13, 2009.
6. Kuranaga N, Kinoshita M, Kawabata T, Shinomiya N, Seki S. A defective Th1 response of the spleen in the initial phase may explain why splenectomy helps prevent a *Listeria* infection. *Clin Exp Immunol* 140: 11-21, 2005.
7. Lukens JN. The thalassemia and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis In: Lee CW, Foster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. *Wintrobe's clinical hematology*. 10ª edição. Baltimore: Williams & Wilkins, cap. 53, p. 1405-1448, 1999.
8. Ogura T, Ueda H, Hosohara K. Interleukin-18 stimulates hematopoietic cytokine and growth factor formation and augments the circulating granulocytes in mice. *Blood* 98: 2101-2007, 2001.
9. Okamura H, Nagata K, Komatsu T. A novel costimulatory factor for gamma interferon induction found in the livers of mice cause endotoxic shock. *Infect Immun* 63: 3966-3972, 1995.
10. Okpala I. The intriguing contribution of white blood cells to sickle cell disease- a red cell disorder. *Blood Reviews* 18: 65-73, 2004.
11. Roseff SD. Sick cell disease: a review. *Immunohematology* 25:67-74, 2009.
12. Turhan A, Weiss LA, Mohandas N. Primary role for adherent leukocytes in sickle cell vascular occlusion: a new paradigm. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 3047-3051, 2002.
13. Wood PR, Young AM, McKimm-Breschkin JL, Cheers C. Effect of splenectomy on production of interferon and colony-stimulating factor in *Listeria* monocytogenes-infected mice. *Infect Immun* 46: 860-861, 1984.